

PROTEÍNAS FOSFATASAS DE PARÁSITOS: MÁS ALLÁ DE UNA FUNCIÓN*

Jenny Gómez Sandoval¹, Patricia Talamás Rohana², Magdalena Aguirre García¹

¹Departamento de Medicina Experimental, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, D.F., México. ²Departamento de Infectómica y Patogénesis Molecular, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN, Ciudad de México, D.F., México. Autor de correspondencia correo E: maguirre@unam.mx

RESUMEN

Las proteínas fosfatasa son enzimas que desfosforilan proteínas en residuos de tirosina y serina/treonina y están implicadas en diversos procesos celulares, cuyas funciones han sido mejor caracterizadas en células eucariontes. Sin embargo, en las últimas dos décadas se han identificado y caracterizado estas enzimas en microorganismos infecciosos como los parásitos. Se ha observado que algunas proteínas fosfatasa de parásitos pueden presentar funciones similares a las de algunas células eucariontes, mientras que otras fosfatasa presentan características estructurales y/o funcionales únicas, lo que las hace candidatas para el desarrollo de drogas o como marcadores de diagnóstico. En este escrito se engloba el conocimiento generado a la fecha, acerca de la función de estas enzimas en parásitos de importancia médica y veterinaria.

PALABRAS

CLAVE:

Proteína fosfatasa, parásito, patógeno.

ABSTRACT

Protein phosphatases are enzymes that dephosphorylate proteins in tyrosine and serine/threonine residues, and are involved in various cellular processes, whose functions have been best characterized in eukaryotic cells. However, in the last two decades these enzymes have been identified and characterized in infectious microorganisms such as parasites. It has been found that certain parasite phosphatases maintain conserved functions similar to those of higher eukaryotes, whereas other phosphatases have unique structural and/or functional characteristics, which make them candidates for drug development or as diagnostic markers. This paper encompasses the knowledge generated to date, about the role of these enzymes in parasites of medical and veterinary importance.

KEY WORDS:

Protein phosphatase, parasite, pathogen.

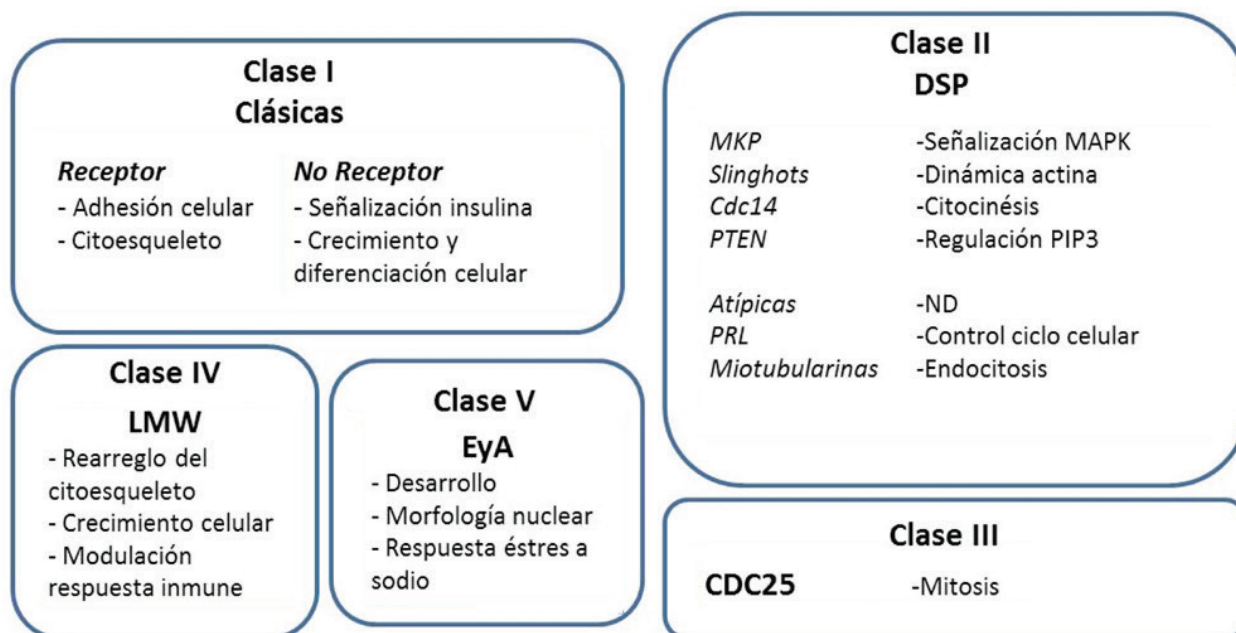
1. PROTEÍNAS FOSFATASAS EN CÉLULAS EUCARIONTES

La fosforilación reversible de proteínas es un proceso importante en la regulación de varias funciones celulares. Este proceso es regulado por la acción opuesta de las proteínas cinasas y de las proteínas fosfatasa que catalizan respectivamente la adición o eliminación de un grupo fosfato en algún residuo de aminoácido, principalmente de serina, treonina o tirosina (1).

Las proteínas fosfatasa se clasifican con base en su dominio catalítico y al residuo que desfos-

forilan en: Proteínas tirosina fosfatasa (PTP) y proteínas serina/treonina fosfatasa (PSTP) (1). Las PTP comprenden cinco clases que incluyen las PTP clásicas, las PTP de especificidad dual (DSP), las PTP Cdc25, las PTP de bajo peso molecular (PTPs-LMW) y las PTP EyA basadas en Aspartato (1). Las PSTP se clasifican en 3 familias: las fosfo-proteínas fosfatasa (PPP), que agrupa a las proteínas fosfatasa PP1, PP2A, PP2B (PP3 o calcineurina), PP4, PP5, PP6, PP7 y las PPP tipo bacteria, por ejemplo las fosfatasa Shelpths (2). El segundo grupo corresponde a las proteínas fosfatasa dependientes de metal (PPM) cuyo re-

A) Proteínas Tirosina Fosfatasa



B) Proteínas Serina/Treonina Fosfatasa

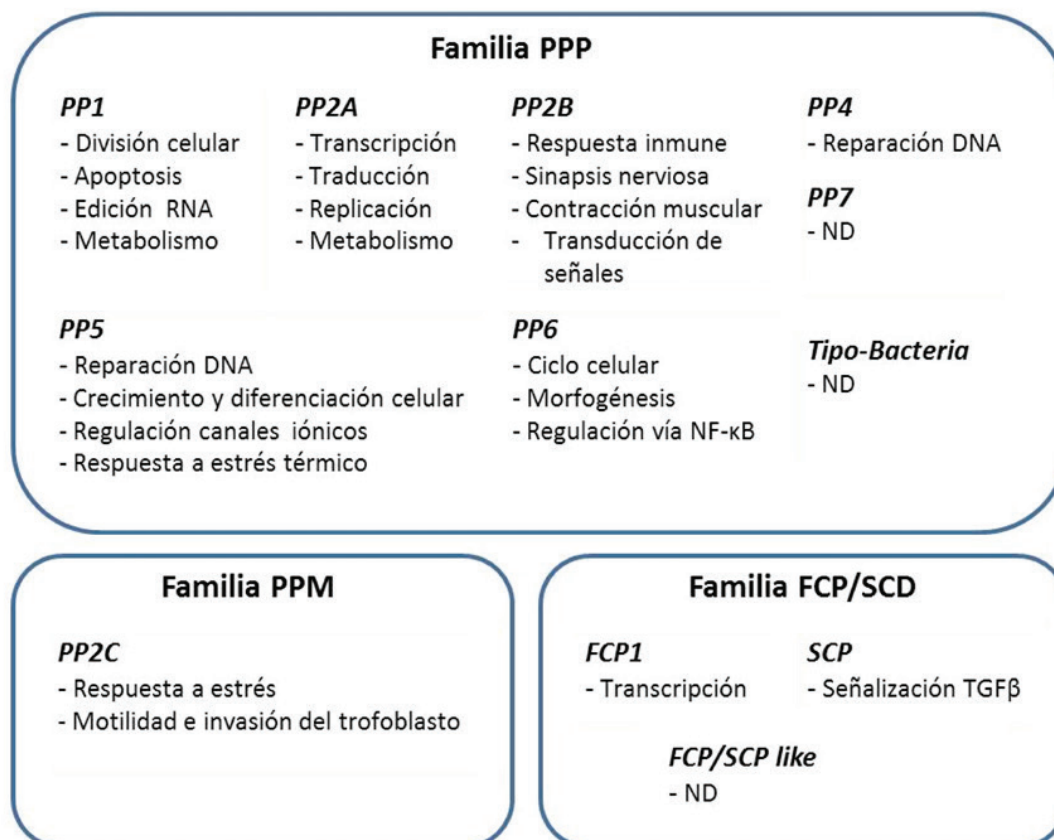


Figura 1. Clasificación y función de proteínas fosfatasa en células eucariontes. ND: No determinado, DSP: Fosfatasa de especificidad dual, LMW: Fosfatasa de bajo peso molecular, EyA: Basadas en Aspartato, FCP/SCP: fosfatasa del dominio carboxilo-terminal (CTD) del componente TFIIF asociado a la RNA polimerasa II. (Modificado de referencia 1).

presentante es la proteína PP2C. La última familia incluye las fosfatasa FCP/SCP (fosfatasa del dominio carboxilo-terminal (CTD) del componente TFIIF asociado a la RNA polimerasa II/ pequeñas fosfatasa del CTD) (1). Algunas de las funciones descritas de estas enzimas en mamíferos, levaduras y plantas se muestran en la figura 1.

2. FUNCIONES DE LAS PROTEÍNAS FOSFATASAS DE PARÁSITOS

El conocimiento de la presencia y la función de las proteínas fosfatasa en células eucariontes, principalmente en las células de mamíferos, ha facilitado el estudio de estas enzimas en los parásitos protozoarios como: Tripanosomátidos (*Trypanosoma cruzi*, *Trypanosoma brucei*, *Trypanosoma rangeli*, *Leishmania major*, *Leishmania donovani* y *Leishmania mexicana*); Apicomplexa (*Plasmodium falciparum*, *Plasmodium berghei*, *Plasmodium yoelli* y *Toxoplasma gondii*); Intestinales (*Giardia lamblia* y *Entamoeba histolytica*). Así como en helmintos de importancia médica y veterinaria: Nematoda (*Setaria cervi*, *Haemonchus contortus* y *Ascaris suum*) y Tremátoda (*Clonorchis sinensis* y *Schistosoma mansoni*). El conocimiento del papel que juegan estas enzimas en los ciclos de vida y en la biología de estos parásitos, permitirá identificar posibles blancos terapéuticos para el tratamiento de las enfermedades que producen. Las funciones de las fosfatasa de parásitos fueron agrupadas en relación al mecanismo en el cual participan como: ciclo celular, diferenciación y desarrollo, motilidad, regulación traduccional, metabolismo, respuesta a estrés, modulación de la respuesta inmune e invasión o daño a la célula hospedera. Algunas de estas funciones se resumen en la figura 2.

A) Ciclo celular

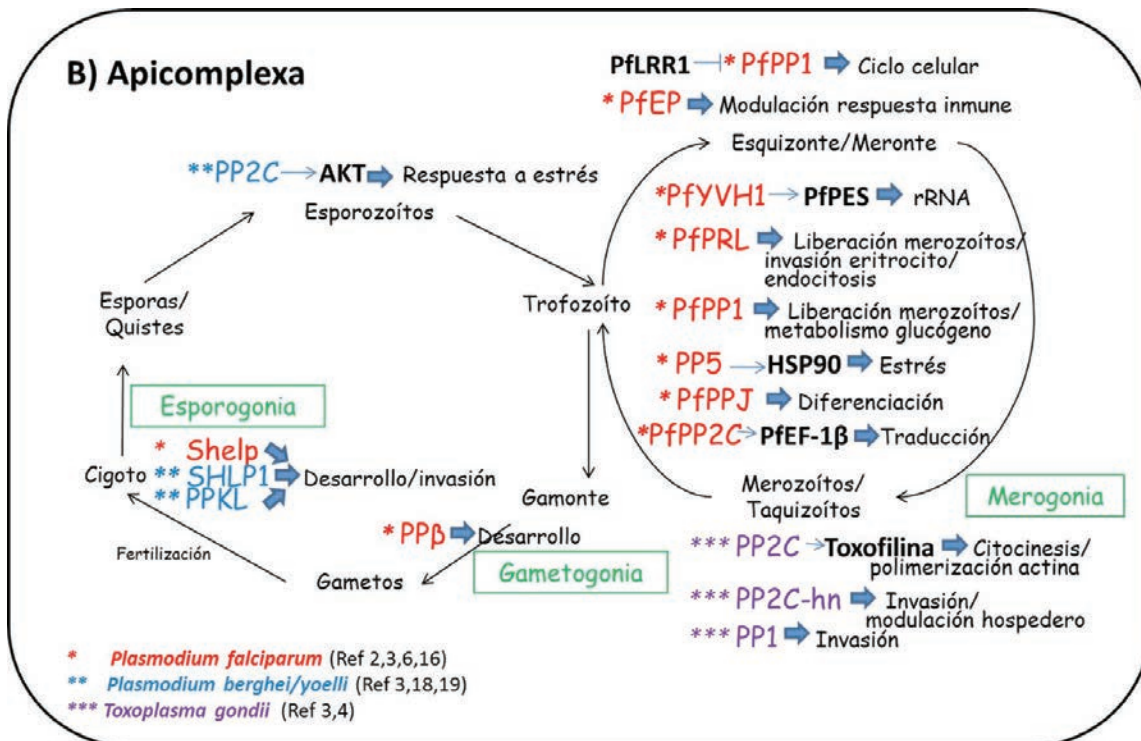
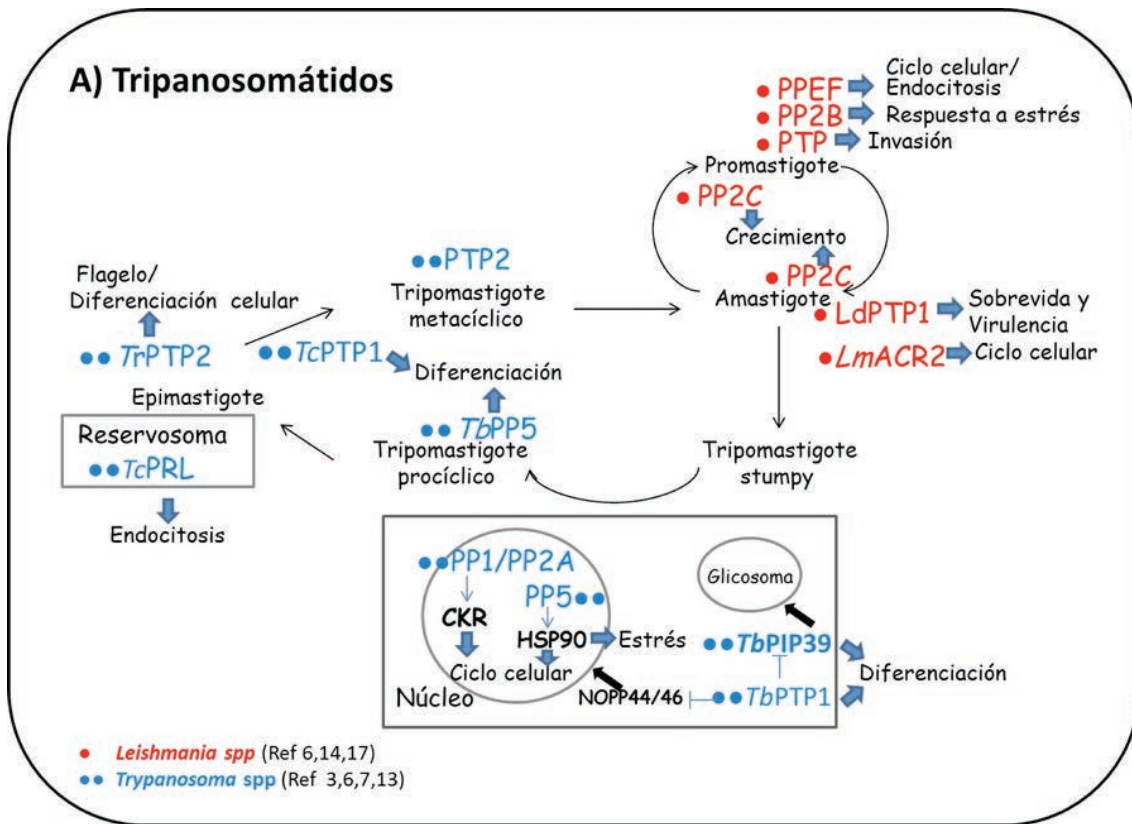
El ciclo celular en eucariontes comienza con la interfase, que abarca las fases G1, S y G2 durante las cuales las células crecen y duplican su ácido desoxirribonucleico (DNA). Este material genético se reparte en dos células hijas durante la mitosis, finalizando simultáneamente con la división del citoplasma en un fenómeno llamado citocinesis. Durante la fase G1, la proteína fosfatasa tipo PP5 de *T. brucei* se expresa en niveles altos y su depleción provoca una disminución en el crecimiento del parásito en condiciones normales de cultivo (3). Las fosfatasa tipo PP1 y PP2A de este parásito posiblemente regulan a la cinasa relacionada a cdc2 (CKR), enzima que promueve la citocinesis de forma positiva. La inhibición de

estas fosfatasa, PP1 y PP2A, resulta en células multinucleadas sin división del citoplasma y con un solo cinetoplasto (3). Un fenotipo similar ocurre en los taquizoítos de *T. gondii* cuando se sobre expresa una enzima de este tipo, la PP2C (4).

Otra fosfatasa caracterizada es la PfPP1 de *P. falciparum*, cuya actividad está presente en todas las fases sanguíneas del parásito. El silenciamiento de PfPP1 inhibe la síntesis de DNA y el crecimiento del parásito (3). Esta fosfatasa interactúa con la proteína promotora de mitosis Sds22, denominada en *Plasmodium* PfLRR1, cuya regulación es necesaria para la progresión del ciclo celular (3). Ortólogos de ambas proteínas se encuentran también en *T. gondii* (3) y en *S. mansoni* conservando la función de controlar el ciclo celular durante las fases G2/M (5). Otra enzima que participa en la transición G2/M es un homólogo de Cdc25 denominado LmACR2 en *L. major*. Esta enzima presenta un dominio de arsenato/antimonio reductasa que le confiere una actividad enzimática dual, no encontrada en fosfatasa de mamíferos (6). Otra fosfatasa caracterizada de *L. major* es la fosfatasa tipo PP7, denominada PPEF. Esta proteína se encuentra en todas las fases de vida del parásito y se encuentra localizada en el sistema endomembranal y en el bolsillo flagelar. La falta de expresión de esta enzima resulta en una inhibición parcial del crecimiento (3).

B) Diferenciación y desarrollo de las fases de vida del parásito.

Algunos parásitos presentan ciclos de vida complejos que alternan entre diferentes hospederos y ambientes. Esta condición los obliga a presentar cambios controlados en su morfología y metabolismo para adaptarse al nuevo entorno. En *T. brucei* durante la diferenciación del tripomastigote sanguíneo corto ("stumpy") a tripomastigote procíclico participan 2 fosfatasa, TbPTP1 y TbPIP39. Ambas enzimas previenen la diferenciación del parásito hasta que llegue al intestino medio de la mosca tse tse. TbPTP1 inhibe a TbPIP39, la cual para ser activa necesita estar fosforilada. Las condiciones oxidantes, el pH básico y la reducción de la temperatura en el intestino de la mosca hacen que se dispare un mecanismo de señalización que inactiva la TbPTP1. La inactivación de esta enzima, genera altos niveles de TbPIP39 fosforilada lo cual le permite migrar al glicosoma y promover la diferenciación celular (6). Otro sustrato de la fosfatasa TbPTP1, en la fase procíclica del parásito, es la fosfoproteína nuclear NOPP44/46, de la cual no se conoce el mecanismo por el que regula la diferenciación, pero se sugiere que esté



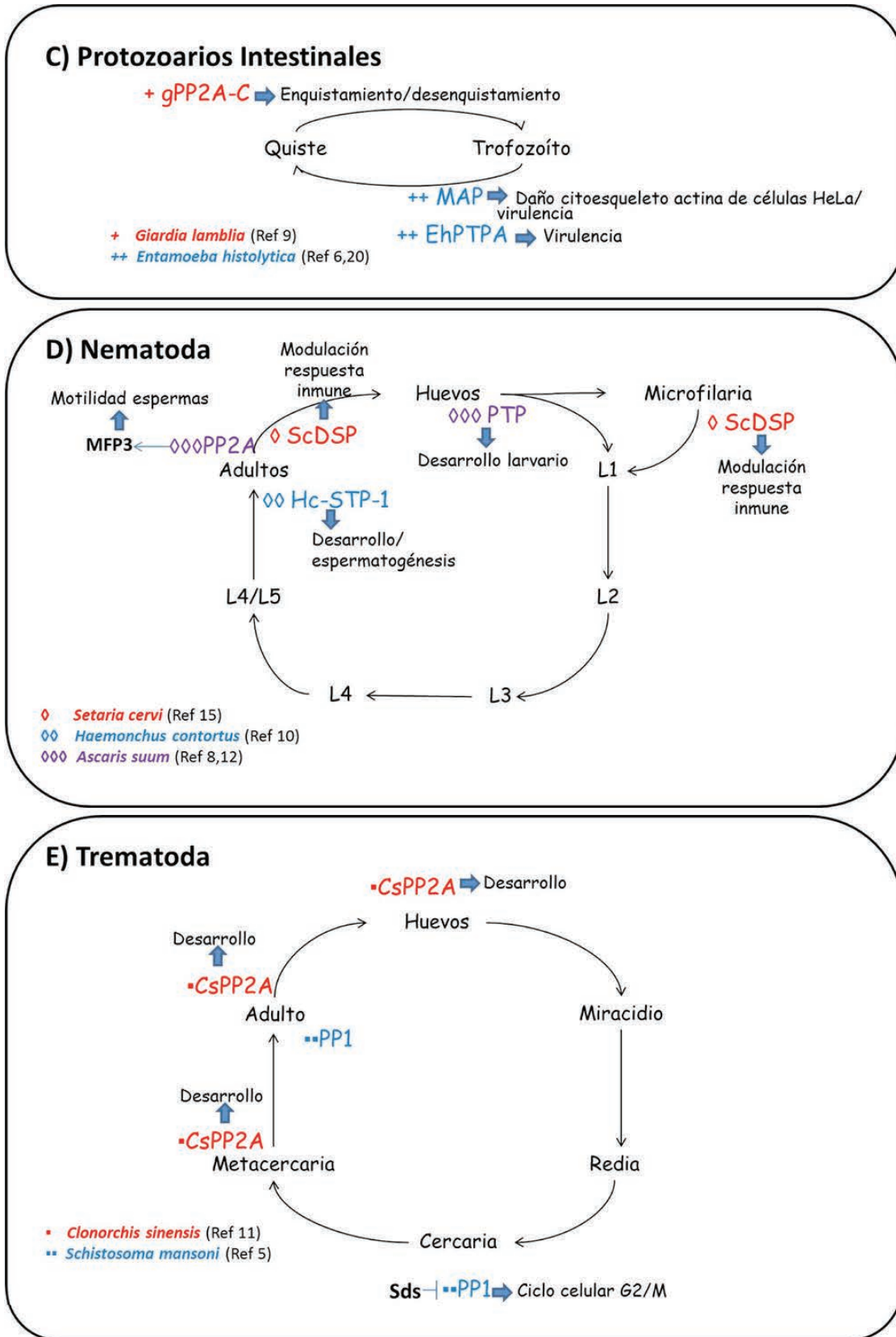


Figura 2. Función de proteínas fosfatasa de parásitos. Protozoarios: A) Tripanosomátidos, B) Apicomplexa, C) Protozoarios intestinales comunes, Helmintos: D) Nematoda, E) Trematoda.
 → Interacción ➡ Función

involucrada en el metabolismo del RNA (7). En el caso de la *TcPTP1* de *T. cruzi* se sugiere una función similar en la metacicloogénesis de este parásito (7).

La disminución gradual de la expresión de ciertas fosfatasa refleja la progresión en las fases del ciclo de vida del parásito. Tal es el caso de la fosfatasa *TbPP5* de *T. brucei* que disminuye durante la transición de la fase logarítmica a la fase estacionaria del parásito en el cultivo (3). En el nematodo *A. suum* la cantidad de una PTP de la cáscara del huevo se reduce conforme va progresando el desarrollo del parásito, de 4 células, hasta la larva completa en el huevo (8). Efectos similares se han observado en *P. falciparum* durante la progresión de las fases sanguíneas de esquizonte a anillo y de anillo a trofozoíto, sin embargo esta función se le atribuye a una fosfatasa única denominada *PfPPJ* (3).

Por el contrario, también la sobreexpresión de ciertas fosfatasa modula la diferenciación del parásito. En *G. lamblia* el aumento en la concentración de una fosfatasa tipo PP2A (*gPP2A-C*) en la pared del quiste regula las etapas de enquistamiento tardío y desenquistamiento (9).

Finalmente la expresión de fosfatasa puede ser específica de ciertos estadios. El nematodo parásito de rumiantes, *H. contortus*, presenta un tipo de fosfatasa PP1 denominada *Hc-STP-1* en el gusano adulto macho y en la cuarta fase larvaria pero no en las hembras ni en los huevos y fases larvarias tempranas. Esta proteína juega un papel importante durante la espermatogénesis así como en procesos relacionados con el desarrollo y maduración de la fase adulta del parásito macho (10). En *P. falciparum* una fosfatasa PP β (*PP2A*) se expresa específicamente en la fase de gametocitos, sugiriendo su participación en el desarrollo de esta fase del ciclo sexual del parásito (3). En el trematodo *C. sinensis* también está involucrada una fosfatasa PP2A (*CsPP2A*) en el desarrollo de la fase adulta y de metacercaria del ciclo de vida del parásito (11).

C) Motilidad celular

La motilidad en los parásitos juega un papel importante durante varias etapas en su ciclo de vida como son: la diferenciación, la invasión al hospedero, la migración y la locomoción dentro del hospedero, entre otros; donde en algunos casos se han desarrollado mecanismos que no solo dependen del rearrreglo del citoesqueleto de actina sino también de la existencia de organelos como cilios y flagelos. Un ejemplo claro es la familia Apicomplexa, los cuales presentan una nueva for-

ma de locomoción por deslizamiento llamada "gliding motility", la cual es generada por un motor de actina-miosina. En *T. gondii*, la toxofilina es una de las proteínas de secreción más abundante, cuya actividad es la de secuestrar monómeros de actina y desorganizar el citoesqueleto de la célula hospedera durante la invasión (3). La afinidad de la toxofilina a los monómeros de actina es regulada por la proteína tipo caseína cinasa II (CKII) y la fosfatasa PP2C, que fosforilan y desfosforilan respectivamente el residuo de Serina 53 de la toxofilina para regular su actividad (3). En el caso de *A. suum*, el movimiento de los espermias es generado por la fuerza de retracción que se presenta en la base del lamelopodio del cuerpo celular, cuyo aparato de motilidad está constituido por un citoesqueleto basado en filamentos de la proteína de espermia mayor (MSP) que son estabilizados por la proteína MSP fiber 3 (MFP3). La proteína PP2A desfosforila a la MFP3 generando un desensamblaje de los filamentos locales en el lamelopodio y consecuente desplazamiento del cuerpo del espermia hacia delante (12). Finalmente en tripanosomátidos, el flagelo es una estructura importante para su diferenciación celular. En epimastigotes y tripomastigotes metacíclicos de *T. rangeli* se presenta una PTP (*TrPTP2*) en el flagelo que pudiera estar regulando su estructura (13).

D) Regulación traduccional

En eucariontes superiores se conoce que varios componentes de la maquinaria traduccional son regulados por procesos de fosforilación-desfosforilación y en parásitos esto no es la excepción. *P. falciparum* presenta una fosfatasa PP2C (*PfPP2C*) de alto peso molecular que interacciona con diferentes componentes de la maquinaria transcripcional, entre ellos la proteína de elongación 1 beta (*PfEF-1 β*) del parásito, donde se ha visto que esta PP2C de *P. falciparum* regula el intercambio de nucleótidos realizado por la *PfEF-1 β* (3). Otra fosfatasa caracterizada de *P. falciparum* es una fosfatasa de especificidad dual denominada *PfYVH1*, que junto con una proteína nuclear tipo Pescadillo (*PfPes*), modula el procesamiento del rRNA y progresión en el ciclo celular (6).

E) Metabolismo

La relación simbiótica que tienen los parásitos con su hospedero les permite obtener muchos metabolitos y nutrientes, sin embargo aún conservan mecanismos que hacen eficiente su metabolismo mediante vías alternas o proteínas como las

fosfatasa que juegan un papel importante en el metabolismo de carbohidratos. En *P. falciparum* se infiere que una proteína fosfatasa tipo PP1 (PfPP1) pudiera participar en el metabolismo del glucógeno, dada la alta homología con PP1 de levaduras y su capacidad para interactuar con moléculas involucradas en esta ruta metabólica (3). Por otro lado, *T. cruzi* presenta una fosfatasa prenilada TcPRL en un compartimento pre-lisosomal llamado reservosoma, cuya actividad está implicada en el catabolismo de proteínas y lípidos de reserva durante las diferentes fases de vida del parásito (6).

F) Respuesta a estrés

Los parásitos presentan ciclos de vida complejos que pueden involucrar la transición de un hospedero a otro o la exposición al ambiente en diferentes formas como puede ser el caso del quiste. Este proceso implica la necesidad de responder a las señales y estrés del nuevo ambiente para su adaptación y progresión de su ciclo de vida. En los promastigotes de *L. major*, la captación de calcio es esencial para la adaptación del parásito al cambio de temperatura que sufre al pasar del insecto vector al hospedero mamífero. En esta fase de promastigote del parásito, el silenciamiento de la subunidad reguladora CnB de la fosfatasa PP2B (calcineurina), afecta la viabilidad y diferenciación a la fase de amastigote durante el cambio de temperatura de 26 a 34 °C; este proceso fue revertido cuando se adicionó exógenamente la subunidad reguladora CnB (14). Otra enzima de *Leishmania* spp implicada en este proceso de adaptación es la LPTP1, cuya actividad enzimática no participa en la diferenciación de promastigote a amastigote pero si en su supervivencia (6). La fosfatasa PP5 de *P. falciparum* y *T. brucei* en condiciones de estrés interactúa *in vivo* con una proteína de choque térmico 90 (HSP90) para regular la homeostasis celular (3).

Recientemente en nuestro laboratorio se ha encontrado que *L. major* y *L. mexicana* poseen una PP2C, y la inhibición de la actividad de PP2C por el compuesto sanguinaria (inhibidor específico), inhibe el crecimiento de la fase de promastigote de *L. major* y *L. mexicana* y de amastigote de *L. mexicana* (observación personal).

Finalmente, una fosfatasa PP2C participa en *P. berghei* y *P. yoelli* durante la adaptación a diferentes concentraciones de potasio a las que se ve expuesto el parásito durante la migración del esporozoíto al hígado y a su vez incrementa la infectividad a las células hepáticas (3).

G) Modulación de la Respuesta Inmune

En células del sistema inmune (macrófagos y linfocitos) existe información acerca de la participación de las proteínas fosfatasa en la regulación de la activación de estas células inmunes frente a microorganismos patógenos. Los parásitos han evolucionado desarrollando mecanismos para evadir la respuesta inmune mediante la inhibición de proteínas esenciales que participan en las vías de señalización importantes para la activación de las células inmunes. Sin embargo, se conoce poco acerca de la función que pudieran tener las fosfatasa de parásitos para modular y evadir esta respuesta. En el nemátodo *S. cervi* se ha observado que secreta una fosfatasa ScDSP durante los estadios de adulto y microfilaria. Esta fosfatasa a altas concentraciones inhibe la degranulación de eosinófilos (15). En *P. falciparum* se ha identificado una fosfatasa extracelular (PfEP) en sobrenadantes de cultivos de eritrocitos infectados con el parásito y se sugiere que esta enzima pudiera participar en la modulación y señalización de la respuesta inmune (16).

H) Invasión, salida o daño a la célula hospedera

Varios estudios han descrito que la secreción o exposición del dominio catalítico de enzimas al exterior de la célula pueden modular vías de señalización relacionadas con el proceso de invasión. En el caso de promastigotes metacíclicos de *L. major*, se ha descrito una PTP asociada a la membrana, cuya función pudiera tener un papel en la invasión a la célula hospedera (17). Por su parte, *L. mexicana* presenta una fosfatasa PTP de 50 kDa que es secretada al medio de cultivo y se sugiere que puede participar en la invasión a la célula hospedera (17).

En roptrías de taquizoítos de *T. gondii* se ha descrito una fosfatasa PP2C (PP2C-hn) que es secretada y posteriormente internalizada por la célula hospedera, relocalizándose en el núcleo de esta célula (3). Otro ejemplo de fosfatasa secretadas o expuestas en la superficie es una PfPRL de *P. falciparum*, la cual es translocada de las roptrías a la superficie del parásito donde pudiera participar en la liberación de los merozoítos del esquizonte y/o en la consecuente invasión a los eritrocitos (6). Otras fosfatasa interesantes, dado que no presentan homólogos en mamíferos, son las fosfatasa PPP tipo bacteria, Shelphs. En *P. falciparum* se localiza una fosfatasa Shelph en el complejo apical y se sugiere que es esencial en

la interacción e invasión a la célula hospedera (2). *P. berghei* presenta dos isoformas de Shelpshs, SHLP1 y SHLP2, donde SHLP1 es esencial en el desarrollo del micronema del oocineto (cigoto), formación del quiste y subsecuente transmisión por el insecto vector (18). Otra fosfatasa caracterizada de *P. berghei* es una proteína fosfatasa con dominios tipo kelch, PPKL, que también es esencial en la diferenciación del oocineto, motilidad e invasión a la célula hospedera (19). Finalmente en taquizoítos de *T. gondii* se ha visto que la inhibición de una PP1 reduce significativamente la invasión a la célula hospedera (3).


Con respecto al daño a la célula hospedera, en trofozoítos de *E. histolytica* se ha caracterizado la función de una fosfatasa ácida de unión a membrana (MAP) que presenta actividad de PTP. La interacción de esta enzima amibiana con células HeLa resultó en la alteración del citoesqueleto de actina (6). Además, en un estudio de la expresión diferencial de genes de trofozoítos no virulentos y virulentos de *E. histolytica* se incrementa la transcripción del gen que codifica para la MAP (20). Esta expresión diferencial entre trofozoítos en diferentes condiciones se ha reportado para la EhPTPA, cuya sobrerregulación sugiere un papel importante en la adaptación del trofozoíto durante el desarrollo del absceso

hepático amebiano (6).

La fosfatasa PP1 de *P. falciparum* está implicada en la salida de la célula hospedera. Esta enzima favorece la liberación de los merozoítos de los eritrocitos al mantener bajos los niveles de fosforilación de la proteína de unión al citoesqueleto (PfsBP)1, la cual es una proteína transmembranal de la hendidura de Maurer que regula la estabilidad de la membrana del eritrocito (3).

Conclusión

Las fosfatasas presentes en diferentes parásitos resultan de suma importancia para la regulación de diversos mecanismos involucrados en su ciclo de vida y otras funciones. Muchas de estas fosfatasas presentan características muy semejantes a las fosfatasas de eucariontes superiores y conservan muchas de las funciones. No obstante, los parásitos también han desarrollado fosfatasas únicas, cuya función pudiera ser peculiar, lo que las convierte en atractivos blancos terapéuticos y/o de diagnóstico. Sin embargo, falta mucho para esclarecer el papel que juegan y las vías específicas que modulan estas fosfatasas en los parásitos y/o en la célula que invaden.

Agradecimientos. A los proyectos CONACyT: 152433 y DGAPA-PAPIIT: IN218412. 

REFERENCIAS

1. Moorhead G, Trinkle-Mulcahy L, Ulke-Lemée A (2007) Emerging roles of nuclear protein phosphatases. *Nature Reviews* 8:234-244.
2. Kutuzov MA, Andreeva AV (2012) Prediction of biological functions of Shewanella-like protein phosphatases (Shelpshs) across different domains of life. *Funct Integr Genomics* 12(1):11-23.
3. Kutuzov MA, Andreeva AV (2008) Protein Ser/Thr phosphatases of parasitic protozoa. *Mol Biochem Parasitol* 161:81-90.
4. Jan G, Delorme V, Saksouk N, Abrivard M, Gonzalez V, Cayla X, Hakimi MA, Tardieux I (2009) A *Toxoplasma* type 2C serine-threonine phosphatase is involved in parasite growth in the mammalian host cell. *Microbes Infect.* 11(12):935-945.
5. Daher W, Cailliau K, Takeda K, Pierrot C, Khayath N, Dissous C, Capron M, Yanagida M, Browaeyns E, Khalife J (2006) Characterization of *Schistosoma mansoni* Sds homologue, a leucine-rich repeat protein that interacts with protein phosphatase type 1 and interrupts a G2/M cell-cycle checkpoint. *Biochem J* 395(2):433-441.
6. Andreeva AV, Kutuzov, M (2008) Protozoan protein tyrosine phosphatases. *Int J Parasitol* 8:1279-1295.
7. Lountos GT, Tropea JE, Waugh DS (2013) Structure of the *Trypanosoma cruzi* protein tyrosine phosphatase TcPTP1, a potential therapeutic target for Chagas' disease. *Mol Biochem Parasitol* 187(1):1-8.
8. Wimmer M, Schmid B, Tag C, Hoffer H (1998) *Ascaris suum*: Protein Phosphotyrosine Phosphatases in Oocytes and Developing Stages. *Exp Parasitol* 88(2):139-145.
9. Lauwaet T, Davids B, Torres-Escobar A, Birkeland S, Cipriano M, Preheim S, Palm D, Svard S, McArthur A, Gillin F (2007) Protein phosphatase 2A plays a crucial role in *Giardia lamblia* differentiation. *Mol Biochem Parasitol* 152(1):80-89.

10. Campbell B, Rabelo E, Hofmann A, Hu M, Gasser R (2010) Characterization of a *Caenorhabditis elegans* glc seven-like phosphatase (*gsp*) orthologue from *Haemonchus contortus* (Nematoda). *Mol Cell Probes*. 24(4):178-189.
11. Deng C, Yu X, Li X, Sun J, Wang L, Wang X, Chen W, Hu X, Wu Z (2012) Molecular expression and characterization of a novel protein phosphatase 2A gene from *Clonorchis sinensis*. *Parasitol Res* 110(5):1951-1957.
12. Yi K, Wang X, Emmett, M., Marshall, A., Stewart, M. y Roberts, T (2009) Dephosphorylation of major sperm protein (MSP) fiber protein 3 by protein phosphatase 2A during cell body retraction in the MSP-based amoeboid motility of *Ascaris* sperm. *Mol Biol Cell* 20(14):3200-3208.
13. Prestes E, Bayer-Santos E, Hermes P, Marques T, Wagner G, Umaki A, Perdigao S, Bordignon J, Steindel M y Grisard C (2012) *Trypanosoma rangeli* protein tyrosine phosphatase is associated with the parasite's flagellum. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 107(6): 713-719.
14. Naderer T, Dandash O, McConville MJ (2011) Calcineurin is required for *Leishmania* major stress response pathways and for virulence in the mammalian host. *Mol Microbio* 80(2):471-480.
15. Rathaur S, Rai R, Srikanth E, Srivastava S (2009) *Setaria cervi* dual specific phosphatase: characterization and its effect on eosinophil degranulation. *Parasitology* 136:895-904.
16. Singh M, Mukherjee P, Narayanasamy K, Arora R, Sen SD, Gupta S, Natarajan K, Malhotra P (2009) Proteome analysis of *Plasmodium falciparum* extracellular secretory antigens at asexual blood stages reveals a cohort of proteins with possible roles in immune modulation and signaling. *Mol Cell Proteomics*. 8(9):2102-2118.
17. Escalona-Montaña AR, Pardavé-Alejandro D, Cervantes-Sarabia R, García-López P, Gutiérrez-Quiroz M, Gutiérrez-Kobeh L, Becker-Fausser I, Aguirre-García MM (2010) *Leishmania mexicana* promastigotes secrete a protein tyrosine phosphatase. *Parasitol Res* 107(2):309-315.
18. Patzewitz E, Guttery D, Poulin B, Ramakrishnan C, Ferguson D, Wall R, Brady D, Holder A, Szoor B and Tewari R (2013) An ancient protein phosphatase, SHLP1, is critical to microneme development in *Plasmodium ookinetes* and parasite transmission. *Cell Rep* 3(3):622-629.
19. Guttery D, Poulin B, Ferguson D, Szoor B, Wickstead B, Carroll P, Ramakrishnan C, Brady D, Patzewitz E, Straschil U, Solyakov L, Green J, Sinden R, Tobin A, Holder A y Tewari R (2012) A unique protein phosphatase with kelch-like domains (PPKL) in *Plasmodium* modulates ookinete differentiation, motility and invasion. *PLoS Pathog* 8(9):e1002948.
20. Balderas-Rentería I, García-Lazaro J, Carranza-Rosales, Morales-Ramos, Galan W, Muñoz-Espinosa (2007) Transcripcional upregulation of genes related to virulence activation in *Entamoeba histolytica*. *Arch Med Res* 38(4):372-379.