

**Título:** A Trans-sialidase do *Trypanosoma cruzi* como ligante para células do hospedeiro vertebrado  
**Autor:** Neuza M. Alcântara-Neves  
**Co-autores:** Samuel J. da Silva Neto e Lain C. Pontes de Carvalho,  
**Instituições:** CPqGM - FIOCRUZ; ICS-UFBA

.....

**RESUMO DO TRABALHO:** (Introdução) Uma das formas infectantes do *Trypanosoma cruzi*, o tripomastigota sanguícola, expressa em sua superfície uma trans-sialidase (TS) que catalisa a transferência de  $\alpha(2-3)$ -ácido siálico de glicocjugados da membrana das células do hospedeiro para uma glicoproteína da superfície do parasita (Ssp3), criando um epitopo que participa da adesão e penetração do parasito nas células. Supõe-se que a TS possa também agir como ligante para receptores celulares baseado nos seguintes achados: a TS está na superfície do parasito, é oligomérica, tem afinidade pelo ácido siálico e o excesso da mesma inibe a infecção de células pelo parasito. Este trabalho tem como objetivo estudar o possível papel da TS como ligante do parasito para receptores da membrana celular do hospedeiro. (Metodologia) Fibroblastos de rato (células L6) foram cultivados *in vitro*, fixados com paraformaldeído e incubados com sobrenadantes de *T. cruzi* de diversas cepas, obtidos a partir de cultivo em células LLC-MK<sub>2</sub>. A detecção de TS foi realizada através de ensaio enzimático, baseado na transferência de resíduos de ácido siálico para lactose marcada com <sup>14</sup>C. Foi também realizado Western blot com anticorpo monoclonal anti-TS e SDS-PAGE seguido de coloração pela prata de um preparado de TS, após 10 ciclos de incubação do mesmo em células L6. A ligação foi também estudada *in vivo*, em tecido cardíaco de camundongo infectado com TC da cepa colombiana, e observada através de técnica imunohistoquímica. (Resultados) Houve ligação da TS em poços com células, o que não ocorreu em poços sem células. Entretanto apenas uma pequena percentagem (menor que 0.01%) da enzima se ligou, e, somente a TS de parasitos cultivados por 24 horas com albumina sérica bovina substituindo o soro fetal bovino (SBF). A ligação não foi inibida pelo tratamento das células com sialidase ou pela incubação com sialil-lactose. A incubação de células L6 com TS de sobrenadantes de RPMI/SBF não diminuiu a intensidade da coloração da TS pela prata em géis de SDS-PAGE. Foi observada ligação *in vivo*, a qual diminuiu consideravelmente quando o tecido era previamente submetido a lavagens. (Conclusão) A pequena percentagem de TS que se ligou a células, apenas quando esta provinha de cultivo em RPMI/albumina sérica bovina, sugere que apenas uma pequena fração das moléculas de TS é capaz de ligar-se. Esta ligação não é mediada por resíduos de ácido siálico. A liberação de TS hidrofóbica resultante de sofrimento celular poderia explicar este achado. Os ensaios *in vivo* demonstram o enfraquecimento da ligação após as lavagens indicando a baixa afinidade da mesma. Estamos no momento investigando a hipótese acima enunciada.