



Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

ISSN: 0325-2957

ISSN: 1851-6114

actabioq@fbpba.org.ar

Federación Bioquímica de la Provincia de Buenos Aires
Argentina

Ponce de León, Patricia; López Murúa, Gabriel
Alteración del ácido siálico eritrocitario por efecto de
Trichinella spiralis aplicando el método de Azul Alcian*
Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana, vol. 52, núm. 4, 2018, pp. 411-416
Federación Bioquímica de la Provincia de Buenos Aires
Buenos Aires, Argentina

Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=53568431003>

- ▶ Cómo citar el artículo
- ▶ Número completo
- ▶ Más información del artículo
- ▶ Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica Redalyc

Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal
Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso
abierto

Alteración del ácido siálico eritrocitario por efecto de *Trichinella spiralis* aplicando el método de Azul Alcian*

Alteration of erythrocyte sialic acid by the effect of Trichinella spiralis applying the Alcian Blue method

Alteração do ácido siálico eritrocitário por efeito da Trichinella spiralis aplicando o método de Alcian Blue

► Patricia Ponce de León¹, Gabriel López Murúa²

¹ Doctora en Ciencias Biomédicas.

² Bioquímico.

* Área Parasitología, Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas. Universidad Nacional de Rosario. Argentina.

Resumen

Actualmente se reconoce que los ácidos siálicos están involucrados en múltiples funciones biológicas y que tienen un papel importante en la interacción parásito-hospedador. El objetivo del trabajo fue estudiar la alteración del ácido siálico eritrocitario por efecto de *T. spiralis* aplicando el método de Azul Alcian. Se trabajó con 11 concentrados de larvas musculares de *T. spiralis* (LM) y 9 de larvas recién nacidas de *T. spiralis* (LRN) (total: 20) y con suspensiones de eritrocitos frescos. Se realizó el tratamiento incubando el sedimento globular con igual volumen de concentrado larval (37 °C durante 1 hora). Los controles fueron incubados de la misma forma con solución salina. Se aplicó el método de Azul Alcian y se determinó CAE% en el control y en los glóbulos tratados. Se calculó CexpCAE. Los resultados mostraron que 5/9 de los concentrados de LRN y 9/11 de LM modificaron la carga globular. La media y la desviación estándar de los CexpCAE de las suspensiones en que la carga disminuyó por contacto con LRN y LM, fueron $0,614 \pm 0,1946$ y $0,656 \pm 0,1865$ respectivamente, mientras que en las que no se modificó resultó $0,955 \pm 0,0289$ en el tratamiento con LRN y $0,93 \pm 0,0141$ con LM. Se concluye que el Método de Azul Alcian es útil para estudiar las variaciones en la carga eritrocitaria por efecto de LRN y LM de *T. spiralis*.

Palabras clave: *Trichinella spiralis* * ácido siálico * método de Azul Alcian

Abstract

It is now recognized that sialic acids are involved in multiple biological functions and that they have an important role in the parasite-host interaction. The objective of this work was to study the alteration of erythrocyte sialic acid by the effect of T. spiralis applying the Alcian Blue method. Work was carried out with 11 larval concentrates of ML and 9 of NL (total 20) and with fresh erythrocyte suspensions. The treatment was performed incubating the globular sediment with equal volume of larval concentrate

Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

Incorporada al Chemical Abstract Service.

Código bibliográfico: ABCLDL.

ISSN 0325-2957 (impresa)

ISSN 1851-6114 (en línea)

ISSN 1852-396X (CD-ROM)

(37 °C for 1 hour). The controls were incubated in the same way with saline solution. The Alcian Blue method was applied and CAE% was determined in the control and in the treated globules. CexpCAE was calculated. The results showed that 5/9 of the NL concentrates and 9/11 of ML modified the globular charge. The mean and standard deviation of the CexpCAE of the suspensions in which the charge decreased by contact with NL and ML were 0.614 ± 0.1946 and 0.656 ± 0.1865 respectively, whereas in those that did not change, it was 0.955 ± 0.0289 in the NL treatment and 0.93 ± 0.0141 in the ML. It is concluded that the Alcian Blue Method is useful to study the variations in erythrocyte charge due to NL and ML of *T. spiralis*.

Keywords: *Trichinella spiralis* * sialic acid * Alcian Blue Method

Resumo

Atualmente se reconhece que os ácidos siálicos estão envolvidos em múltiplas funções biológicas e que têm um papel importante na interação parasita-hospedeiro. O objetivo do trabalho foi estudar a alteração do ácido siálico eritrocitário por efeito de *T. spiralis* aplicando o método do Alcian Blue. Trabalhou-se com 11 concentrados de larvas musculares de *T. spiralis* (LM) e 9 de larvas recém-nascidas de *T. Spiralis* (LRN) (total: 20) e com suspensões de eritrócitos frescos. Realizou-se o tratamento incubando o sedimento globular com igual volume de concentrado larval (37 °C durante 1 hora). Os controles foram incubados da mesma forma com solução salina. Aplicou-se o método de Azul Alcian e determinou-se CAE% no controle e nos glóbulos tratados. Calculou-se CexpCAE. Os resultados mostraram que 5/9 dos concentrados de LRN e 9/11 de LM modificaram o carga globular. A média e o desvio padrão dos CexpCAE das suspensões em que a carga diminuiu por contato com LRN e LM, foram $0,614 \pm 0,1946$ e $0,656 \pm 0,1865$ respectivamente, enquanto que naquelas onde não se modificou, resultou $0,955 \pm 0,0289$ no tratamento com LRN e $0,93 \pm 0,0141$ com LM. Conclui-se que o método de Alcian Blue é útil para estudar as variações na carga eritrocitária por LRN e LM de *T. spiralis*.

Palavras-chave: *Trichinella spiralis* * ácido siálico * método de Azul Alcian

Introducción

El ácido siálico es un monosacárido excepcional, resultante de la condensación de una molécula de ácido pirúvico con otra de manosamina, que posee mayor número de átomos de carbono que todos los otros monosacáridos. Se reconoce la existencia de más de 50 estructuras de ácidos siálicos y no sólo se están identificando nuevos, sino que además se está profundizando en el estudio de sus funciones biológicas, entre las cuales se encuentran las debidas a su carga negativa, a su influencia sobre la estructura de macromoléculas y sobre la especificidad de antígenos, a su papel protector frente a ataques enzimáticos, a la característica de tener sitios de reconocimiento y a la vez efecto de enmascaramiento (1). Por lo tanto, puede deducirse que algunas funciones de los glucoconjugados están determinadas, al menos parcialmente, por la participación de los ácidos siálicos en su composición. Actualmente se reconoce que los ácidos siálicos presentes en glucoproteínas y glucolípidos están involucrados en funciones biológicas tales como procesos de reconocimiento celular, vida media de células y proteínas plasmáticas, modulación del sistema inmune y apoptosis. También son ligandos de moléculas de adhesión, por ejemplo, selectinas o sialoadhesinas, mediando adhesión celular o transducción de señales (2). Se considera que tendrían un papel im-

portante en la interacción parásito-hospedador, pues a pesar de que los mecanismos celulares de muchos procesos infecciosos no se conocen con exactitud, se ha comunicado que involucrarían a los glucoconjugados de superficie de ambos (3).

En experiencias previas, aplicando el método de Polibrene, se ha comunicado que el contacto de los eritrocitos con las larvas recién nacidas y las larvas musculares de *Trichinella spiralis* produce la disminución de la carga eritrocitaria (4-9).

El único método directo de cuantificación de ácido siálico en el eritrocito, es su medición en la membrana. Debido a que la implementación de esta técnica no es accesible a todos los laboratorios, surgieron varios métodos que permiten estudiar de manera indirecta la carga y el contenido de ácido siálico superficial del glóbulo rojo. Uno de ellos, que ha sido empleado con buenos resultados para estimar la carga aniónica del eritrocito, es el que utiliza el colorante catiónico Azul Alcian (10) (11). Se ha comunicado que este método espectrofotométrico y el que utiliza el polímero sintético Polibrene tienen sensibilidades comparables para evaluar las modificaciones en la carga del glóbulo rojo (12).

El objetivo de este trabajo fue estudiar la alteración del ácido siálico eritrocitario por efecto de *Trichinella spiralis* aplicando el método de Azul Alcian.

Materiales y Métodos

MUESTRAS

Se trabajó con 20 concentrados larvales de *T. spiralis* (11 de larvas musculares y 9 de larvas recién nacidas)

Larvas musculares de *T. Spiralis* (LM)

T. spiralis fue donada por el Laboratorio de Zoonosis, Laboratorio Central de la Red Provincial de Laboratorios, Dirección de Bioquímica y Farmacia (Santa Fe, Argentina) la cual se mantiene por pasaje en ratones CBI desde 2006. Esta cepa fue tipificada utilizando PCR múltiple (Departamento de Parasitología, Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud "Dr. Carlos Malbrán", Buenos Aires, Argentina).

Las larvas infectivas L1 utilizadas se obtuvieron por digestión artificial con pepsina y ácido clorhídrico de la masa muscular de ratones infectados de la colonia CBI-IGE del Instituto de Genética Experimental de la Facultad de Ciencias Médicas UNR.

Las larvas se recogieron en formol 10%, se lavaron 3 veces en solución fisiológica y se contaron microscópicamente por duplicado a los fines de preparar concentrados larvales, con una cantidad aproximada de 1000 ± 200 larvas/mL (13).

Larvas recién nacidas de *T. spiralis* (LRN)

Se utilizaron ratones CBI infectados con *T. spiralis* provistos por el Bioterio del Instituto de Genética Experimental de la Facultad de Ciencias Médicas (UNR). Entre los 6 y 13 días post-infección, se obtuvieron hembras grávidas del intestino delgado de los ratones por cirugía, las cuales fueron incubadas en 100 μ L de medio RPMI suplementado al 10% con suero fetal bovino y 250 μ g/mL de gentamicina durante 18 horas a 37 °C en atmósfera de 5% de CO₂. Las LRN fueron separadas de las hembras adultas y recolectadas en solución fisiológica con formol. A las 24 horas se prepararon concentrados de LRN no viables, para lo cual se lavaron las larvas 3 veces por centrifugación en solución salina y se realizaron los recuentos, por duplicado, en microscopio óptico (1000 ± 200 LRN/mL) (13).

Este trabajo se realizó bajo las normas de bioseguridad adecuadas en el bioterio y laboratorio, con la aprobación del Comité de Bioética de las Facultades de Ciencias Médicas y de Bioquímica (UNR) para el procesamiento de muestras y manejo de los animales de experimentación. Los protocolos para la obtención de LRN y LM son utilizados en líneas de investigación de ambas Facultades, los cuales fueron aprobados por los Comités de Bioética de las dos instituciones.

Glóbulos rojos en medio salino (GR): Se trabajó con suspensiones de eritrocitos humanos frescos, provenientes

de dadores sanos voluntarios, obtenidos de muestras con anticoagulante y lavados 3 veces en solución salina.

MÉTODOS

Tratamiento de los eritrocitos

El tratamiento consistió en incubar 30 μ L del sedimento globular con igual volumen del concentrado larval (LM o LRN), durante 1 hora en baño termostático a 37 °C. Los eritrocitos control, fueron incubados de la misma manera con igual volumen de solución fisiológica. Al término de la incubación, los glóbulos tratados y control se lavaron 3 veces en solución fisiológica y se prepararon los tubos de medición para el método de Azul Alcian.

Método espectrofotométrico de Azul Alcian

Es una técnica espectrofotométrica que se fundamenta en la unión del colorante catiónico Azul Alcian con el ácido siálico (14).

La absorbancia del blanco de Azul Alcian corresponde a 100%. La absorbancia medida en el sobrenadante del tubo en el que se coloca la muestra de eritrocitos, corresponde al colorante que no se ha unido a los glóbulos. La medición de absorbancia del Azul Alcian que permanece libre es referida a la del blanco para calcular el porcentaje que representa. Por diferencia con el 100%, se determina el porcentaje de colorante unido al ácido siálico de la muestra, que se denomina CAE% (carga aniónica eritrocitaria porcentual). Debido a que el colorante se disuelve en alcohol y produce hemólisis globular, se debe preparar un blanco de hemólisis cuyo valor de absorbancia se resta al de la muestra con eritrocitos.

El método se aplicó simultáneamente en eritrocitos no tratados (control) y en los mismos eritrocitos tratados con los concentrados larvales.

Tubos de medición:

- Tubo blanco (B): 2 mL de Azul Alcian.
- Tubo blanco de hemólisis (BH): 2 mL de alcohol etílico + 10 μ L de sedimento globular.
- Tubo de muestra eritrocitos control/eritrocitos tratados (GR_C/ GR_T): 2 mL de Azul Alcian + 10 μ L de sedimento globular.

Todos los tubos se incubaron en baño termostático a 37 °C durante 30 min, se centrifugaron a 1500 rpm durante 10 min y se efectuó la medición de la absorbancia del sobrenadante, por duplicado, en espectrofotómetro a 650 nm. Se calcularon los valores de CAE%.

Cálculo CAE %

$$\frac{\% \text{ de Azul Alcian en el sobrenadante} = (\text{Absorbancia GR}_C / \text{GR}_T - \text{Absorbancia BH}) \times 100}{\text{Absorbancia de B}}$$

$$\text{CAE \%} = 100 - \frac{\% \text{ de Azul Alcian en el sobrenadante} = (\text{Absorbancia GR}_C / \text{GR}_T - \text{Absorbancia BH}) \times 100}{\text{Absorbancia de B}}$$

Se determinó el coeficiente experimental de carga aniónica eritrocitaria (*CexpCAE*), definido como el cociente entre *CAE %* final y *CAE %* inicial (12).

$$CexpCAE = \frac{CAE \% \text{ GR}_T \text{ (final)}}{CAE \% \text{ GR}_C \text{ (inicial)}}$$

Reactivos

- Solución de Azul Alcian: en el momento de uso se disuelven 6,25 mg de colorante en 25 mL de alcohol etílico (99,5%). Se coloca en baño a 37 °C durante 30 min y luego se centrifuga (5 min a 1500-2000 rpm). Se separa el sobrenadante que es utilizado para preparar los tubos de medición.
- Alcohol etílico 99,5%.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se calculó con las 2 mediciones de *CAE %* de cada uno de los eritrocitos tratados y del correspondiente control, el valor de la media y de la desviación estándar. Luego se relacionaron para establecer si los valores incluidos en el rango de dispersión de *CAE %* de los glóbulos tratados también estaban en el rango de dispersión de *CAE %* del control respectivo. Con estos datos se determinó cuál era el valor mínimo de *CexpCAE* que indicaba que se había producido alteración de carga eritrocitaria con el tratamiento (15).

Resultados

Teniendo en cuenta para las mediciones de *CAE %* de cada uno de los eritrocitos tratados, el valor de la media y la desviación estándar en relación con el valor obtenido en el correspondiente control, se consideró que cuando *CexpCAE* era menor o igual que 0,88, los eritrocitos alteraron su carga aniónica durante el tratamiento con el concentrado larval, lo que representó una variación entre el *CAE %* inicial y final $\geq 1,5\%$.

Los resultados mostraron que 5 de los 9 concentrados de LRN (55,56%) y 9 de los 11 de LM (81,82%), modificaron la carga de los glóbulos rojos. No se detectó cambio significativo en el tratamiento con los 6 concentrados larvales restantes.

La media y la desviación estándar de los *CexpCAE* correspondientes a las suspensiones globulares en las que se consideró que la carga había disminuido por contacto con LRN y LM, fueron 0,614±0,1946 y 0,656±0,1865 respectivamente, mientras que en las que no se modificó resultó 0,955±0,0289 en el tratamiento con LRN y 0,93±0,0141 con LM.

La diferencia de *CAE %* entre los GR tratados y los correspondientes controles ($\Delta_{CAE\%}$) varió entre 1,5 y 12,97% en los eritrocitos que disminuyeron su carga por el tratamiento, siendo menor o igual al 0,82% en los glóbulos que no presentaron una disminución significativa de carga por efecto del contacto con los concentrados larvales (Tabla I).

Discusión y Conclusiones

Los ácidos siálicos pertenecen a una familia de azúcares que se localizan en las posiciones terminales de una gran variedad de glucoconjugados. Naturalmente muestran una inmensa diversidad de estructuras que reflejan su participación en importantes procesos bio-

Tabla I. Valores del *CexpCAE* y de $\Delta_{CAE\%}$

GR TRATADOS CON LRN				GR TRATADOS CON LM			
Con modificación de carga aniónica		Sin modificación de carga aniónica		Con modificación de carga aniónica		Sin modificación de carga aniónica	
<i>CexpCAE</i>	$\Delta_{CAE\%}$	<i>CexpCAE</i>	$\Delta_{CAE\%}$	<i>CexpCAE</i>	$\Delta_{CAE\%}$	<i>CexpCAE</i>	$\Delta_{CAE\%}$
0,52	3,72	0,95	0,41	0,88	3,16	0,94	0,38
0,46	5,06	0,92	0,62	0,66	9,87	0,92	0,82
0,45	4,55	0,96	0,31	0,82	5,99		
0,88	1,5	0,99	0,27	0,51	12,97		
0,76	2,02			0,37	12,25		
				0,78	2,92		
				0,43	8,23		
				0,83	1,97		
				0,62	6,10		

lógicos de crecimiento y desarrollo, tanto normal como patológico (16).

Los trabajos del profesor Roland Schauer han puesto de manifiesto que los ácidos siálicos presentan importantes funciones biológicas, muchas de las cuales determinan su participación en la respuesta inmune (17)(18).

El ciclo biológico de *T. spiralis* incluye la migración de las larvas recién nacidas por el torrente circulatorio, hasta su enquistamiento en la célula muscular (19). Las LRN establecen un contacto íntimo con los eritrocitos del hospedador durante su trayecto por sangre, hasta su ingreso en el miocito. El miocito se desarrolla como "célula nodriza", una estructura funcional rica en residuos sializados, y diferente de cualquier otra célula de mamíferos, la cual evidencia un alto grado de angiogénesis. El complejo larva-célula nodriza coopera en la obtención de nutrientes, en la exportación de desechos y en aislar a la larva de la respuesta inmune del hospedador, dando como resultado la viabilidad del parásito durante años, salvo que sufra calcificación (20).

Los resultados obtenidos con la aplicación del Método de Azul Alcian, en concordancia con el Método de Polibrene utilizado en experiencias previas (4-9), mostraron que los estadios larvales de *T. spiralis* son capaces de captar ácido siálico del eritrocito.

Si bien la captación del ácido siálico por las LRN de este helminto produce alteraciones hemorreológicas y hemodinámicas en el hospedador (21), también el secuestro de este glucoconjugado eritrocitario por las LRN y las LM, permitiría especular que ambos estadios larvales podrían obtenerlo a partir de otros glucoconjugados que posean residuos sializados, tal como fuera comunicado para *Trypanosoma cruzi* (22) (23.). El ácido siálico inhibe la vía alternativa del complemento y los tripanosomas, que no pueden obtenerlo *de novo*, lo secuestran del hospedador porque les confiere resistencia al ataque por proteínas del complemento y por anticuerpos citolíticos. Debido a las variadas funciones del ácido siálico, posiblemente *T. spiralis* lo utilice también como una manera de evadir la respuesta inmune o bien en alguna etapa de su metabolismo, como ha sido descrito en *Entamoeba histolytica* y *Entamoeba invadens* (24).

El método espectrofotométrico de Azul Alcian, de sensibilidad comparable con el de Polibrene (12), permitió detectar pequeñas variaciones de carga eritrocitaria debido al contacto de los glóbulos con las larvas. Esta metodología fue utilizada en experiencias previas para el estudio de la captación de ácido siálico por larvas y extractos de *Ascaris lumbricoides* (12) (25) (26).

Al calcular los valores de la media y la desviación estándar de CAE% de los GR_T en relación a los mismos valores del correspondiente control, se consideró que cuando *CexpCAE* era menor o igual a 0,88, los eritrocitos alteraban su carga aniónica por el tratamiento, correlacionándose con los resultados de comunicaciones previas, donde se determinó que dicho valor era $\leq 0,85$ (12).

La experiencia realizada permite concluir que el Método espectrofotométrico de Azul Alcian es simple y de utilidad para el estudio de las variaciones en la carga aniónica eritrocitaria por efecto de LRN y LM de *T. spiralis*.

CORRESPONDENCIA

Dra. PATRICIA PONCE DE LEÓN
Área Parasitología, Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas
Universidad Nacional de Rosario.
Suipacha 531
2000 ROSARIO, Argentina
E-mail: tefu1958@hotmail.com

Referencias bibliográficas

1. Cabezas JA. Acides sialiques: Leur Signification Biochimique. Le Pharm Biol 1961; 2: 9-19.
2. Todeschini AR, Almeida E, Agrellos OA, Jones C, Previato JO, Mendonça-Previato L. α -N-acetylglucosamine-linked O-glycans of sialoglycoproteins (Tc-mucins) from *Trypanosoma cruzi* Colombian strain. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 2009; 104 (Suppl. 1): 270-4.
3. Buscaglia C. Trans-sialidasa de *Trypanosoma cruzi*: un blanco potencial para el tratamiento de la enfermedad de Chagas. Rev Hosp Mat Inf Ramón Sardá 2002; 21 (1): 24-7.
4. López Murúa G, Racca L, Ponce de León P. Estudio de la cinética de captación de ácido siálico por larvas musculares de *Trichinella spiralis*. Acta Bioquím Clín Latinoam 2015; 49 (2): 267-72.
5. Ponce de León P, López Murúa G, Racca L. Estudio del efecto de *Trichinella spiralis* sobre la desialización aplicando el Método de Polibrene. Acta Bioquím Clín Latinoam 2015; 49 (3): 347-52.
6. Ponce de León P, Fernandez A, Racca L, Vasconi MD. Alteración de la agregación eritrocitaria por larvas recién nacidas de *Trichinella spiralis*. Acta Bioquím Clín Latinoam 2015; 49 (4): 417-23.
7. Ponce de León P, López Murúa G. Captación de ácido siálico por larvas musculares de *Trichinella spiralis* durante incubación *in vitro*. Acta Bioquím Clín Latinoam 2016; 50 (4): 687-91.
8. Ponce de León P, Pintagro E, López Murúa G, Racca L. Estudio de la desialización producida por larvas musculares de *Trichinella spiralis*. Rev Soc Ven Microbiol 2016; 36: 29-34
9. Ponce de León P, López Murúa G. Cinética de desialización eritrocitaria producida por larvas musculares vivas de *Trichinella spiralis*. Acta Bioquím Clín Latinoam 2017; 51 (2): 237-42.
10. Lebensohn N, Re A, Filippini F, Carrera L, D'Ottavio A, Valverde J, et al. Impacto hemorreológico de la carga aniónica eritrocitaria en vasculopatías. Medicina 2007; 67 (Supl. 3): 94.

11. Lebensohn N, Re A, Carrera L, Barberena L, D'Arrigo M, Foresto P. Acido siálico sérico, carga aniónica y agregación eritrocitaria en pacientes diabéticos e hipertensos. *Medicina* 2009; 69: 331-4.
12. Ponce de León P, Di Vita S, Racca L, Biondi C, Valverde J. Extractos de *Ascaris lumbricoides*: alteración de la carga eritrocitaria utilizando el Método de Azul Alcian. *Rev Cuba Med Trop* 2011; 63 (3): 263-7.
13. Luebke RW. Nematodes as host resistance models for detection of immunotoxicity. *Methods* 2007; 41 (1): 38-47.
14. Oguzhan D, Dilek Y, Ayliz V, Hasan C, Nihal A, Goncagül H, *et al.* Effects of ACE Inhibition and Angiotensin II receptor blockade on glomerular basement membrane protein excretion and charge selectivity in Type 2 diabetic patients. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst* 2006; 7: 98-103.
15. Wackerly D, Mendenhall W, Scheaffer R. Estadística matemática con aplicaciones. 7ª ed. México: Thomson Learning; 2010.
16. Lehmann F, Tiralongo E, Tiralongo J. Sialic acid-specific lectins: occurrence, specificity and function. *Cell Mol Life Sci* 2006; 63: 1331-54.
17. Cabezas Fernández del Campo JA. Influencia de la sialilación y de la "pegilación" de la molécula de ciertos medicamentos en su actividad. *An R Acad Nac Farm* 2008; 74: 409-32.
18. Cabezas Fernández del Campo JA. El ácido siálico N-glicolilneuramínico: Su relación con la biodiversidad y con procesos inmunitarios e infecciosos. *An R Acad Nac Farm* 2011; 1-15.
19. Atías A. *Parasitología Médica*, 3ª ed. Santiago (Chile): Ed. Publicaciones Técnicas Mediterráneo Ltd; 1999.
20. Chávez Guajardo EG, Saldivar Elías S, Muñoz Escobedo JJ, Moreno García. Trichinellosis una zoonosis vigente. *REDVET* 2006; 7 (5). Disponible en: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n060606/060601.pdf> (Fecha de acceso: 1 de junio de 2018).
21. Ponce de León P, Toderi M, Castellini H, Riquelme B. *In vitro* alterations of erythrocyte aggregation by action of *Trichinella spiralis* newborn larvae. *Clin Hemorheol Microcirc* 2017; 65: 195-204
22. Buscaglia C. Trans-sialidasa de *Trypanosoma cruzi*: un blanco potencial para el tratamiento de la enfermedad de Chagas. *Rev Hosp Mat Inf Ramón Sardá* 2002; 21: 24-7.
23. Souto Padron T. The surface charge of trypanosomatids. *An Acad Bras Ciênc* 2002; 74: 649-75.
24. Chayen A, Avron B, Nuchamowitz Y, Mirelman D. Appearance of sialoglycoproteins in encysting cells of *Entamoeba histolytica*. *Infect Immunol* 1988; 56: 673-81.
25. Ponce de León P, Di Vita S, Biondi C, Valverde J. Captación de ácido siálico por larvas de *Ascaris lumbricoides* durante incubación *in vivo*. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2011; 45 (3): 455-61.
26. Ponce de León P, Racca L, Menendez M, Biondi C, Valverde J. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2012; 46 (2): 247-56.

Recibido: 4 de junio de 2018
Aceptado: 26 de julio de 2018