

CAPÍTULO IV

Marcadores glicobiológicos en la clasificación de las cepas de *Trypanosoma cruzi*

Karen Julissa Loeza Reyes*

<https://orcid.org/0000-0001-6275-3233>

Adriana Moreno Rodríguez**

<https://orcid.org/0000-0003-4100-8255>

Rafael Torres Rosas***

<https://orcid.org/0000-0002-5934-003X>

Liliana Argueta Figueroa****

<https://orcid.org/0000-0002-1044-6757>

Edgar Arturo Zenteno Galindo*****

<https://orcid.org/0000-0001-5603-4072>

Pedro Antonio Hernández Cruz*****

<https://orcid.org/0000-0002-7558-5395>

Itandehui Belem Gallegos Velasco*****

<https://orcid.org/0000-0003-0959-1460>

Yobana Pérez Cervera*****

<https://orcid.org/0000-0001-9932-247X>

***Abstract.** Chagas disease is an anthrozoosis of the American continent that has spread from its original borders through migration. It is caused by the protozoan *Trypanosoma cruzi*. The difference in the severity of the disease has been attributed to the natural pleomorphism that *T. cruzi* presents. The classification of *T. cruzi**

* Universidad Autónoma Benito Juárez de Oaxaca
Oaxaca, México
✉ karen.loeza.r@gmail.com

** Universidad Autónoma Benito Juárez de Oaxaca
Oaxaca, México
✉ arimor10@hotmail.com

*** Universidad Autónoma Benito Juárez de Oaxaca
Oaxaca, México
✉ drtorres1981@hotmail.com

**** Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología
D. F., México
✉ l_argueta_figueroa@hotmail.com

***** Universidad Nacional Autónoma de México
D. F., México
✉ ezenteno@unam.mx

***** Universidad Autónoma Benito Juárez de Oaxaca
Oaxaca, México
✉ fuegoblanc0136@yahoo.com.mx

***** Universidad Autónoma Benito Juárez de Oaxaca
Oaxaca, México
✉ itanbel@hotmail.com

***** Universidad Autónoma Benito Juárez de Oaxaca
Oaxaca, México
✉ yobanper@gmail.com

Cita este capítulo

Loeza Reyes et al. Marcadores glicobiológicos en la clasificación de las cepas de *Trypanosoma cruzi*. En: Vera Lizcano O, editora científica. *Plasmodium, Trypanosoma y Salmonella*: Marcadores moleculares. Cali, Colombia: Editorial Universidad Santiago de Cali; 2020. p. 127-145.

strains has changed over time from biodemos (biological behavior), zimodemos (biochemical analysis) and lineages (molecular methods in the miniexon gene). Currently the classification consists of six discrete typing units (DTUs), TcI-TcVI that includes relevant ecological and epidemiological characteristics. This review brings together the glycobiological characterization of different strains of T. cruzi that can be considered as biomarkers for the differentiation of strains, which include the expression of mucins highly O-glycosylated molecules which play a relevant role in the interaction of invasion of strains host cells. The conformation of their GPI (glycosylphosphatidylinositol) anchors linked to mucins which can present variations as α -galactose residues that are highly immunogenic. Several authors have concluded that the determination of the structures of O- and N-glycans in T. cruzi predicts the relationship between the pathogenicity of the parasite and the epidemiology of Chagas disease.

Resumen. La enfermedad de Chagas es una antroponosis del continente americano que se ha extendido desde sus fronteras originales mediante la migración. Es causada por el protozooario *Trypanosoma cruzi*. La diferencia en cuanto a la severidad de la enfermedad, se ha atribuido al pleomorfismo natural que presenta *T. cruzi*. La clasificación de las cepas de *T. cruzi* ha cambiado a lo largo del tiempo desde biodemos (comportamiento biológico), zimodemos (análisis bioquímico) y linajes (métodos moleculares en el gen del miniexón). Actualmente la clasificación consiste en seis unidades discretas de tipificación (DTUs), TcI- TcVI que incluye características ecológicas y epidemiológicas relevantes. Esta revisión reúne la caracterización glicobiológica de distintas cepas de *T. cruzi* que se pueden contemplar como biomarcadores para la diferenciación de las cepas, que incluyen la expresión de mucinas moléculas altamente O-glicosiladas las cuales desempeñan un papel relevante en la interacción de invasión de las células huésped. La conformación de sus anclas GPI (glicosilfosfatidilinositol) unidas a mucinas las cuales pueden presentar variaciones como residuos de α -galactosa que son altamente inmunogenicos. Diversos autores han concluido que la determinación de las estructuras de O- y N- glicanos

en *T. cruzi* predice la relación entre la patogenicidad del parásito y la epidemiología de la enfermedad de Chagas.

Palabras clave: *T. cruzi*, Glicobiología, biomarcadores, O- y N-glicanos, anclas GPI.

1. Introducción

La enfermedad de Chagas es una antropozoonosis del continente americano que se ha extendido desde sus fronteras originales mediante la migración. Es causada por el protozoario *Trypanosoma cruzi*, identificado en la primera década de la siglo XX [1]. El parásito causante de la enfermedad de Chagas; la enfermedad se encuentra distribuida en su mayor parte en zonas endémicas de 21 países de América Latina [2], principalmente en la parte continental de América Latina, pero en las últimas décadas se ha observado con mayor frecuencia en los Estados Unidos de América [3], países europeos y algunos del Pacífico Occidental. Esto obedece sobre todo a la movilidad de la población entre América Latina y el resto del mundo [4]. La diferencia en cuanto a la severidad de la enfermedad en el hospedero humano y en otros mamíferos, se ha atribuido al pleomorfismo natural que presenta *T. cruzi*, el cual se demuestra al estudiar sus aspectos biológicos, bioquímicos y moleculares [5].

Generalidades de *Trypanosoma cruzi*

Trypanosoma cruzi es el protozoario responsable de la enfermedad de Chagas, también llamada Tripanosomiasis Americana. La enfermedad de Chagas fue descrita en 1909 por el brasileño Carlos Chagas. La cardiomiopatía dilatada es la más importante y severa manifestación de la enfermedad de Chagas. La Organización Mundial de la Salud estima que hay cerca de ocho a diez millones de personas infectadas alrededor del mundo [6].

En América Latina se han determinado las más altas tasas de prevalencia, principalmente en Bolivia (6,75%), Argentina (4,13%), El Salvador (3,37%), Honduras (3,05%) y Paraguay (2,54%). Brasil y México presentan prevalencias de alrededor del 1% [7].

Los transmisores de *Trypanosoma cruzi* son artrópodos hematófagos obligados que pertenecen al orden *Hemiptera* y la familia *Reduviidae*. Poseen adaptaciones morfológicas como piezas bucales adaptadas para perforar o lacerar tejidos, que le auxilian en la búsqueda de huéspedes y alimentación [8], se caracterizan por presentar cinco estadios ninfales y la forma adulta, en cualquiera de estas etapas puede infectarse y transmitir el parásito, aunque hasta la fecha no se ha reportado que se vea afectado por esta infección [9]. Un evento crucial para la infección, es la interacción inicial del parásito con la célula huésped, que resulta en la activación de una cascada de señales que contribuyen a que se establezca la infección y eventualmente en la patogénesis de la enfermedad de Chagas [7].

Ciclo de vida de el *Trypanosoma cruzi*

El *Trypanosoma cruzi* tiene un ciclo de vida complejo que implica huéspedes mamíferos e insectos vectores. Tiene cuatro estadios distintos (tripomastigote sanguíneo, tripomastigote metacíclico, amastigotes intracelular y epimastigotes) (ver Figura 1). En el ciclo de vida natural, el insecto vector ingiere tripomastigotes los cuales se transforman en epimastigotes que se dividen por fisión binaria en el intestino del vector. Aproximadamente tres a cuatro semanas después los epimastigotes se convierten en tripomastigotes metacíclicos infectivos que se mueven al intestino grueso del vector. La diferenciación de los epimastigotes en tripomastigotes metacíclicos, es un proceso conocido como metaciclogénesis, se produce en el intestino medio del organismo del vector y es un paso fundamental en el ciclo de vida de *T. cruzi*. Durante la metaciclogénesis, los tripomastigotes de la corriente sanguínea se diferencian en epimastigotes replicativos en el estómago del insecto huésped, que se dividen en el intestino medio y posteriormente migran al recto del insecto. Allí, cada epimastigote se adhiere al epitelio a través de un flagelo antes de la diferenciación en un tripomastigote metacíclico infeccioso no replicativo [10]. La transmisión al nuevo hospedero se logra cuando a partir de heces cargadas con parásitos, estos contaminan y entran a las células de las membranas mucosas de la nariz, cavidad bucal, conjuntiva o demás superficies vulnerables. Los tripomastigotes metacíclicos no se pueden dividir, por lo tanto, deben penetrar a las

células huésped con el fin de continuar con el ciclo de vida. La evidencia de experimentos orales y en conjuntiva sugieren que inicialmente *T. cruzi* infecta y se replica dentro de los tejidos locales antes de su difusión en el torrente sanguíneo y la infección de tejidos en sitios distales. Durante el curso de la infección aguda, hay una invasión activa y replicación intracelular. La respuesta inmune que se da en contra de *Trypanosoma cruzi* en la etapa aguda de la infección es efectiva; pero falla en eliminar la infección y el parásito persiste durante décadas en los tejidos del huésped [11]. En cada una de estas etapas superará entornos hostiles y sufrirá diferentes tipos de estrés, enfrentará diferentes pH, temperatura, estrés oxidativo y disponibilidad de nutrientes. Por lo tanto los parásitos muestran una respuesta adaptativa (fisiológica, genética o epigenética) para contrarrestar estas condiciones de estrés. *T. cruzi* sufrirá distintos tipos de estrés: la etapa de epimastigote, localizada en el intestino del vector, confrontará la presencia de la respuesta inmune del invertebrado y una temperatura de 28°C, además la inanición inducirá estrés. Este estrés nutricional en el vector inducirá diferentes etapas de desarrollo en el parásito; en particular, la falta de alimento inducirá la transformación del epimastigote en tripomastigote. También dentro del intestino del vector, el parásito tendrá un pH variable de 5,7 a 8,9 dependiendo de la cantidad de alimento ingerido por el vector. La etapa de epimastigote también enfrentará el estrés oxidativo producido por los metabolitos de la hemoglobina ingerida por el vector durante su ingestión via transportadores de membrana. Cuando la etapa de amastigote se encuentra en el entorno mamífero intracelular, el parásito encontrará un pH ácido dentro de la vacuola parasitófora. Además, esta etapa intracelular tendrá que enfrentar el estrés oxidativo como resultado de los mecanismos inmunes de los macrófagos y otras células inmunes. El tripomastigote metacíclico, la etapa infecciosa del mamífero, cumplirá con la respuesta inmune del huésped y un rango de temperatura de 36° a 38° C. El estrés oxidativo estará presente en todas las etapas parasitarias del ciclo de vida [12].

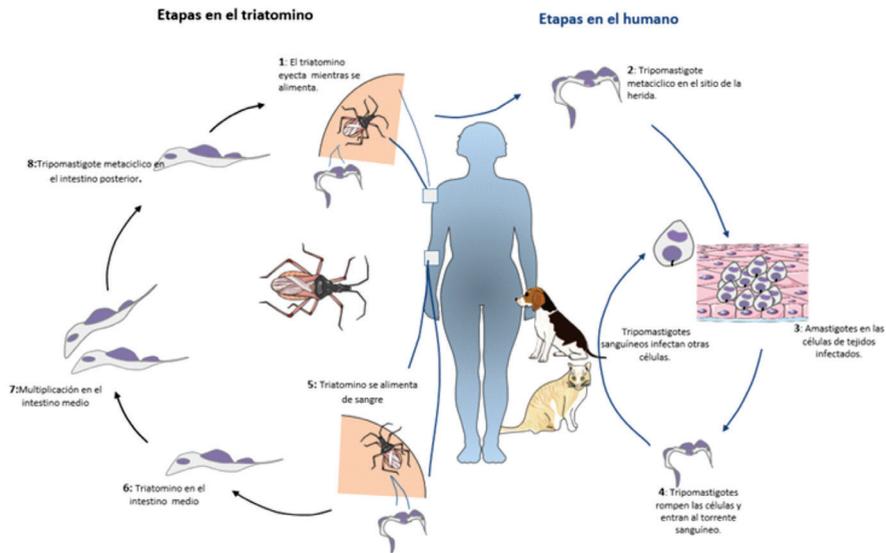


Figura 1. Ciclo de vida de *Trypanosoma cruzi*.
Fuente: modificado de CDC [13]

1) Los tripomastigotes sanguíneos se liberan junto con las heces y la orina, que penetran por arrastre al sitio de lesión, donde el triatominio ha picado para alimentarse, 2) los tripomastigotes metacíclicos invaden las células en el sitio de inoculación generalmente los macrófagos locales, los fibroblastos y el tejido muscular 3) una vez dentro se transforman en amastigotes y se replican por fisión binaria cada 15 a 18 horas. 4) después de varios ciclos de división, las amastigotas hijas se diferencian nuevamente en tripomastigotes que diseminan la infección a los tejidos. La célula huésped se rompe y libera amastigotes y tripomastigotes sanguíneos que pueden infectar nuevas células, 5) el insecto vector ingiere tripomastigotes, 6) estos se transforman en epimastigotes 7) que se dividen por fisión binaria en el intestino del vector, 8) aproximadamente tres a cuatro semanas después los epimastigotes se convierten en tripomastigotes metacíclicos infectivos que se mueven al intestino grueso del vector. La transmisión al nuevo hospedero se logra cuando las heces cargadas con parásitos contaminan y entran a las células de las membranas

mucosas de la nariz, cavidad bucal, conjuntiva o demás superficies vulnerables [13].

Evasión de la respuesta inmune del hospedero por *T. cruzi*

T. cruzi, presenta una variedad de mecanismos para evadir la respuesta inmune que le permiten al parásito establecer una infección y permanecer dentro del hospedero. Para invadir las células los tripomastigotes utilizan una variedad de factores de virulencia que interactúan con los componentes de los hospederos para ayudar al parásito a invadir las células de mamíferos [14]. La superficie de *T. cruzi* está conformada por proteínas superficiales ancladas con glicosilfosfatidilinositol (GPI) polimórfico, como trans-sialidasas, mucinas, entre otras para poder unirse e invadir las células del huésped, lo que lleva a la formación de la vacuola parasitófora; la superficie del parásito está mediada por una red compleja de enzimas antioxidantes, como las peroxidasas y las superóxido dismutasas, que las protegen de las especies reactivas de oxígeno y nitrógeno; en este contexto la acidificación lisosómica es una señal importante para activar los mecanismos clave que permiten al parásito escapar del fagosoma hacia el citoplasma, donde se diferencia en las formas de amastigotes replicativas. Una vez alcanza el torrente sanguíneo, el parásito evita la lisis mediada por complemento y la opsonización con la ayuda de proteínas de superficie, como calreticulina y GP160 que son clave para evadir las vías del complemento [15]. Durante la fase inicial de la infección, el parásito provoca la activación policlonal de células B y la hipergammaglobulinemia basada en mitógenos de células B derivados de parásitos. Los anticuerpos producidos por estas células no son específicos del parásito y son ineficaces para controlar la infección. Con la estimulación de los receptores tipo TLR 7 y 9, seguidos por la producción de citocinas proinflamatorias, se establece una respuesta inmune centrada en Th1, que conduce a la producción de células CD8⁺ específicas de *T. cruzi* dirigidas a epítomos inmunodominantes del parásito, derivados de la familia trans-sialidasa, que son importantes para controlar la parasitemia y el parasitismo tisular. Sin embargo, esta respuesta inmune enfocada no logra eliminar la infección por *T. cruzi* [16].

La clasificación de *T. Cruzi* a través del tiempo

Se han identificado diferencias en las cepas parasitarias de diversas fuentes. Desde entonces el *Trypanosoma cruzi* ha sido tipificado en distintos biodemos, zimodemos y linajes. Las herramientas que revelaron la diversidad genética del parásito incluyen: marcadores enzimáticos [17], DNA del kinetoplasto [18], cariotipo molecular [19], secuencias de RNA [20, 21] y la caracterización basada en genes del mini-exón [22]. Dos métodos de caracterización destacados que han existido son, primero la caracterización biológica que toma en cuenta el comportamiento de ratones infectados en cuanto a sus aspectos biológicos como parasitemia, morfología, tropismo celular y lesiones histopatológicas que determinaron los biodemos I, II y III [23]. Otra caracterización importante es la que se realiza a través de la bioquímica enzimática del parásito mediante la extracción de enzimas e isoenzimas como por ejemplo la alanina aminotransferasa, 6-Fosfogluconato deshidrogenasa, fosfogluconato mutasa; entre otras [18, 24].

Clasificación actual

Actualmente la diversidad del genoma de *T. cruzi* y la gran diversidad de su genotipo y fenotipo están bien reconocidas [25]. Se han descrito seis unidades discretas de tipificación, estas unidades (DTUs) están asignadas en TcI-TcVI que incluyen designaciones ecológicas y epidemiológicas relevantes. Los DTUs pueden definirse como grupos genéticos (*genetic clusters*) que describen conjuntos de genes de *T. cruzi* identificables entre sí usando marcadores moleculares comunes a veces denominados etiquetas. Los DTUs constituyen unidades confiables para el análisis de epidemiología molecular y estudios experimentales de evolución. El panel de marcadores moleculares no es genéticamente idéntico y puede distinguirse con marcadores adicionales. Así las cepas dentro de los DTUs deben considerarse como familias de clones estrechamente relacionados y no como un solo clon [26]. Dichos marcadores moleculares corresponden a la amplificación de regiones particulares del gen SL (*sliced leader*), 24 α rDNA y 18S rDNA mediante PCR.

Tabla 1. Clasificación actual de *T. cruzi*

Genotipo	Vectores selváticos	Geografía	Enfermedad de Chagas
TcI	Primario: Especies de <i>Rhodnius</i> Secundario: <i>Panstrongylus</i> <i>Triatoma eratyus</i>	Sur, Centro y Norteamérica	Norte del Amazonas, esporádicamente en el cono sur. Cardiomiopatía.
TcII	Incompletamente conocido: (<i>Triatomini</i>)	Cono sur, Esporádico al Norte	Atlántico y Brasil Central. Cardiomiopatía, megasíndromes.
TcIII	<i>P. geniculatus</i>	Sudamérica	Raro en humanos (también en animales domésticos). Casos agudos en el Amazonas. Presentación clínica poco conocida.
TcIV	<i>Rhodnius</i> , <i>Panstrongylus</i> , <i>Triatoma</i>	Norte y Sudamérica	Segunda causa de enfermedad de Chagas en Venezuela, esporádico en otras parte de Sudamérica.
TcV	Incompletamente conocido.	Cono Sur, Gran Chaco, Extremo sur de Brasil.	Cono Sur. Cardiomiopatía, megasíndromes. Portador del vector.
TcVI	Incompletamente conocido	Cono Sur, Gran Chaco	Cono Sur. Cardiomiopatía, megasíndromes.

Fuente: Extraída de B. Zingales, 2012.

Desde 1989, se han desarrollado estrategias de PCR para analizar muestras clínicas infectadas con *T. cruzi*, estudio en el que se evidenció el hecho de que cada laboratorio ha aplicado sus propios protocolos y controles de calidad, haciendo que la comparación de los hallazgos basados en PCR entre diferentes grupos de investigación y regiones geográficas no sea completamente conveniente [27].

Recientemente se ha evaluado el funcionamiento de las pruebas moleculares en 708 pacientes en fase aguda y crónica, donde se muestra que la sensibilidad de las pruebas es significativamente mayor en fase aguda que en la fase crónica. La mediana de las cargas parasitarias detectadas fue de 4,69 y 1,33 parásitos equivalentes /mL para las fase aguda y crónica respectivamente. Las herramientas moleculares pueden complementar de manera precisa el diagnóstico estándar de la enfermedad de Chagas, principalmente en la fase aguda, sin embargo se debe mejorar la sensibilidad en la fase crónica [28].

Es importante tomar en cuenta la influencia de la clasificación de las cepas en la aplicación del diagnóstico ya que algunos estudios recientes apoyan la proposición de que evaluar la actividad de nuevos compuestos frente a un grupo representativo de cepas es esencial, debido a la diversidad genética de *T. cruzi* y su posible influencia en la respuesta a los fármacos [29]. Las cepas mexicanas pertenecientes al DTU grupo I, fueron evaluadas en su susceptibilidad y resistencia a fármacos, para lo cual se realizó una prueba de susceptibilidad a nifurtimox y benznidazol. Las cepas caracterizadas como microsatélite genotipos 2 y 3 fueron significativamente más susceptibles al benznidazol que las cepas del microsatélite genotipo 1 [30].

Conforme avanza la tecnología se realizan nuevas propuestas para la clasificación de las cepas de *T. cruzi*. Debido a que las DTU solo pueden ser validadas cuando la especie se analiza en toda su área de distribución con los mismos marcadores genéticos. Barnabé y colaboradores proponen un método para la clasificación de las cepas de *Trypanosoma cruzi*, seleccionaron dos genes mitocondriales (CytB y COII) y un gen nuclear (Gpi), donde existen tres clusters actualmente denominados mtTcI, mtTcII y mtTcIII [31].

Nadie ha descrito la relación entre la composición de glicanos y los efectos biológicos de cada glicoconjugado del parásito. La identificación de receptores y vías de señalización provocadas por estructuras de glicanos expresadas por cepas específicas de *T. cruzi* podría proveer nuevas percepciones acerca del desarrollo de terapias que inhiben o potencian la respuesta inmune durante la infección. Este tipo de información, además extiende nuestro conocimiento acerca de moléculas del parásito que estimulan/regulan la respuesta inmune durante la infección de *Trypanosoma cruzi* y revelarían interesantes biomarcadores para la diferenciación de cepas de tripanosomátidos [32].

Glicosilación

La glicosilación es la unión covalente de un carbohidrato a un polipéptido, lípido, polinucleótido, carbohidrato u otro compuesto orgánico, generalmente catalizada por glicosiltransferasas, utilizando sustratos específicos de los donantes de nucleótidos de azúcar [33]. La glicosilación es una de las modificaciones postraduccionales más comunes y cerca de la mitad de las proteínas conocidas en eucariotas son glicosiladas [34].

El *Trypanosoma cruzi* está envuelto por una densa capa de moléculas de tipo mucina codificadas por familias de genes complejos denominadas TcSMUG y TcMUC, que se expresan en las formas del parásito que habitan insectos y mamíferos, respectivamente. Los productos cMUC y TcSMUG son reconocidos y procesados por un repertorio distinto de glicosiltransferasas específicas de etapa [35]. Una glicosiltransferasa podría estar participando en la adición de dos manosas consecutivas donde GPI-MT-III gen (PigB) que es responsable de agregar Man-III a GPI, también podría ser capaz de agregar Man-IV tanto en *T. cruzi* como en *Plasmodium falciparum* [36]. Otros estudios sugieren que *T. cruzi* puede usar el mismo conjunto de glicosiltransferasas para la síntesis de LPPG (lipopeptidoglicanos) y anclas GPI unidas a la glicoproteína, ya que los epimastigotes sintetizan LPPG cuyo núcleo PI- oligosacárido es similar a los anclajes de GPI de las glicoproteínas de *T. cruzi* [37].

Anclas de glicosilfosfatidilinositol-Mucinas de T. cruzi en la evasión de la respuesta inmune

El *T. cruzi* emplea muchas moléculas y estrategias para invadir las células del huésped y escapar de sus mecanismos de defensa. Las anclas GPI-mucinas expresadas en la superficie, son importantes en este proceso [38]. La subfamilia principal de TcMUC se expresa en la etapa de tripomastigote de mamífero. Consiste en una capa altamente antigénica, con variaciones que explican la virulencia y las propiedades inmunomoduladoras. Las anclas GPI (glicosilfosfatidilinositol) de *T. cruzi* presentan diferentes estructuras en los estadios del parásito, aunque todas las mucinas están compuestas por un *core* lineal formado por $\text{NH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-PO}_4\text{-6Man1, 2Man}\alpha\text{1, 6Man}\alpha\text{1, 4-GlcNac1, 6-myoinositol-PO}_4\text{-lipid}$ [36]; este *core* puede estar ramificado por residuos de galactosa (Gal) los cuales son aceptores de ácido siálico

cuyas unidades son transferidas a través de una transialidasa; aunque se desconoce su localización exacta, en el estadio de tripomastigote derivado de células el ancla GPI se distingue por la presencia de α -galactopiranosil (α -Gal), estos epitopes son altamente inmunogénicos.

Las anclas lipídicas de las GPI-mucinas varían de acuerdo al estadio en epimastigotes y están compuestas por ácidos grasos de C18:1 y C18:2, en tripomastigotes metacíclicos están conformados por inositol-fosfoceramidas, y en los tripomastigotes derivados de células están compuestos exclusivamente de Alquilacil-PI. Ver Figura 2 [39].

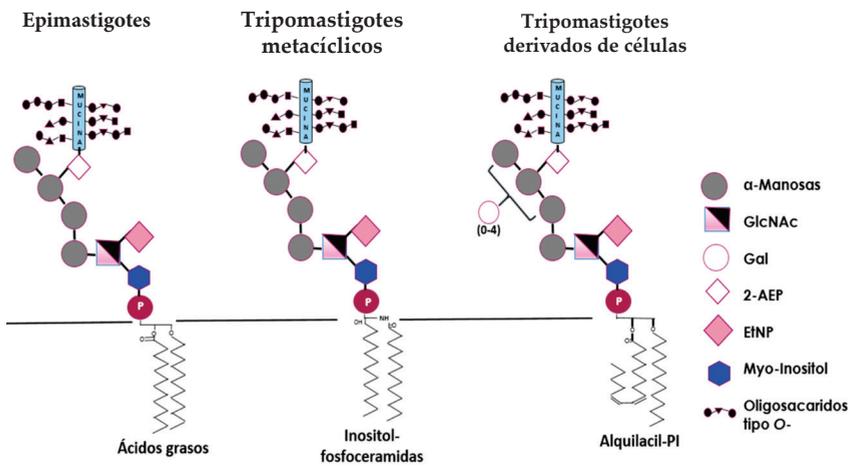


Figura 2. Anclas GPI (Glicosilfosfatidilinositol) en los estadios de *T. cruzi*.
Fuente: Imagen extraída y modificada de [40].

Cambios en glicoinositolfosfolípidos de acuerdo a la cepa

El parásito protozoario patógeno *Trypanosoma cruzi* expresa en su superficie una familia inusual de glicoinositol fosfolípidos (GIPL) estrechamente relacionada con anclas de glicosilfosfatidilinositol (GPI). Diferentes aislados de parásitos expresan distintos GIPL que se dividen en dos series, dependiendo de la sustitución del tercer resto manosilo en la secuencia conservada de glicano Man4- (AEP) -GlcN-InsPO₄ por fosfato de etanolamina o beta-galactofuranosa. Aunque se desconoce el papel exacto de estas moléculas en la biología celular y la patogenicidad de *T. cruzi*, las fracciones de lípidos y glucanos presentan respuestas

distintas a los linfocitos T y B y fagocitos del huésped, lo que favorece en general una respuesta inmune permisiva para el parásito [40].

Las variaciones estructurales y sustituciones en los glicoinositolfosfolípidos en las cepas de *Trypanosoma cruzi* pueden desempeñar un rol inmunomodulador importante en la infección por *T. cruzi*, conclusión a la que se llegó al comparar las cepas G (DTU I), G-645, Tulahuen CL (DTU VI) y la cepa Y (DTU II). Los oligosacáridos de la serie 1 presentan sustitución en la tercera manosa distal del inositol (Man 3) por etanolamina-fosfato o ácido 2-aminoetilfosfónico, al igual que algunos anclajes de glicosil-fosfatidilinositol-proteína. El núcleo puede ser sustituido adicionalmente por unidades de beta-galactofuranosas unidas terminalmente que se expresan en todas las cepas (G, G-645, Tulahuen CL, e Y) mientras que las estructuras de la Serie 2 están presentes principalmente en las cepas CL e Y no tienen grupos adicionales que contienen fósforo unidos a Man 3, siendo sustituido este último por una unidad de cadena lateral única de beta-galactofuranosa. El resto lipídico en los GIPL de las cepas G, G-645 y Tulahuen es predominantemente ceramida, como se informó para la cepa Y, mientras que el de la cepa CL es una mezcla de especies de ceramida y alquilacilglicerol [41].

Se han descrito *N*-glicoproteínas incluyendo anclas GPI en el exoproteoma de cultivos de tripomastigotes derivados del cultivo de tejidos de mamíferos (cepa Y). La mayor parte de las glicoproteínas identificadas mediante el análisis NanoLC-MS/MS fueron glicoproteínas implicadas en la interacción del parásito con el huésped, incluyendo unión a DNA, a proteínas, a nucleótidos, así como actividad hidrolasa, y actividad transferasa, exponiendo la importancia de estas modificaciones en funciones vitales del parásito en la invasión al huésped [42].

En epimastigotes de la cepa Tulahuen se reportan cambios en las glicoproteínas de las mucinas de la estructura Galp β 1-4GlcNAc que puede ser sustituida por actividad de una galactopiranosil o galactofuranosil transferasa dando lugar a Galp- β -(1-2)-Galf- β -(1-4) o Galf- β -(1-2)-Galf- β -(1-4). La determinación de estas estructuras de O-glicanos en *T. cruzi* confirma la especificidad de la glicosilación en la cepa y predice la relación entre la patogenicidad del parásito y la epidemiología de la enfermedad de Chagas [43]. Ver Tabla 2.

Tabla 2. Diferentes cepas de *T. cruzi* y las modificaciones estructurales en cada una

Cepa	Estadio	Sitio de la sustitución	Sustitución	Referencia
Tulahuen	Epimastigote	Galp β 1-4GlcNAc	Galp- β -(1-2)-Gal β - β -(1-4) o Gal β - β -(1-2)-Gal β - β -(1-4).	[43]
Colombiana	Epimastigote	α -GlcNAc O-4	B-Gal β	[44]
		GlcNAc O-6	Gal f β 1 \rightarrow 4 {Gal p β 1 \rightarrow 3 [Gal p β 1 \rightarrow 2] Gal p β 1 \rightarrow 6} GlcNAc-ol	
G, G-645, Tulahuen CL, e Y	Epimastigote	Man 3	Etanolamina-fosfato o ácido 2-aminoetilfosfónico.	[41]
CL e Y	Epimastigote	Man 3	B-Gal β	
Y strain	Epimastigote	Man3	2 aminoetil-fosfonato	[45]
		O-linked GlcNAc	Galp β 1-6(Galp β 1-3)GlcNAc-ol; y Galp β 1-2Galp β 1-6(Galp β 1-3)GlcNAc-ol Galp β 1-4ManNAc-ol	
CL-Brener strain	Epimastigote	GlcNAc O-4	β -Galp Neu5Aca2-3Galp1-4[Galpb1-6]GlcNAc-o y Galpb1-4[Neu5Aca2-3Galp1-6]GlcNAc-ol	[46]
		GlcNAc	(Galp β 1-2Galp β 1-2Galp β 1-6....)	
G strain	Epimastigote	GlcNAc O-4	β -Gal β	[46]
		Galp β 1 \rightarrow 6	(Galp β 1-2[Galp β 1-3]Galp β 1-6...)	

Fuente: Extraída de B. Zingales, 2012.

Fuente: Elaboración propia.

Conclusiones

Las estructuras glicobiológicas en *T. cruzi* no solo pueden desempeñar roles importantes en la modulación de la infección de la enfermedad de Chagas, sino que también ayudarían a comprender la especificidad de la glicosilación en cada cepa, para predecir la patogenicidad y la epidemiología de la enfermedad. Algunas de las estructuras de glicanos estudiados podrían ser potenciales candidatos a vacuna y a diagnóstico.

Agradecimientos

Los autores dan un especial agradecimiento al Cuerpo Académico Investigación en Salud, UABJO-CA-63, al programa de Fortalecimiento de Cuerpos Académicos en Formación de la Secretaría de Educación Pública (SEP), al Centro de Investigación Facultad de Medicina-UNAM-UABJO, a la Facultad de Odontología de la Universidad Autónoma Benito Juárez de Oaxaca y a la Red Temática “Glicociencia en Salud” de CONACYT en México.

Referencias

- [1] J. A. Pérez-Molina and I. Molina, Chagas disease, *Lancet*, vol. 6736, no. 17, pp. 1–13, 2017.
- [2] T. Wilmanski *et al.*, Control de la Enfermedad de Chagas, Ser. Inf. técnicos. Com. Expert. la OMS, 2016.
- [3] A. Ingber, M. N. Garcia, J. Leon, and K. O. Murray, Chagas Disease Knowledge and Risk Behaviors of the Homeless Population in Houston, TX, *Journal of Racial and Ethnic Health Disparities*, pp. 1–6, 2017.
- [4] S. Antinori, L. Galimberti, R. Bianco, R. Grande, M. Galli, and M. Corbellino, Chagas disease in Europe: A review for the internist in the globalized world, *European Journal of Internal Medicine*, vol. 43. pp. 6–15, 2017.
- [5] E. Guzmán-Marín, J. E. Zabala-Castro, K. Y. Acosta-Viana, and M. E. Rosado-Barrera, Importancia de la caracterización de cepas de *Trypanosoma*, *Rev Biomed*, vol. 10, no. 490, pp. 177–184, 1999.
- [6] M. C. P. Nunes, W. Dones, C. a. Morillo, J. J. Encina, and A. L. Ribeiro, Chagas disease: An overview of clinical and epidemiological aspects, *J. Am. Coll. Cardiol.*, vol. 62, no. 9, pp. 767–776, 2013.

- [7] L. V. Kirchhoff, *Epidemiology of American Trypanosomiasis (Chagas Disease)*, 1st ed., vol. 75. Elsevier Ltd., 2011.
- [8] C. J. Schofield and C. Galvão, Classification, evolution, and species groups within the Triatominae, *Acta Trop.*, vol. 110, no. 2–3, pp. 88–100, 2009.
- [9] A. Rassi, A. Rassi, and J. A. Marin-Neto, Chagas disease, *Lancet*, vol. 375, no. 9723, pp. 1388–1402, 2010.
- [10] C. S. Gonçalves, A. R. Ávila, W. De Souza, M. C. M. Motta, and D. P. Cavalcanti, Revisiting the *Trypanosoma cruzi* metacyclogenesis: Morphological and ultrastructural analyses during cell differentiation, *Parasites and Vectors*, vol. 11, no. 1, 2018.
- [11] F. Nagajyothi et al., Mechanisms of *Trypanosoma cruzi* persistence in Chagas disease, *Cell. Microbiol.*, vol. 14, no. 5, pp. 634–643, 2012.
- [12] D. Pérez-Morales, H. Lanz-Mendoza, G. Hurtado, R. Martínez-Espinosa, and B. Espinoza, Proteomic analysis of *Trypanosoma cruzi* epimastigotes subjected to heat shock, *J. Biomed. Biotechnol.*, vol. 2012, 2012.
- [13] A. R. L. Teixeira, M. M. Hecht, M. C. Guimaro, A. O. Sousa, and N. Nitz, Pathogenesis of chagas' disease: Parasite persistence and autoimmunity, *Clin. Microbiol. Rev.*, vol. 24, no. 3, pp. 592–630, 2011.
- [14] G. Ramírez-Tolosa and A. Ferreira, *Trypanosoma cruzi* evades the complement system as an efficient strategy to survive in the mammalian host: The specific roles of host/parasite molecules and *Trypanosoma cruzi* calreticulin, *Frontiers in Microbiology*, vol. 8, no. SEP. 2017.
- [15] K. C. F. Lidani, L. Bavia, A. R. Ambrosio, and I. J. de Messias-Reason, The complement system: A prey of *Trypanosoma cruzi*, *Frontiers in Microbiology*, vol. 8, no. APR. 2017.
- [16] M. S. Cardoso, J. L. Reis-Cunha, and D. C. Bartholomeu, Evasion of the immune response by *Trypanosoma cruzi* during acute infection, *Front. Immunol.*, vol. 6, no. JAN, pp. 1–15, 2016.
- [17] F. Ebert, Further isoenzymatic studies on *Trypanosoma cruzi* stocks from Brazil, Colombia and Chile, *Trop Med Parasito. l.*, vol. 36, no. 2, pp. 85–87, 1985.
- [18] M. Carneiro, A. J. Romanha, and E. Chiari, Biological characterization of *Trypanosoma cruzi* strains from different zymodemes and schizodemes., *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, vol. 86, no. 4. pp. 387–393, 1991.
- [19] G. Sanchez, A. Wallace, S. Munoz, J. Venegas, S. Ortiz, and A. Solari, Characterization of *Trypanosoma cruzi* populations by several molecular markers supports a clonal mode of reproduction, in *Biological Research*, 1993, vol. 26, no. 1–2, pp. 167–176.

- [20] O. Fernandes et al., Brazilian isolates of *Trypanosoma cruzi* from humans and triatomines classified into two lineages using mini-exon and ribosomal RNA sequences, *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, vol. 58, no. 6, pp. 807–811, 1998.
- [21] R. P. Souto and B. Zingales, Sensitive detection and strain classification of *Trypanosoma cruzi* by amplification of a ribosomal RNA sequence, *Mol. Biochem. Parasitol.*, vol. 62, no. 1, pp. 45–52, 1993.
- [22] J. R. Santos-Mallet et al., Molecular characterization of *Trypanosoma cruzi* sylvatic isolates from Rio de Janeiro, Brazil, *Parasitol. Res.*, vol. 103, no. 5, pp. 1041–1045, 2008.
- [23] S. G. Andrade and J. B. Magalhes, Biodemes and zymodemes of *Trypanosoma cruzi* strains: correlations with clinical data and experimental pathology., *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, vol. 30, no. 1, pp. 27–35, 1996.
- [24] E. E. Montamat, G. M. De Luca D’Oro, R. H. Gallerano, R. Sosa, and A. Blanco, Characterization of *Trypanosoma cruzi* populations by zymodemes: Correlation with clinical picture, *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, vol. 55, no. 6, pp. 625–628, 1996.
- [25] B. Zingales et al., *The revised Trypanosoma cruzi* subspecific nomenclature: Rationale, epidemiological relevance and research applications, *Infect. Genet. Evol.*, vol. 12, no. 2, pp. 240–253, 2012.
- [26] B. Zingales *et al.*, *The revised Trypanosoma cruzi* subspecific nomenclature: Rationale, epidemiological relevance and research applications, *Infection, Genetics and Evolution*. 2012.
- [27] A. G. Schijman et al., International study to evaluate PCR methods for detection of *Trypanosoma cruzi* DNA in blood samples from Chagas disease patients, *PLoS Negl. Trop. Dis.*, vol. 5, no. 1, 2011.
- [28] C. Hernández et al., Molecular Diagnosis of Chagas Disease in Colombia: Parasitic Loads and Discrete Typing Units in Patients from Acute and Chronic Phases, *PLoS Negl. Trop. Dis.*, vol. 10, no. 9, pp. 1–20, 2016.
- [29] B. Zingales et al., Drug discovery for chagas disease should consider *Trypanosoma cruzi* strain diversity, *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, vol. 109, no. 6, pp. 828–833, 2014.
- [30] I. Martínez, B. Noguera, F. Martínez-Hernández, and B. Espinoza, Microsatellite and Mini-Exon Analysis of Mexican Human DTU I *Trypanosoma cruzi* Strains and Their Susceptibility to Nifurtimox and Benznidazole, *Vector-Borne Zoonotic Dis.*, vol. 13, no. 3, pp. 181–187, 2013.
- [31] C. Barnabé, H. I. Mobarec, M. R. Jurado, J. A. Cortez, and S. F. Brenière, Reconsideration of the seven discrete typing units within

- the species *Trypanosoma cruzi*, a new proposal of three reliable mitochondrial clades, *Infect. Genet. Evol.*, vol. 39, pp. 176–186, 2016.
- [32] L. M. Fonseca et al., Expanding the knowledge of the chemical structure of glycoconjugates from *Trypanosoma cruzi* TcI genotype. Contribution to taxonomic studies, *An. Acad. Bras. Cienc.*, vol. 88, no. 3, pp. 1519–1529, 2016.
- [33] M. A. Ferguson, T. Kinoshita, and G. W. Hart, *Essentials of Glycobiology*. 2nd edition. 2009.
- [34] C. M. Ferrer, V. L. Sodi, and M. J. Reginato, O-GlcNAcylation in Cancer Biology: Linking Metabolism and Signaling, *J. Mol. Biol.*, vol. 428, no. 16, pp. 3282–3294, 2016.
- [35] G. E. Cánepa, A. C. Mesías, H. Yu, X. Chen, and C. A. Buscaglia, Structural features affecting trafficking, processing, and secretion of *Trypanosoma cruzi* mucins, *J. Biol. Chem.*, vol. 287, no. 31, pp. 26365–26376, 2012.
- [36] L. K. Cortes, J. J. Scarcelli, and C. H. Taron, Complementation of essential yeast GPI mannosyltransferase mutations suggests a novel specificity for certain *Trypanosoma* and *Plasmodium* pigB proteins, *PLoS One*, vol. 9, no. 1, pp. 1–9, 2014.
- [37] J. O. Previato et al., Structural characterization of the major glycosylphosphatidylinositol membrane-anchored glycoprotein from epimastigote forms of *Trypanosoma cruzi* Y-strain, *J. Biol. Chem.*, vol. 270, no. 13, pp. 7241–7250, 1995.
- [38] J. M. Di Noia et al., High diversity in mucin genes and mucin molecules in *Trypanosoma cruzi*, *J. Biol. Chem.*, vol. 271, no. 50, pp. 32078–32083, 1996.
- [39] R. P. Soares et al., Intraspecies variation in *Trypanosoma cruzi* GPI-mucins: Biological activities and differential expression of ??-galactosyl residues, *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, vol. 87, no. 1, pp. 87–96, 2012.
- [40] J. O. Previato et al., Glycoinositolphospholipid from *Trypanosoma cruzi*: Structure, Biosynthesis and Immunobiology, *Advances in Parasitology*, vol. 56. pp. 1–41, 2003.
- [41] J. C. Carreira, C. Jones, R. Wait, J. O. Previato, and L. Mendonça-Previato, Structural variation in the glycoinositolphospholipids of different strains of *Trypanosoma cruzi*, *Glycoconj. J.*, vol. 13, no. 6, pp. 955–966, 1996.
- [42] R. M. L. Queiroz et al., Insight into the Exoproteome of the Tissue-Derived Trypomastigote form of *Trypanosoma cruzi*, *Front. Chem.*, vol. 4, 2016.

- [43] C. Jones, A. R. Todeschini, O. A. Agrellos, J. O. Previato, and L. Mendonça-Previato, Heterogeneity in the biosynthesis of mucin O-glycans from *Trypanosoma cruzi* Tulahuen strain with the expression of novel galactofuranosyl-containing oligosaccharides, *Biochemistry*, vol. 43, no. 37, pp. 11889–11897, 2004.
- [44] A. R. Todeschini, E. G. de Almeida, O. A. Agrellos, C. Jones, J. O. Previato, and L. Mendonça-Previato, α -N-acetylglucosamine-linked O-glycans of sialoglycoproteins (Tc-mucins) from *Trypanosoma cruzi* Colombiana strain, *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, vol. 104, no. SUPPL. 1, pp. 270–274, 2009.
- [45] C. Jones, J. O. Previato, and L. Mendonça-Previato, NMR assignments for glucosylated and galactosylated N- acetylhexosaminitols: Oligosaccharide alditols related to O-linked glycans from the protozoan parasite *Trypanosoma cruzi*, *Carbohydr. Res.*, vol. 328, no. 3, pp. 321–330, 2000.
- [46] a R. Todeschini, E. X. da Silveira, C. Jones, R. Wait, J. O. Previato, and L. Mendonça-Previato, Structure of O-glycosidically linked oligosaccharides from glycoproteins of *Trypanosoma cruzi* CL-Brener strain: evidence for the presence of O-linked sialyl-oligosaccharides., *Glycobiology*, vol. 11, no. 1, pp. 47–55, 2001.

