

rencia mejor que las mujeres. El porcentaje más alto de personas desempleadas lo forman las mujeres. Las personas más pobres entre los pobres son mujeres y los marginados socialmente y excluidos son también mujeres». También recordó que mil trescientos millones de personas viven en la más absoluta pobreza, mil quinientos millones no tienen acceso a los servicios de salud más básicos, y el setenta por ciento de desfavorecidos del mundo son mujeres.

De modo que, la problemática no es sólo de nuestra provincia y de nuestro país. Ello, no significa que el sentirnos acompañados en nuestras aflicciones, acarree como lógica consecuencia un conformismo -bien mirado por el determinismo de la nueva derecha-, generando a la vez, un afligente abstencionismo estatal.

Deviene entonces, deber insoslayable del Estado, velar por aquellos que menos tienen. De donde, la falta de políticas públicas, al propio tiempo que torna lacerante la vulnerabilidad del actor social, aumenta la vigencia de la discriminación tematizada, magüer los contenidos de la constitución formal.

MR32. La discriminación laboral del infectado chagásico. Sus características según género.
ELVIRA RISSECH, CONICET

Instituto Nacional de Parasitología "Dr. Mario Fatała Chaben" Av. Paseo Colón 568 (1063) Buenos Aires.

La ley 22.360/80 de Prevención y Lucha contra la enfermedad de Chagas establece la obligatoriedad de las reacciones serológicas en el examen prelaboral y señala que "la simple serología reactiva para la enfermedad de Chagas no podrá constituir elemento restrictivo para el ingreso al trabajo siempre que a la fecha del examen preocupacional no existan otros elementos diagnósticos, clínicos, radiológicos y electrocardiográficos que indiquen disminución de la capacidad laboral imputable a infección chagásica". Pese a ello, en muchos casos las personas con infección chagásica no ingresan a los trabajos a los que se postulan.

Esta investigación se llevó a cabo en el Instituto Nacional de Parasitología. Se entrevistaron 186 personas - 81 varones y 105 mujeres - entre 15 y 45 años. Estas personas realizan un seguimiento médico en el Instituto y estaban todos en fase indeterminada. Se utilizó un cuestionario con preguntas cerradas y abiertas.

Entre los entrevistados con experiencia laboral, el 24,7% de los varones y el 17,5% de las mujeres tuvo problemas en el examen prelaboral o en el mantenimiento de su trabajo. Entre los entrevistados que no tuvieron problema en forma directa el 27,1% de los varones sabía de la existencia de problemas para el ingreso laboral de los infectados chagásicos, el porcentaje de mujeres en esa situación era del 32,9.

Esta discriminación del trabajador infectado no es uniforme, parece ser más frecuente en algunas ramas que en otras. Hay en general un amplio margen de variabilidad en las conductas médicas y empresarias sobre el tema.

En muchos casos las personas ignoran que están infectadas, conocen esa situación en el examen prelaboral. En forma simultánea saben que "tienen Chagas" y que por ello no pueden trabajar. Trabajo y salud son dos áreas estratégicas en la vida de las personas, por ello el impacto sobre la persona de la exclusión del mercado laboral por una "supuesta enfermedad" que no afecta su organismo es fuente de angustia.

En el caso de las mujeres, la discriminación laboral tiene lugar en distintas actividades, pero es frecuente entre enfermeras y mucamas. En el caso de empleadas domésticas hay casos en que fueron echadas al conocer las empleadoras que "tenían Chagas", sin que mediara ninguna intervención médica.

En el caso de las mujeres se suma a la discriminación laboral la preocupación por la posibilidad de transmitir la infección a sus hijos.

Moléculas blanco para la acción de drogas parasiticidas

MR33. The trypanothione peroxidase activity of trypanosomatids is exerted by two distinct proteins working in concert. L. FLOHÉ¹, D. GOMMEL², M. KIES², M. MONTEMARTINI², E. NOGOCEKE², M. SINGH¹, P. STEINERT¹, H. KALISZ².

¹Department of Physiological Chemistry, Technical University of Braunschweig, Germany.
²GBF National Research Centre for Biotechnology, Braunschweig, Germany

It is widely accepted that in parasitic trypanosomatids, glutathione-dependent hydroperoxide removal is replaced by an analogous system utilizing trypanothione as a reductant. The components critical for the host system, glutathione reductase and glutathione peroxidase, appear to be absent. Instead, a trypanothione reductase, which is homologous to glutathione reductase, has been found in various trypanosomatids (1) and characterized in depth (2). Also the biosynthetic pathway transforming glutathione into the (N',N'-bis(glutathionyl)spermidine) derivative trypanothione has been elucidated to some extent (3). However, an enzymatic entity catalyzing the reduction of hydroperoxides at the expense of trypanothione could never be isolated, although a corresponding activity appeared to be present in crude homogenates of *Trypanosoma*, *Leishmania* and *Crithidia* species.

We recently resolved this puzzling observation by demonstrating that in *Crithidia fasciculata* a trypanothione peroxidase indeed does not exist but that the hydroperoxide reduction by trypanothione is catalyzed by two distinct proteins; a small protein directly reacting with trypanothione and a high molecular weight oligomeric peroxidase which is reductively regulated by the former (4). The protein being reduced by trypanothione and reducing the peroxidase has a molecular mass of about 16 000 and, according to partial sequencing, is remotely related to thioredoxin. Its active site is characterized by the sequence motif WCPC which again resembles of

the thioredoxin active site WCGPC. Due to its similarity to thioredoxin it has been named tryparedoxin (5). The partial reactions of tryparedoxin with its substrates, trypanothione and the peroxidase, occur independently as evidenced by ping-pong kinetics and derivatisation studies (6). The catalytic potential of tryparedoxin is characterized by limiting K_m values of 130 μM and 2.2 μM for trypanothione and the peroxidase, respectively, and a $V_{\text{max}}/[E]$ of 392 min^{-1} .

The second component of the system works as a tryparedoxin:hydroperoxide oxidoreductase or, in short, tryparedoxin peroxidase. It is composed of identical subunits of 21 000 and, in its native state has an apparent mass around 280 000. Sequencing of peptide fragments (4) and of the encoding DNA (7) revealed that tryparedoxin peroxidase is a member of the peroxidoredoxin family of proteins. The peroxidoredoxins, apart from an increasing number of proteins with ill-defined function (8) comprise several peroxidases, in particular thioredoxin peroxidases in yeast and mammals (9) and the alkylhydroperoxide reductases of bacteria (10). Aligning the sequence of tryparedoxin peroxidase with those peroxidoredoxins with established peroxidase activity yields the consensus sequence $x_n P x_0 G x_3 V x_2 F x_1 P x_1 F x_1 F V C P x_2 S x_1 D x_7 W x_{14-17} D x_{15-18} G x_3 R x_2 F x_2 D x_{27} Q x_{4-6} V C P x_2 W x_n$. Clearly, the only functional residues enabling hydroperoxide reductions are the two conserved cysteine residues which have also been implicated in the catalysis of thioredoxin peroxidase (9). Kinetically, also tryparedoxin peroxidase is characterized by a ping-pong pattern, however, with unlimited K_m values and maximum velocities. The rate constant for the net forward reaction of the reduced peroxidase with H_2O_2 is $6 \times 10^3 \text{ mM}^{-1} \text{ min}^{-1}$ and thus in the same order of magnitude as the sulfur analogs of the selenoproteins, glutathione peroxidase (11) and phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase (12). This implies that the active site cysteines of tryparedoxin peroxidase must be similarly activated as in the phylogenetically unrelated glutathione peroxidases. Interestingly, those residues forming the catalytic triad in glutathione peroxidases, i.e. glutamine and tryptophane (12), are also contained in the consensus sequence of the peroxidoredoxin-type peroxidases. It may therefore be speculated that, by convergence, a similar active site has been generated in these otherwise unrelated types of peroxidases. The trypanothione peroxidase system detected in *C. fasciculata* is certainly unique and distinct from any known peroxidase system of bacteria, higher animals and plants. But circumstantial evidence suggests that it may be common to the whole family of *Trypanosomatidae*. A corresponding activity has been demonstrated in all genera of the family, all contain trypanothione and trypanothione regenerating systems, and recently a sequence closely related to tryparedoxin peroxidase of *C. fasciculata* was also detected in *Trypanosoma brucei rhodesiense* (13). The obvious restriction of this pathway to parasitic *Kinetoplastidae* promises a selective attack on a vital function of the parasite, once specific inhibitors of the system become available.

Supported by the Deutsche Forschungsgemeinschaft (Grant FI61/8-1).

References

- 1 Hunter, W.N.; Bailey, S.; Habash, J.; Harrop, S.J.; Helliwell, J.R.; Aboagye-Kwarteng, T.; Smith, K.; Fairlamb, A.H. (1992) *J. Mol. Biol.* 227, 322-33
- 2 Fairlamb, A.H., Cerami, A. (1992) *Annu. Rev. Microbiol.* 46, 695-729
- 3 Koenig, K.; Menge, U.; Kieb, M.; Wray, V.; Flohé, L. (1997) *J. Biol. Chem.* 272, 11908 - 11915
- 4 Nogoceke, E.; Gommel, D.U.; Kieb, M.; Kalisz, H.M.; Flohé, L. (1997) *Biol. Chem.* 378, 827-836
- 5 Flohé, L.; Nogoceke, E.; Gommel, D.U.; Kieb, M.; Kalisz, H.M. (1997) In: Packer, L.; Davies, K.J.A.; Cadenas, E. (eds.): *Oxidants and Antioxidants in Biology*. Red Lion Resort, Santa Barbara California, p. 24
- 6 Gommel, D.U.; Nogoceke, E.; Morr, M.; Kieb, M.; Kalisz, H.M. and Flohé, L. (1997) *Eur. J. Biochem.*, in press
- 7 Montemartini, M.; Nogoceke, E.; Singh, M.; Steinert, P.; Flohé, L. and Kalisz, H.M. (1997) submitted
- 8 Chae, H.Z.; Robison, K.; Poole, L.B.; Church, G.; Storz, G. and Rhee, S.G. (1994) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 91, 7017-21
- 9 Chae, H.Z.; Kim I.; Kim K. and Rhee, S.G. (1993) *J. Biol. Chem.* 268, 16815-21
- 10 Tartaglia, L.A.; Storz, G.; Brodsky, M.H.; Lai, A.; Ames, B.N. (1990) *J. Biol. Chem.* 265, 10535-40
- 11 Rocher, C.; Lalanne, J.L.; Chaudiere, J. (1992) *Eur. J. Biochem.* 205, 955-60
- 12 Maiorino, M.; Aumann, K.-D.; Brigelius-Flohe, R.; Doria, D.; van den Heuvel, J.; McCarthy, J.; Roveri, A.; Ursini, F. and Flohe, L. (1995) *Biol. Chem. Hoppe-Seyler* 376 651-60
- 13 el-Sayed, N.M.; Alarcon, C.M.; Beck, J.C.; Sheffield, V.C. and Donelson, J.E. (1995) *Mol. Biochem. Parasitol.* 73 (1-2), 75-90

MR34. Biosíntesis de glicoproteínas en *Plasmodium falciparum*, un potencial blanco para la acción de nuevas drogas antimaláricas. KATZIN A.M.¹, KIMURA E.¹, PERES V.J.¹, UHRIG M.L.², COUTO A.S.²

¹Departamento de Parasitología. ICB-USP, Brasil; ²Departamento de Química Orgánica FCEyN UBA. Argentina.

El paludismo es la principal enfermedad parasitaria en el mundo afectando más de doscientos millones de personas y ocasionando la muerte de 2 millones por año. *Plasmodium falciparum* es una de las cuatro especies de plasmodios responsables por el paludismo humano, y en el Brasil 50% de los casos anuales corresponden a esta especie de plasmodio; mientras que, en la Argentina la mayoría de los casos son producidos por *Plasmodium vivax*. Una de las alternativas propuestas por las autoridades internacionales, para controlar esta enfermedad ha sido la obtención de vacunas y nuevos quimioterápicos entre otras medidas, para lo cual es importante profundizar los conocimientos bioquímicos de este parásito. Una de las áreas poco estudiadas ha sido

la glicobiología de los plasmodios. Hemos demostrado recientemente la presencia de glicoproteínas N-glicosídicas en los estadios intraeritrocíticos del *P. falciparum*, habiendo una mayor preponderancia de éstas en los estadios iniciales del ciclo (trofozoito joven y maduro) (Kimura, E.A.S., et al. J. Biol. Chem. 271: 14452, 1996). Dos glicoproteínas, una de >200 kDa purificada del trofozoito joven, y otra de 200 kDa purificada del trofozoito maduro están siendo estudiadas en lo que se refiere a la estructura del oligosacárido. En ambas fue demostrada la presencia de oligosacáridos $\text{Man}_3\text{GlcNac}_2$ y $\text{Man}_9\text{GlcNac}_2$, estudios para determinar la estructura de cada una de ellas están siendo desarrollados.

Las glicoproteínas N-ligadas están asociadas a la maduración de las formas intraeritrocíticas ya que en presencia de tunicamicina los parásitos no completan su ciclo y se detienen en el estadio trofozoito. Por esta causa la inhibición de esta vía de biosíntesis puede ser un potencial blanco para la acción de drogas antimaláricas. A partir de esta hipótesis están siendo evaluadas otras drogas que pueden inhibir los diferentes intermediarios de la vía de biosíntesis de glicoproteínas. Cultivos de *P. falciparum* sincrónicos en el estadio anillo fueron tratados con mevastatina, esta droga inhibe la enzima hidroximetilglutaril CoA reductasa, reduciendo los niveles de colesterol plasmático en pacientes; por otro lado *P. falciparum* no sintetiza colesterol incorporándolo del plasma del huésped. Los parásitos tratados con 120 mM de mevastatina no se diferencian a esquizontes, se detienen en el estadio trofozoito maduro y mueren después de 50 hs de tratamiento. Cuando los parásitos fueron marcados metabólicamente con D [U- ^{14}C]-glucosa, en varias glicoproteínas del tipo N-glicosídicas no fue detectado el oligosacárido. Varias de las glicoproteínas del tipo N-ligadas, inhibidas por mevastatina tienen un peso molecular semejante a las inhibidas por tunicamicina. La inhibición de la biosíntesis de glicoproteínas en los estadios intraeritrocíticos de *P. falciparum* tratados con mevastatina pueden ser debidos a la falta de formación de dolicol, intermediario en esta vía de biosíntesis. Para confirmar esta hipótesis, cultivos de *P. falciparum* sincrónicos en el estadio anillo fueron no tratados y tratados con mevastatina, marcados metabólicamente con [1- ^{14}C] acetato de Na, y analizados por HPLC (columna de fase reversa). En los trofozoitos jóvenes y maduros no tratados con mevastatina fue detectado un pico que corresponde a dolicol el cual está siendo caracterizado en relación a sus unidades de isoprenos. La inhibición de la síntesis de dolicol o la competición con éste por análogos como terpenos pueden ser blancos interesantes para la obtención de nuevas drogas antimaláricas, esta hipótesis está siendo estudiada por nuestro grupo de trabajo. Apoyo: FAPESP, CNPq (Brasil) CONICET (Argentina) y Fundación Antorchas (Proyecto binacional)

MR35. Efecto del nifurtimox y del benznidazol sobre el contenido de glutatión y tripanotión en las formas epimastigotas, tripomastigotas y amastigotas del *Trypanosoma cruzi*. ANTONIO MORELLO, YOLANDA REPETTO, LUCY COLOMA, ROWENA TÉLLEZ Y CARLOS GAULE.

Programa de farmacología molecular y clínica. Instituto de Ciencias Biomédicas. Universidad de Chile. Casilla 70086, Santiago 7 Chile. e-mail: amorello@machi.med.uchile.cl.

Aproximadamente 18 millones de personas sufren de la tripanosomiasis americana causada por varias cepas del protozoo *Trypanosoma cruzi*. Las drogas que se han usado para el tratamiento de la Enfermedad de Chagas son el nifurtimox y el benznidazol. Su mecanismo de acción es a través de la formación de radicales libres y metabolitos electrofílicos. En el *T. cruzi*, los tioles libres como el glutatión (GSH), la glutatiónil-espermidina (GSH-SP) y el tripanotión (T(SH)₂), juegan un papel importante en la defensa contra radicales libres en el parásito. Existen grandes diferencias en la resistencia al nifurtimox y benznidazol entre diferentes cepas del *T. cruzi*. El contenido de tioles reducidos en las diferentes formas del parásito fue determinado por derivatización con monobromobimano y posterior separación y cuantificación por HPLC. La concentración de tioles totales en epimastigotas y tripomastigotas del clon Brener, fueron de 1196,0±73,5 y de 892,9±76,8 nmol/g peso fresco, respectivamente. En la cepa LQ fueron de 977,0±90,7 y 999,8±48,0 nmol/g peso fresco respectivamente y en el clon Dm28c fueron de 612±89,5 y 66,1±24,2 nmol/g peso fresco respectivamente. El tiol más abundante fue el tripanotión (62 a 72%). En amastigotas de la cepa MF, los tioles totales fueron de 290,7±36,9 nmol/g peso fresco; en tripomastigotas, de 427,9±69,1 y en epimastigotas, de 889,8±62 nmol/g peso fresco. El nifurtimox (20 mM) y el benznidazol (100 mM) produjeron una disminución de la concentración de tioles libres en más del 80%, siendo el tripanotión el más afectado (>90). Se concluye que la concentración de tioles libres varía de una cepa a otra y de una forma a otra en el *T. cruzi*, siendo el tripanotión, el tiol más abundante y el más afectado por las drogas tripanocidas nifurtimox y benznidazol. Además, la susceptibilidad al nifurtimox y al benznidazol está relacionada con el contenido de tioles libres. La disminución de los tioles reducidos en los parásitos tratados por 2 horas con las drogas no fue por oxidación de los mismos y más bien se debería a la conjugación con GSH y T(SH)₂ de metabolitos electrofílicos producidos por la nitrorreducción de las drogas.

La síntesis del glutatión y por consiguiente del tripanotión es un posible blanco quimioterapéutico en el desarrollo de drogas antichagásicas. Financiado por SIDA-Suecia y Fondecyt 1961095-Chile.

MR36. Knowledge assisted design of potentially active anti-trypanosomal compounds. M. PAULINO¹, F. IRIBARNE¹, M. HANSZ¹, M. VEGA¹, G. SEOANE², H. CERECETTO², R. DI MAIO², I. CARACELLI², J. ZUKERMAN-SCHPECTOR², C. OLEA⁴, A.O.M. STOPPANI⁵, M.A. BASOMBRIÓ⁶, A. H. FAIRLAMB⁷, O. TAPIA^{8*}.

¹Laboratorio de Química Cuántica, Facultad de Química, Universidad de la República. Gral. Flores 2124, 11800 Montevideo-Uruguay. ²Laborato-