

CARACTERIZACIÓN Y CLONADO DE UNA TIORREDOXINA REDUCTASA DE *Fasciola hepatica*

Maggioli, G., Piacenza, L., Martín-Alonso, J.M.², Parra, F.² y Carmona, C.

Unidad de Biología Parasitaria, Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias, Instituto de Higiene, Montevideo, Uruguay, E-mail: maggioli@higiene.edu.uy

² Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Instituto Universitario de Biotecnología de Asturias, Universidad de Oviedo, Oviedo, España.

El sistema tiorredoxina (tiorredoxina reductasa (TrxR), tiorredoxina (Trx), tiorredoxina peroxidasa (TrxP)) ha demostrado ser un mecanismo antioxidante de gran importancia en helmintos parásitos. A partir de una librería de expresión de cDNA de adultos de *Fasciola hepatica*, utilizando suero de conejo hiperinmune producido contra la tiorredoxina reductasa nativa previamente purificada, se aisló un clon de cDNA que contiene una lectura abierta de 1797pb que codifica una tiorredoxina reductasa. La secuencia nucleotídica del clon revela que la enzima es una proteína de fusión inusual de una piridina nucleótido disulfuro oxidoreductasa con un dominio glutaredoxina en el extremo N-terminal. Utilizando una columna de afinidad en GSH-sefarosa se demuestra que la enzima nativa posee afinidad por el glutatión. Además se observa que es una selenoenzima tal como se postulara, a partir de la inhibición por sales de oro de la enzima nativa. Por medio de la técnica de inmunofluorescencia, la enzima fue localizada en células del parénquima y testículos del parásito. Por otro lado, se demostró usando IgGs purificadas de suero hiperinmune producido contra la TrxR, que la respuesta humoral es capaz de inhibir hasta un 80% de la actividad enzimática. La presencia de una tiorredoxina reductasa junto a otros estudios en los cuales se ha identificado los otros dos componentes del sistema, sostienen la hipótesis de que *F. hepatica* presenta un sistema tiorredoxina funcional, que podría participar en la interacción con su hospedero.