

Vol. 4 No. A

# QUIMICA HOY

## Chemistry Sciences

Revista de la Universidad Autónoma de Nuevo León  
a través de la Facultad de Ciencias Químicas

Julio - Septiembre de 2014

ISSN 2007-1183



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

# SIMPOSIO NACIONAL CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOMEDICINA



Revista Química Hoy



@QuimicaHoy



·Visión·  
2020  
UANL

# Identificación de esfingomielinasa en extractos de *Trichomonas vaginalis*

Javier Vargas Villarreal<sup>a\*</sup>, Francisco González Salazar<sup>a</sup>, Jesus Norberto Garza González<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Laboratorio de Bioquímica y Fisiología celular, División de Biología celular, Centro de Investigación Biomedica del Noreste. Instituto Mexicano del Seguro Social. 2 de Abril y San Luis Potosi Col Independencia, Monterrey Nuevo León, México C.P. 64720.

\*E-mail: jvargas147@yahoo.com.mx

**Palabras clave:** *Trichomonas vaginalis*, esfingomielinasa, factores de virulencia.

## 1. Introducción

*Trichomonas vaginalis* es el agente causal de la tricomoniasis, se considera la más frecuente enfermedad de transmisión sexual y es curable, la cual produce una infección en el tracto urogenital tanto en mujeres como en hombres, se asocia en mujeres con un bajo peso de sus bebés al nacer y como cofactor en la transmisión y adquisición del HIV.

## 2. Contenido

*T. vaginalis* infecta anualmente a 170 millones de personas en el mundo. Las esfingomielinasas (EML), las han implicado en importantes procesos fisiológicos y patofisiológicos: digestión y recambio de esfingomielina y a las ceramidas como segundos mensajeros. Se les ha propuesto como un factor de virulencia en otros microorganismos: *Clostridium perfringens*, *Listeria ivanovii* y *Bacillus subtilis*. Debido a lo anterior la búsqueda y caracterización de las EMLs en *T. vaginalis* es un requisito para establecer su papel en el mecanismo patogénico de este parásito. En el presente trabajo se identificó y se caracterizó parcialmente la actividad de EML en el extracto total y fracciones P30 y S30 de *T. vaginalis*, mediante el método de radioensayo, usando una esfingomielinasa marcada con carbono catorce [<sup>14</sup>C]-EML, donde esto aumenta mucho la sensibilidad del método de detección. Como paso inicial, utilizamos la cepa GT-15 de *T. vaginalis* en medio PEHPS, ya que esta cepa es la más virulenta que se conoce. Una vez que obtuvimos los trofozoítos los rompimos con 100 golpes de un homogenizador del tipo Elvehjem-Potter para obtener el extracto total (este método nos garantiza la conservación de las actividades enzimáticas en mejor forma). Una vez obtenida el extracto total, parte de este extracto lo centrifugamos a 30,000 x g y obtuvimos el sobrenadante (S30) y el precipitado (P30). Después utilizamos 2.5 µCi de [N-metil <sup>14</sup>C]-esfingomielina como sustrato en una mezcla de reacción con cada una de las fracciones subcelulares y se incubaron a 37 °C en una cámara húmeda de 0-60 minutos. Separamos los lípidos mediante cromatografía en placa fina y determinamos la radioactividad usando un contador de centelleo líquido. Para discernir el tipo de EML C o D usamos cromatografía en placa fina bi-direccional y determinamos las fracciones radioactivas por autoradiografía. Después utilizamos el sustrato específico el [N-metil <sup>14</sup>C]-esfingomielina, para obtener curvas contra tiempo (0-150 min) y dosis-respuesta. Determinamos el efecto del pH sobre la actividad de

EML. Los pH de 2, 4.5, 5, 5.5, y 6 los ajustamos con ácido acético y los de 7, 7.5, 8, 9 y 10 con Tris-base 2 M. Determinamos las dependencias de la actividad de EML en la presencia de varias concentraciones de cationes: EDTA, calcio, zinc, mercurio, magnesio, manganeso y cobalto. *T. vaginalis* presenta un tiempo de duplicación de 3.45 h y de generación 5.05 h a 40 h de incubación. Hemos identificado y caracterizado (por primera vez) actividad de esfingomielinasa (EML) en extractos totales de *T. vaginalis*, donde en la fracción particulada P30 se encuentra esta actividad en su totalidad. Usando cromatografía en placa fina, bi-direccional determinamos que esta actividad pertenece al tipo C y es dependiente de tiempo y la dosis, alcanzando a 150 min 22.8 U/mg/h con 400 µg. Esta actividad presenta dos picos de actividad a pH's de 5.5 y 7.5 (máxima actividad). Cuando usamos diferentes cofactores encontramos que con Manganeso la actividad se incrementó 1.97 veces. La caracterización fisicoquímica es un requisito para intentar su purificación a homogeneidad y determinar así su posible contribución como factor de virulencia.