

114
29



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

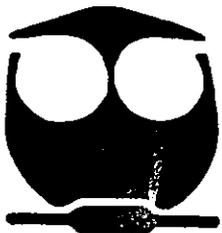
FACULTAD DE QUIMICA



EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA

ESTUDIO DE LA RELACION
HOSPEDERO-PARASITO EN LA AMIBIASIS

TRABAJO MONOGRAFICO DE
ACTUALIZACION
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA
PRESENTA:
AIDA MARIANA SANTIAGO LOMELI



MEXICO, D. F.

265574

1998.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Handwritten notes and stamps at the top right of the page.

Jurado asignado:

- Presidente: Prof. Abel Gutiérrez Ramos
- Vocal: Prof. Maite Astigarraga Zavaleta
- Secretario: Prof. Eduardo Bonilla Espinosa
- 1er. Suplente: Prof. Jorge Fernando Paniagua Solís
- 2o. Suplente: Prof. Marco Antonio Becerril Flores

Sitio donde se desarrolló el tema:

Diversas bibliotecas, Facultad de Química, Facultad de Medicina, Investigaciones Biomédicas, Centro Médico.

Asesor del tema:

Q.F.B. Abel Gutiérrez Ramos



Handwritten signature of Abel Gutiérrez Ramos over a horizontal line.

Sustentante:

Aída Mariana Santiago Lomelí



Handwritten signature of Aída Mariana Santiago Lomelí over a horizontal line.

**A mi madre, Aída,
porque todo lo que
he logrado ha sido
gracias a su esfuerzo,
comprensión y amor.**

**A mi padre, Javier,
por siempre guiarme
hacia el camino de la
superación dándome
su apoyo incondicional**

**Al Prof. Abel Gutiérrez,
por su valiosa ayuda para la
realización de este trabajo,
por sus enseñanzas y
por su amistad**

GRACIAS.

**A Lalo, porque alguna vez te amé,
porque te amo y porque siempre te amaré .
Gracias por estar conmigo en cada momento,
dándome otra visión de la vida...**

ÍNDICE

-INTRODUCCIÓN	1
-OBJETIVOS	5
<u>-Entamoeba histolytica :</u> GENERALIDADES	6
Ciclo de vida de <u>Entamoeba histolytica</u>	17
-ADHERENCIA, ACTIVIDAD QUÍMICA Y ACTIVIDAD MECÁNICA	18
Sustancias que favorecen la adhesión	20
Acciones enzimáticas	27
Degradación y Efecto mecánico	38
-INMUNIDAD DEL HUÉSPED	48
Inmunidad inespecífica	49
Inmunidad específica	55
Inmunidad humoral	57
Inmunidad celular	62

-EVASIÓN INMUNOLÓGICA	66
Evasión del complemento	67
Factor inhibidor de la locomoción de monocitos	68
Formación de casquete	69
Degradación de anticuerpos	70
Supresión de la inmunidad celular	71
-CONCLUSIONES	73
-BIBLIOGRAFÍA	77

INTRODUCCIÓN

La amibiasis es uno de los principales problemas de salud pública a nivel mundial. Es una de las parasitosis más comunes y es la tercera causa de muerte dentro de todas las parasitosis que afectan al ser humano. Se ha estimado que existen alrededor de 500 millones de sujetos infectados en el mundo, aunque aproximadamente el 90% de ellos se mantienen asintomáticos. De los pacientes con manifestaciones clínicas, la forma de presentación varía desde un cuadro de disentería característico, hasta las formas graves de amibiasis extraintestinal, con abscesos a nivel hepático, pulmonar o cerebral. En estas últimas presentaciones clínicas (básicamente extraintestinales), el comportamiento de la enfermedad tiende a ser más severo, y en consecuencia mayor su letalidad.

La amibiasis es más frecuente en regiones tropicales, climas cálidos y templados, pero más aún en áreas pobres y mal saneadas donde priva el hacinamiento y el mal manejo de aguas y de excretas, de ahí que sea más frecuente la infección y la enfermedad.

La forma infectante de *Entamoeba histolytica* es el quiste maduro tetranucleado. El hombre no es el único pero sí el principal reservorio de la amiba. Como portador sano o convalescente, es la principal fuente de excreción de quistes infectantes patógenos. La etapa en la que se puede ser portador varía desde meses hasta años, y se puede dejar de ser portador espontáneamente.

La forma básica de infección es la ingestión de quistes maduros, que se da en medios contaminados, mal saneados y con malos hábitos de higiene que propician el cierre del ciclo ano-mano-boca a través de aguas o alimentos contaminados, manos mal lavadas o insectos vectores (moscas, cucarachas etc.)

En general, los agentes infecciosos establecidos logran alcanzar un estado de relación balanceada con el huésped y causan el menor daño posible que a la vez sea compatible con la necesidad de entrar, multiplicarse y ser eliminados del organismo; todo lo anterior en términos de evolución y sobrevivencia, ya que los microorganismos deben evitar la extinción, lo cual ocurría si la lesión es letal y hay reducción en el número de huéspedes disponibles.

La patogenicidad a su vez, es la capacidad de los parásitos de producir enfermedad. Dicha enfermedad se presenta dependiendo en gran medida de las interacciones entre el microorganismo y el huésped. Para causar enfermedad, el patógeno debe entrar al huésped, multiplicarse en los tejidos del mismo, resisitir o no estimular las defensas del mismo y dañarlo.

La amibiasis, como cualquier otra enfermedad causada por microorganismos, es el resultado de interacciones complejas entre los factores de patogenicidad del parásito y de resistencia del hospedero, cada uno gobernado por múltiples y variados mecanismos.

La patogenicidad es un evento multifactorial. Para que se presente, el parásito debe ser capaz de llevar a cabo, cuando menos las siguientes acciones: adherirse a las células blanco, colonizar y en ocasiones penetrar una superficie, resistir o evadir los mecanismos de defensa del huésped y producir daño en los tejidos del huésped.

En la patogénesis de la amibiasis se requiere de la colonización del intestino, ruptura de los sistemas de defensa del moco y lisis de las células epiteliales.

En la colonización del moco el primer evento es la unión a receptores específicos. En seguida se efectúa la penetración del moco por medio de movimientos que no requieren de la degradación enzimática. Posteriormente, actúan los mecanismos dependientes de contacto celular como la proteína formadora del poro y las cisteín-proteasas.

En la amibiasis invasora los factores involucrados en la actividad patogénica de *E. histolytica* son complejos y numerosos. Algunos de estos factores son: susceptibilidad a la aglutinación por la Concanavalina A y ausencia de carga en la superficie del trofozoito, formación de casquete por lectinas o anticuerpos poliespecíficos, resistencia a la lisis por complemento, proteínas de superficie con capacidad de unir carbohidratos (lectinas), eritrofagocitosis y presencia de actividades enzimáticas diversas: enzimas lisosomales, tiolproteasas, colagenasa, hemolisina, ameboporo y hialuronidasa.

Durante muchos años se ha intentado desarrollar profilaxis inmune a largo plazo, pero los resultados de las vacunas producidas hasta nuestra fecha no han sido del todo alentadoras, debido a su poca protección en el momento de efectuar los retos respectivos en el laboratorio de investigación.

Debido a esto, se tiene contemplado realizar la prevención de la parasitosis de alguna otra forma, ya sea culturizando a la población en general, evitando el contacto estrecho con las formas infectantes, erradicando focos activos de infección o tratando de romper el ciclo biológico del parásito en un punto determinado.

Este estudio de la relación Hospedero-Parásito, pretende actualizar los conocimientos básicos de la interacción entre Entamoeba histolytica y el hombre, tratando de llegar a profundizar el contacto estrecho entre el parásito y el ser humano.

OBJETIVOS

-Recopilar la información más relevante sobre la relación huésped-parásito en la amibiasis.

-Hacer una revisión bibliográfica exhaustiva de la patogenicidad de Entamoeba histolytica y de las defensas del huésped ante la infección.

-Con la información obtenida, proponer medidas eficaces para la prevención de la amibiasis.

Entamoeba histolytica:

GENERALIDADES

El género *Entamoeba* incluye varias especies de parásitos al hombre: *E. histolytica* (Schaudinn, 1903); *E. hartmanni* (Provasek, 1912); *E. coli* (Hickson, 1909) y *E. gingivalis* (Smith y Barret, 1914).

La clasificación de las especies de *Entamoeba* está basada en el número de núcleos de los quistes maduros, que pueden ser ocho, cuatro o uno.

E. histolytica y *E. hartmanni* poseen quistes tetranucleados y pueden ser diferenciadas tomando en cuenta el diámetro de los quistes, que son menores a 10 μ en la segunda.

Entamoeba histolytica pertenece a la familia *Entamoebidae*, del orden *Amoebida* en el subphylum *Sarcodina* en la superclase *Rhizopoda* de protozoarios formadores de pseudópodos.

E. histolytica con frecuencia actúa como comensal y menos habitualmente como invasor. Para dar explicación a esto se ha propuesto que existen dos especies diferentes de amibas semejantes morfológicamente, de las cuales sólo una es patógena.

La diferenciación biológica entre cepas no patógenas y cepas provenientes de casos de amibiasis invasora se logró por primera vez al comparar ciertas propiedades de superficie de las amibas. En general, las cepas patógenas aglutinan en presencia de lectina concanavalina A, carecen de carga negativa de superficie a pH neutro y tienen una alta tasa de eritrofagocitos.

En cambio, los trofozoitos no patógenos y los de virulencia atenuada son menos susceptibles de aglutinar con concanavalina A, tienen carga de superficie elevada, ingieren pocos glóbulos rojos y no destruyen monocapas de células en cultivo.

Se han diferenciado dos tipos de amibiasis: la invasora, causada por E. histolytica y la no invasora causada por E. dispar.

Diferencias entre E. histolytica y E. dispar

CARACTERÍSTICA	<u>Entamoeba histolytica</u>	<u>Entamoeba dispar</u>
VIRULENCIA	Alta	Baja
FORMA TROFOZOITO	Polimórfica, tendiendo a ser cuadrada	Alargada
GLUCÓGENO EN EL CITOPLASMA	Presenta grandes cúmulos de glucógeno en el citoplasma	No presenta cúmulos (podría ser la clave para diferenciar las dos especies)
MEMBRANA CELULAR	La membrana tiene una cubierta de glucoproteína muy gruesa	La cubierta es más delgada
EFEECTO CITOPÁTICO	En tres minutos produce alteraciones dramáticas a la membrana plasmática. Libera gran cantidad de proteasas. Produce granuloma que evoluciona a necrosis hepática	En medio hora sólo produce pulimiento de la superficie. Con inóculos cien veces mayores se producen discretos abscesos. Gran reclutamiento de células polimorfonucleares. Desaparición rápida de la necrosis inflamatoria. A los siete días prácticamente no queda huella de la infección.

Entamoeba histolytica tiene dos formas o fases de desarrollo bien establecidas: el trofozoito o forma vegetativa que mide alrededor de 10 a 60 micras, es irregular o ameboide, emite pseudópodos a base de material protoplásmico locomotor, presenta membrana citoplasmática, citoplasma dividido en dos porciones, una externa hialina y transparente, casi sin granulaciones, llamada ectoplasma y una porción interna muy granulosa que contiene los organelos celulares, denominada endoplasma. El núcleo es esférico con un acúmulo de cromatina pequeño y puntiforme en el centro llamado endosoma o centrosoma. También presenta cromatina adherida a la cara interna de la membrana nuclear, distribuida en forma más o menos homogénea.

En algunas cepas, los centrosomas son excéntricos y en otras la cromatina periférica forma finas láminas sobre la membrana nuclear, en lugar de gránulos. Una tercera variante, en cuanto a estructura nuclear, es la acumulación de toda la cromatina periférica en forma semilunar, hacia un lado de la membrana nuclear.

Si las condiciones del medio ambiente no son favorables, el trofozoito empieza a cambiar de forma, deja de emitir pseudópodos, el ectoplasma y el endoplasma ya no se diferencian, de manera que casi desaparece el primero, se pierde la forma irregular y se hace esférico. A esta fase se le denomina forma prequística, puede reconocerse por la presencia de un único núcleo redondeado, la ausencia de materiales fagocitados y la ausencia de pared quística.

Posteriormente, aparece una pared gruesa formada por quitina (polímero de glucosamina y N-acetil-D- glucosamina) ; también ha expulsado al exterior todo el contenido de las vacuolas y empieza a formar material de reserva como vacuolas de glucógeno y barras cromatoidales.

DIFERENCIAS ENTRE EL TROFOZOITO Y EL QUISTE DE *E. histolytica*

Característica	Trofozoito	Quiste
Tamaño	10-60 micras	10-15 micras
Forma	Irregular	Esférica
Ectoplasma	Claro	No contiene
Endoplasma	Granuloso	No contiene
Pared	Ausente	Formada por quitina
Pseudópodos	Digitiformes	Ausentes
Núcleo	Núcleo esférico: endosoma central pequeño, membrana nuclear visible y revestida de cromatina	4 núcleos Barras cromatoidales
Características específicas	Fibrillas acromáticas entre el núcleo y la membrana citoplasmática	Vacuola de glucógeno

En preparaciones frescas, los trofozoitos suelen tener un movimiento activo y el núcleo no se aprecia. Se mueven mediante pseudópodos, extensiones citoplasmáticas que pueden formarse en cualquier punto de la superficie del protozoo.

Los pseudópodos se emiten con rapidez y su forma es variable, desde cortos, romos y anchos, hasta alargados. El ectoplasma se proyecta hacia fuera para formar el pseudópodo, característicamente hialino en esta especie cuando está recién formado. El endoplasma fluye lentamente hacia el pseudópodo cuando la amiba se desplaza en la dirección en la que se ha emitido. La motilidad es generalmente progresiva y unidireccional.

La superficie basal de los trofozoitos de Entamoeba histolytica, que participa directamente en los fenómenos de adhesión y citólisis, no muestra caracteres morfológicos especiales, a no ser por la presencia de escasos y cortos filopodios en su borde externo.

La mayor parte del citoplasma de los trofozoitos está ocupada por vacuolas incluidas en la matriz citoplasmática. Las vacuolas citoplasmáticas de amibas provenientes de heces disentéricas pueden contener restos de eritrocitos. La mayoría tienen perfil circular en cortes y su diámetro varía de 0.5 a 9 μ . La mayoría de las vacuolas derivan de la internalización de porciones de la membrana plasmática mediante endocitosis o fagocitosis.

Se han identificado los siguientes tipos de vacuolas citoplasmáticas de E. histolytica:

-Vacuolas fagocíticas, vacuolas de macropinocitosis, vacuolas de micropinocitosis, lisosomas primarios, lisosomas secundarios, cuerpos residuales y vacuolas autofágicas.

Los lisosomas de las amibas difieren de los de células eucarióticas superiores en que las enzimas de las primeras no se encuentran en forma soluble dentro de las vacuolas, sino que son parte integral de la membrana.

Los ribosomas se disponen en el citoplasma amibiano generalmente en forma de cúmulos helicoidales de aproximadamente 300 nm de longitud y 40 nm de diámetro. Estos grupos helicoidales se agregan, en los quistes y en los trofozoitos en reposo, formando grandes inclusiones cristalinas hasta de varios micrómetros de largo, son los cuerpos cromidiales visibles con microscopio de luz.

El citoplasma de la *E. histolytica*, tanto de los trofozoitos cultivados como de los obtenidos de lesiones animales o humanas, contiene gran cantidad de inclusiones de naturaleza desconocida. Las más frecuentes son los cuerpos cilíndricos, que por lo general se disponen bidimensionalmente como rosetas. Estos cuerpos varían en tamaño, hasta de 250 nm de largo y 90 nm de diámetro, están limitados por una membrana incompleta y tienen forma de bala.

A pesar de la notable motilidad y plasticidad de los trofozoitos, se sabe muy poco sobre la organización estructural de su citoesqueleto. Se han encontrado sólo escasos microfilamentos de 7 nm de diámetro, sobre todo en regiones inmediatamente por debajo de la membrana plasmática. En áreas en las que se concentran componentes ricos en actina, tales como los canales fagocíticos y

de macropinocitosis, sólo se observa material fibrogranular en cortes delgados, no se encuentran como en células más diferenciadas, microfilamentos en esas áreas. El gen para la actina ya ha sido caracterizado y estudiado en *E. histolytica*.

No se han identificado microtúbulos en el citoplasma de trofozoitos o quistes de esta amiba; solamente en el núcleo de trofozoitos en división de cepas patógenas y no patógenas ha sido posible observar haces de microtúbulos.

La membrana plasmática de los trofozoitos mide aproximadamente 10 nm de espesor y tiene, vista con el microscopio electrónico, la apariencia clásica de unidad de membrana trilaminar. Cuando se usan técnicas citoquímicas especializadas se puede demostrar la presencia de una muy delgada cubierta celular formada de glicocálix, responsable de la unión a la Concanavalina A.

La mayor parte de los componentes de dicha cubierta son liberados al medio, lo que sugiere que la *E. histolytica* posee antígenos solubles que son constantemente eliminados al medio extracelular. La interacción de ciertos componentes de la superficie celular con algunos ligandos produce movilización rápida de los complejos formados, fenómeno de formación de casquete.

Esa redistribución superficial ocurre también cuando los anticuerpos anti-amibianos se unen a ciertos antígenos de la superficie del parásito. La movilización y la liberación subsecuente del "casquete" pueden hacer que las amibas sean menos susceptibles a la respuesta humoral del huésped.

Los trofozoitos se multiplican por fisión binaria y se enquistan, produciendo quistes tetranucleados típicos, después de dos divisiones nucleares sucesivas de quistes uninucleados. De cada quiste emerge una sola amiba metaquística tetranucleada, que produce a su vez ocho trofozoitos uninucleados después de la división.

Los quistes son redondeados o ligeramente ovalados; su diámetro varía de 8 a 20 μ . En preparaciones no teñidas aparecen como cuerpos hialinos con pared refráctil. El citoplasma es incoloro y en ocasiones pueden visualizarse sin tinción los cuerpos cromidiales y los núcleos. Estos últimos se visualizan claramente al microscopio en preparaciones teñidas con yodo, que también tiñe levemente los cuerpos cromidiales; el glucógeno se tiñe de color pardo rojizo. La pared de los quistes mide entre 125 a 150 nm de grosor y está compuesta por elementos fibrilares de 2 a 3 nm de diámetro, que forman una red compacta, constituida a su vez por varias capas concéntricas.

El intestino grueso provee normalmente un ambiente con baja tensión de oxígeno; sin embargo, los trofozoitos de *E. histolytica* no son anaerobios absolutos. Las amibas son capaces de consumir oxígeno a pesar de carecer de mitocondrias y pueden crecer en atmósferas que contienen hasta 5 % de oxígeno. Por debajo de esta concentración, las amibas son capaces de detoxificar los productos de la reducción del oxígeno.

E. histolytica es un aerobio facultativo con enzimas glucolíticas inusuales. Este metabolismo puede ser ventajoso para el parásito, al permitirle cambiar del ambiente de la luz intestinal, donde existe baja presión de oxígeno, al que se encuentra al invadir órganos sólidos con abundante aporte sanguíneo y por ello mayor concentración de oxígeno.

Los carbohidratos son la principal fuente de energía del parásito. La captación de glucosa requiere un sistema de transporte específico, que proporciona aproximadamente 100 veces la cantidad de glucosa que el parásito incorpora por endocitosis.

El catabolismo amibiano de la glucosa difiere considerablemente del de la mayoría de las células eucarióticas, ya que posee enzimas glucolíticas poco usuales y carece de mitocondrias, de citocromos y del ciclo del ácido cítrico. La glucosa es degradada a piruvato por medio de la vía de Embden-Meyerhof; el lactato no es un producto terminal y no se ha encontrado en las amibas la enzima lactato deshidrogenasa.

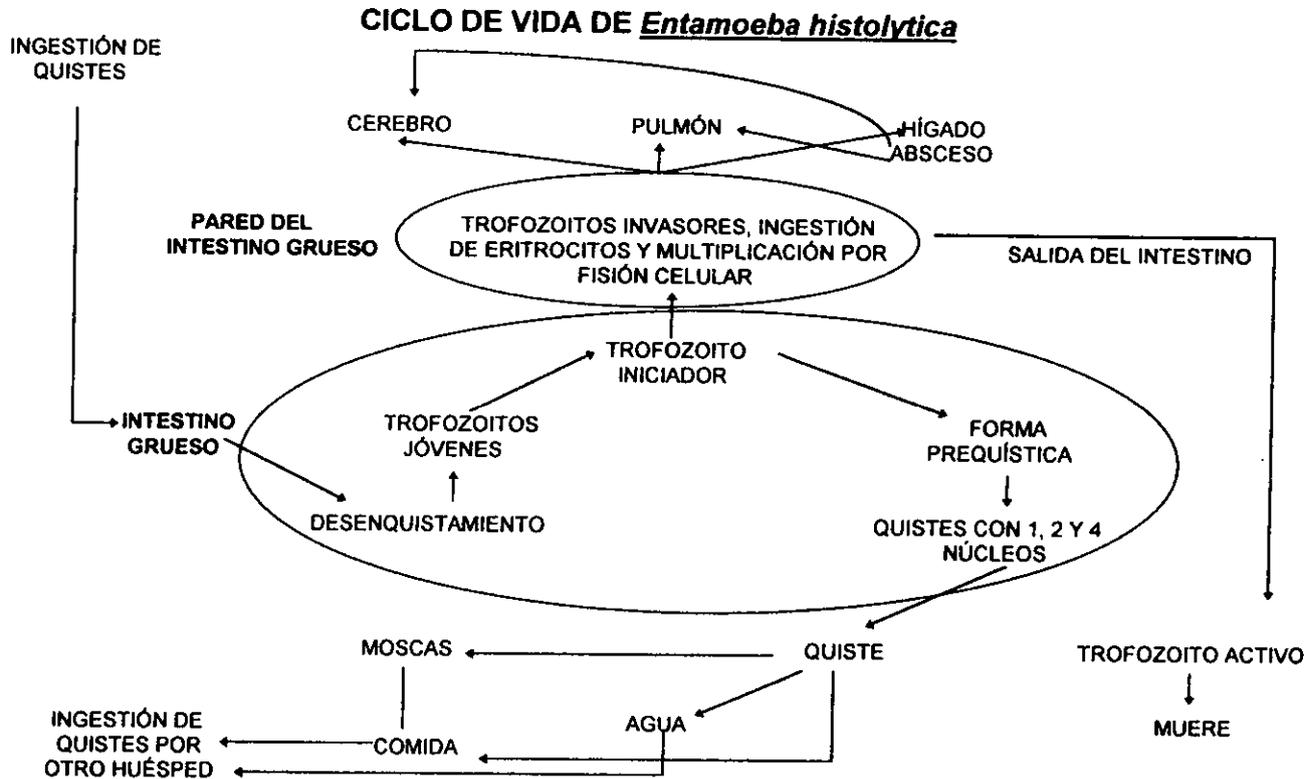
Una característica especial es que el pirofosfato inorgánico, que generalmente es considerado como producto terminal del metabolismo, es utilizado por las amibas como fuente de energía, reemplazando al ATP en varias reacciones glucolíticas. Los principales productos terminales del metabolismo anaerobio de los carbohidratos en la *E. histolytica* son el etanol y el bióxido de carbono.

Los trofozoitos también tienen un metabolismo aerobio y muestran una gran afinidad hacia el oxígeno. A pesar de la carencia de mitocondrias y del ciclo de los ácidos tricarboxílicos, se transfieren electrones de sustratos reducidos a oxígeno molecular a través de una sucesión de acarreadores, que incluyen flavinas y hierro. No se encuentran en las amibas catalasas, peroxidasas u otras enzimas que contengan grupos hemo.

En general, la composición lipídica de la membrana difiere cualitativa y cuantitativamente de las de las células de mamífero, en particular, predominan los lípidos que contienen etanolamina sobre los que contienen colina. Además se encuentra un fosfolípido poco usual, la ceramida aminoetil fosfonato (CAEP), que ha sido demostrada en extractos; así mismo la fosfatidilcolina se encuentra en grandes cantidades.

La CAEP puede otorgar cierta ventaja biológica a las amibas, ya que este compuesto es resistente a la hidrólisis y por ello, las amibas podrían serlo a las enzimas hidrolíticas presentes en el tubo digestivo del huésped y a la acción de enzimas liberadas por el propio parásito.

La superficie de las amibas contiene carbohidratos, tales como residuos de glucosa y manosa. La citoquímica ultramicroscópica ha demostrado la presencia de una cubierta delgada, rica en carbohidratos, que se separa fácilmente de la membrana plasmática. Los receptores de concanavalina A de la superficie amibiana muestran una gran movilidad en el plano de la membrana plasmática.



Los quistes son ingeridos por vía oral y se desenquistan en el íleon terminal; los trofozoitos formados invaden la pared del intestino grueso y generan úlceras. La invasión puede extenderse a otros órganos como el hígado, pulmón y cerebro. El enquistamiento de los trofozoitos ocurre en la luz del intestino grueso y pueden eliminarse por las heces, que a su vez, contaminan el agua o los alimentos y son ingeridos por otro huésped

**ADHERENCIA, ACTIVIDAD QUÍMICA Y
ACTIVIDAD MECÁNICA**

Los mecanismos de interacción huésped parásito se aplican a diversos microorganismos, como bacterias y a otros patógenos, como los protozoarios intestinales. Estos mecanismos son :

- adhesión (receptores del microorganismo y del huésped)
- proliferación local (influencia de la flora nativa, sinergismo y competencia; mecanismos de defensa a nivel de la mucosa)
- invasión tisular (vía de entrada y mecanismos para causar daño) .
- interacción de los patógenos y células del sistema inmune (activación de sistemas efectores, naturaleza de los receptores fagocíticos, productos microbianos que inhiben la actividad de dichas células, etc.)
- diseminación dentro del huésped
- daño tisular (secreción de toxinas, formación de complejos inmunes)
- genética de la respuesta inmune.

SUSTANCIAS QUE FAVORECEN LA ADHESIÓN

Las moléculas del parásito que son responsables de su unión específica con algún componente de la membrana plasmática de la célula huésped se denominan adhesinas. Entre estas se encuentran la proteína rica en serina, la adhesina de 112kDa y las lectinas de 170 y de 220 kDa (62).

Las interacciones carbohidrato-proteína juegan un papel clave en la infección humana por *E. histolytica*. Ravdín y Guerrant describieron por primera vez que una lectina de la superficie celular del trofozoito estaba implicada en la adhesión y muerte al contacto con células y tejidos humanos.

Dicha lectina es específica para galactosa (Gal) y N-acetil-D-galactosamina (GalNAc) y regula la adherencia de los trofozoitos a las glicoproteínas mucínicas del colon, neutrófilos, eritrocitos y ciertas bacterias.

La lectina Gal/GalNAc es un heterodímero formado por una cadena pesada (170 kDa) y una ligera (35/31 kDa) unidas por enlaces disulfuro.

El gen de la cadena pesada (hgl) contiene una señal de secuencia aminoterminal de 15 aminoácidos hidrofóbicos, un dominio extracelular de 1209 aminoácidos con 9 (hgl2) o 16 (hgl1 y hgl3) que son sitios potenciales para la N-glicosilación, y dominios transmembranales y citoplasmáticos de 26 y 41 aminoácidos, respectivamente (62).

Los genes que codifican para las subunidades pesada y ligera son miembros de familias de multigenes constituidas por cinco o siete miembros.

Algunos estudios recientes se han enfocado en la estructura y función de la subunidad pesada, estableciendo que la secuencia TATTTAAA(TATA), la CCAAT y el elemento GAAC se requieren para la total promoción *in vivo*.

La proteína de unión a TATA (TBP) participa de manera importante, ya que es esencial para la iniciación de la transcripción por las 3 clases de RNA polimerasas (RNAP). TBP interactúa con varios factores para formar complejos multiprotéicos que permiten el reclutamiento de otros factores de transcripción para obtener un complejo de reiniciación específico para cada tipo de RNAP (33).

El primer receptor encontrado por la lectina es la capa de mucina del colon en el intestino grueso. Chadee et al demostraron que la unión de la lectina a las mucinas se inhibe por Gal/GalNAc con una gran afinidad. Esta interacción parece ser un proceso dinámico, ya que los trofozoitos pueden inducir la secreción y degradación de las mucinas. La capa de mucina puede proteger al huésped de la citotoxicidad dependiente de contacto que causa el parásito, ya que une y neutraliza la lectina, sin embargo al mismo tiempo sirve de blanco para el ataque y colonización del intestino grueso.

La actividad de la unión lectina-carbohidrato parece ser controlada conformacionalmente. La habilidad para controlar esta actividad puede brindarle al trofozoito un mecanismo para despegarse de las mucinas y las células epiteliales mientras que invade al huésped.

Se ha encontrado que la función de anticuerpos anti-lectina para estimular la adhesión indica que la respuesta inmune humoral en la amibiasis no necesariamente es protectora, y puede facilitar la colonización y/o la invasión (47).

La lectina no solo participa en la adhesión a las células sino también en eventos citolíticos. Utilizando un panel de anticuerpos monoclonales dirigidos a la lectina, se encontró que aquellos que inhibían la adhesión también disminuyeron la citotoxicidad, sin embargo una anti-lectina bloqueó la citotoxicidad después de que la unión ya había ocurrido(47).

La señalización celular provocada por la lectina incluye la demostración de que existe polimerización de la actina intracelular al contacto del trofozoito amibiano con liposomas con glicolípidos Gal-terminales y se ha determinado la rápida endocitosis de las mucinas que han sido unidas por la lectina.

La lectina no solo está involucrada en la adhesión y citotoxicidad sino también en la evasión del sistema de defensa del complemento debido a una mimetización con CD59 humano.

El dominio extracelular rico en cisteína de la subunidad pesada de la lectina tiene semejanza con las integrinas beta 1, el receptor CD59 y los componentes del complemento C8 y C9. Anticuerpos contra este dominio inhiben la adhesión, bloquean la citotoxicidad dependiente de contacto y eliminan la resistencia al complemento (64).

Se ha demostrado que los trofozoitos de *E. histolytica* son resistentes al complejo C5b-9 del complemento. Anticuerpos monoclonales dirigidos contra los epitopos 6 y 7 de la subunidad pesada de la lectina aumentan la sensibilidad de la ameba a la lisis provocada por el suero humano y por C5b-9 purificado. La lectina se une a C8 y C9 purificados, y esta unión es inhibida por anticuerpos bloqueando la resistencia al suero (65).

Los residuos de mucinas de galactosa y N-acetil-D-galactosamina inhiben específicamente la unión de la cadena pesada a las células blanco. Las muestras de mucinas provenientes de colon humano inhiben la adhesión de *E. histolytica* a las células ováricas de hamster chino, mientras que las mucinas de células de adenocarcinoma humano no lo hacen. Estos resultados indican que la heterogeneidad genética y/o la modificación postraduccional en la glicosilación de las mucinas puede afectar la barrera epitelial contra patógenos intestinales (32).

La unión específica de la lectina a células mutantes lec2 CHO de ovario de hamster chino se incrementa debido a un aumento del número de receptores, más que a una disminución significativa de la constante de disociación (70).

Se realizaron experimentos utilizando siete anticuerpos monoclonales contra diferentes epitopos de la subunidad 170kDa, mostrando que tiene diversos efectos en la adhesión. Cuatro inhibieron la adherencia amibiana mientras que los otros dos la incrementaron. Este estudio ha identificado regiones funcionalmente importantes de la lectina (47)

Utilizando PCR (reacción en cadena de la polimerasa), se ha demostrado que el sitio de unión inhibible por galactosa de la lectina se encuentra localizada en una región rica en cisteína de la subunidad pesada (37).

Usando modelos con gerbos, se ha concluido que la lectina es un antígeno protector en el absceso hepático amibiano, ya que la respuesta inmune celular se incrementa después de inmunización y reto con el parásito (80).

Experimentos similares muestran que los linfocitos de sujetos seropositivos anti-amibianos, desarrollan actividad amebicida in vitro al ser incubados por 5 días con la lectina purificada (81).

Entamoeba dispar, amiba no patógena, también posee una lectina Gal/GalNAc, funcionalmente similar a la de E. histolytica, ya que es capaz de mediar la adhesión inhibible a galactosa y la citólisis. Los genes que codifican para la lectina son altamente homólogos a hgl y lgl. Por lo tanto, el papel de esta adhesina en ambas amibas funciona como factor de colonización (46).

La adhesión de leucocitos polimorfonucleares a diferentes cepas patógenas y no patógenas de la amiba se ha estudiado sin encontrar diferencia entre ambas, mostrando que los mecanismos de adhesión defectuosos no son comunes en las cepas no patógenas (12).

Estudios utilizando anticuerpos monoclonales contra la lectina identifican a los aminoácidos 596-1082 como la región funcional que media la adhesión amibiana y estimula la expresión del gen para TNF-alfa y producción de proteínas. Debido a que el TNF incrementa la producción de óxido nítrico, el cual es citotóxico contra *E. histolytica*, esta región estimula la respuesta inmune celular del huésped (82).

Se ha demostrado por medio de microcitofluorometría y técnica de Western Blot, que la subunidad pesada de la lectina comparte un epitopo con las beta 2 integrinas humanas, expresadas en leucocitos. Esta similitud puede explicar la habilidad del trofozoito a unirse e invadir el epitelio del colon (3).

Una proteína de 112kDa está involucrada en la adhesión de los trofozoitos amibianos a su célula blanco, y mediante evidencias experimentales se ha concluido lo siguiente:

- Anticuerpos mono y policlonales que reconocen a esta proteína inhiben la adhesión de los trofozoitos a su célula blanco.
- La proteína está alterada en mutantes deficientes en adhesión
- Tiene afinidad por moléculas presentes en la superficie de las células blanco.

Además esta proteína parece tener también un papel activo en la fagocitosis y en la invasión de los tejidos.

Esta adhesina juega un papel importante en la citopatogenicidad de *E. histolytica*. Se ha encontrado alterada o ausente en mutantes deficientes en fagocitosis y virulencia. Está localizada en el citoplasma y las membranas vacuolares y tiene actividad proteolítica.

La adhesina 112kDa participa en la eritrofagocitosis y se ha demostrado que existe un movimiento activo de la molécula en la fagocitosis y que interviene en la formación del canal fagocítico (27).

Estudios para identificar y localizar el dominio de unión celular en el gen de la adhesina de 112 kDa, concluyeron que este dominio es codificado en el fragmento de DNA de 900 bp en el extremo 3' del gen de la adhesina (26).

Al emplear un anticuerpo monoclonal contra el antígeno mayor de superficie de 66 kDa se obtuvo una disminución en la habilidad para adherirse a eritrocitos y destruir células CHO, por lo que esta molécula tiene una participación importante en la adhesión que precede a la fagocitosis y la citotoxicidad (99).

Experimentos realizados con granulocitos y promielocitos muestran que los trofozoitos de *E. histolytica* se adhieren de igual forma a estos dos tipos celulares, sin la intervención de las moléculas de adhesión CD11b y CD11c de dichos polimorfonucleares (13).

Debido a que la actividad de las glicosidasas se incrementa con las sales biliares, se ha descrito que existe aumento de la actividad de las hidrolasas lumbinales disminuyendo la habilidad de los trofozoitos para adherirse a células epiteliales (96).

ACCIONES ENZIMÁTICAS

Los pasos iniciales en la invasión de tejidos por *E. histolytica* involucran la liberación de proteasas de los trofozoitos las cuales son capaces de degradar diversos sustratos y un péptido formador de poros (denominado ameboporo).

Existen dos hipótesis generales para tratar de explicar el efecto citopático de las amibas sobre las células blanco en los modelos in vitro: lisis mediada por contacto y lisis independiente del contacto. La primera propone que el contacto estrecho entre la membrana del trofozoito y la membrana de la célula blanco es un requerimiento indispensable para que se lleve a cabo la lisis de la célula blanco. Como se ha mencionado, la intervención en este proceso de los elementos del citoesqueleto como la actina y también de las actividades tipo lectina, que, aunque no son directamente responsables del efecto citopático, participan en el reconocimiento célula-célula.

Gránulos electrodensos (GED)

En 1987 se describió que los incrementos en la actividad colagenolítica del trofozoito durante el contacto y degradación de la colágena están acompañados por la formación de unos cuerpos densos presentes en la membrana plasmática con una densidad de 0.01 cuerpos por cada 10 micras de membrana en trofozoitos que no interaccionan con colágena y de 2.11 micras en células activadas con colágena.

Estas estructuras son irregulares en tamaño y forma, con un diámetro promedio de 30-50 micras. La liberación de dichos cuerpos densos ocurre a través de un proceso de gemación. Dicho proceso involucra la separación progresiva de los cuerpos con una cubierta remanente de la membrana plasmática y culmina con la separación de la vesícula.

Posteriormente se detectó que trofozoitos de *E. histolytica* secretaban al medio extracelular unos gránulos electrodensos similares a los ya descritos, excepto que no estaban recubiertos por membrana plasmática. Las preparaciones puras revelaron gránulos con un tamaño entre 800 a 200 nm. Se observó que los gránulos electrodensos contienen 9 actividades de gelatinasas, que también podrían ser críticos durante el curso de la invasión.

Las evidencias apoyan la hipótesis de una interacción entre el citoesqueleto, la secreción de colagenasa, los gránulos electrodensos y la patogenicidad (40).

Algunos experimentos sugieren la ausencia de una membrana plasmática debido a que la actividad de la Na, K- ATPasa no es detectada en preparaciones de GED. Más aún, estos gránulos no contienen ATPasas dependientes de Ca o Mg.

Los GED secretados por *E. histolytica* contienen aproximadamente 25 polipéptidos, de entre los cuales 5 son detectados en GED pero no en extractos totales.

La matriz granular de los GED es un complejo denso de proteínas catiónicas en su mayoría con actividades proteolíticas incluyendo, colagenasa y gelatinasa, así como de actina y pequeñas moléculas como Pi, PP y cationes. La estabilidad de estos gránulos es consistente con la existencia de un almacén complejo para Ca, Pi, PP y proteínas (39).

La interacción de los trofozoitos de *E. histolytica* con la colágena tipo I y Ca induce la secreción de los GED, estabilizando el citoesqueleto. Se ha sugerido que el citoesqueleto y las integrinas tienen un papel importante en la secreción de estos gránulos (57).

Se ha reportado que existe un incremento del mRNA durante la secreción de GED cuando los trofozoitos son activados con colágena tipo I y Ca, el cual puede estar asociado con funciones biológicas (77).

Ameboporos

Entamoeba histolytica puede ser vista como una célula efectora citotóxica con una capacidad extraordinaria de destruir células blanco, y también como un eucariote fagocitante que utiliza a las bacterias como la fuente más importante de nutrición. Por lo tanto, se ha propuesto que las amibas transfieren moléculas citolíticas por exocitosis a la membrana de la célula blanco.

Un polipéptido formador de poros, llamado ameboporo, representa una parte esencial de la maquinaria citolítica amebiana y fue caracterizada por Benkert et al. Existen 3 isoformas (ameboporo A, B y C) cerca de los gránulos citoplasmáticos, las cuales son péptidos de 77 residuos conformados por una estructura en hélice alfa unida por puentes disulfuro.

Los péptidos matan células eucarióticas metabólicamente activas, despliegan actividad antibacterial pero no son eficientes en lisar eritrocitos. El modo de acción de los ameboporos es mediante la permeabilización de la membrana. Los péptidos actúan formando distintos canales iónicos en las membranas de la célula blanco, y por lo tanto, la actividad no depende de la interacción con algún receptor específico de la membrana.

Se han hecho análisis detallados de la estructura y función utilizando el ameboporo A, observándose que los ameboporos son estructural y funcionalmente muy similares a péptidos de gránulos de linfocitos de mamíferos.

Este hallazgo se ha apoyado en que los ameboporos se parecen a la NK-lisina, polipéptido antibacterial y citolítico que se encuentra en células efectoras profesionales del sistema inmune (Natural killers).

Parece ser que los ameboporos de *E. histolytica* destruyen a las células blanco independientemente de altos niveles de Ca (10).

Se han realizado estudios comparando los ameboporos con otros polipéptidos citolíticos que actúan a nivel de membrana encontrándose que son distintos en su funcionalidad, ya que la actividad de los ameboporos es mayor (7).

Debido a esto, las amibas pueden usar a los ameboporos como moléculas efectoras en la reacción citolítica dirigida a un amplio espectro de células eucariotas y también para prevenir el crecimiento bacteriano dentro de sus vacuolas digestivas.

Cisteín-proteasas

Las cisteín-proteinasas (CP) son las proteasas más activas de los trofozoitos de *E. histolytica* y se han propuesto como un factor patogénico importante de las amibas y otros protozoarios parásitos como *Trypanosoma cruzi*, *Plasmodium know-lesj*, *Trichomonas vaginalis* y *Leishmania mexicana*.

Se ha caracterizado las CP amibianas empelando "geles de sustrato" y ensayos con un sustrato específico. Los patrones gelatinolíticos obtenidos muestran que las proteasas amibianas son heterogéneas, con tamaños que van de 16 a 117 kDa, aunque sólo han sido identificados y clonados dos genes que codifican respectivamente CP de 27 y 30 kDa.

Se ha encontrado una correlación directa entre la virulencia, la actividad enterotóxica y la actividad de CP de las amibas. Esta última parece deberse principalmente al aumento de las gelatinasas de 75 y 53 kDa, localizadas en diferentes compartimientos celulares (44).

Se ha reportado que la proteína de 56 kDa representa la principal proteasa secretada por trofozoitos de *E. histolytica*, la cual ha sido descrita como una tiol-enzima con la más alta actividad a pH neutro.

La función de esta cisteín-proteasa parece ser esencial para el daño de la mucosa intestinal y en consecuencia para la capacidad invasiva y la formación del absceso amibiano hepático (92).

Se ha demostrado que una proteasa de 60 kDa pertenece a la clase de las cisteín proteasas debido a las siguientes observaciones: es capaz de degradar péptidos con arginina en la posición P1 y P2 en sustrato fluorogénico y su actividad es inhibida por inhibidores de tiol-proteasas (89).

Las fosfolipasas A son responsables del movimiento de fosfolípidos en la membrana. Por otro lado, las lisofosfolipasas protegen a las células de los efectos líticos de los lisofosfolípidos, productos de la fosfolipasa A.

Se han encontrado dos fosfolipasas A2 la superficie de los trofozoitos de *E. histolytica* que están implicadas en el mecanismo citolítico mediado por contacto de este parásito: una de tipo ácido y otra alcalina, con una actividad máxima a pH 4.5 y 7.5 respectivamente. La alcalina depende de Ca y mientras que la ácida no.

Se ha mostrado que la mayor actividad hemolítica de *E. histolytica*, la cual es máxima a pH 8, con 1 mM de Ca, se localiza en una fracción vesicular subcelular llamada P30, y se debe a la actividad de una fosfolipasa A. Vargas-Villarreal et al. identificaron en P30, actividades de una fosfolipasa A2, fosfolipasa A1, y lisofosfolipasa L1 (93).

Durante la fase citolítica y citotóxica, participan varios componentes parasitarios, tales como las enzimas líticas, proteasas y fosfatasa ácida (AP).

La fosfatasa ácida secretada por *E. histolytica* se produce en altas cantidades durante el intervalo de crecimiento estacionario. Así mismo, son secretadas actividades proteolíticas, y una proteasa de 80-85 kDa se identifica con la fosfatasa ácida (4).

La fosfatasa ácida asociada a membrana (MAP) de *E. histolytica* HM1:IMSS ha sido purificada y caracterizada, concluyéndose que la MAP es una proteína glicosilada cargada negativamente o proteínas que forman un componente de alto peso molecular asociado principalmente con las membranas internas y su óptimo pH es 5.5 (6).

Las proteasas asociadas a la superficie amibiana (SPA) degradan el componente C3, y esta habilidad de evadir el complemento es necesaria para la invasión extraintestinal. Existen evidencias de una correlación entre SPA y actividad colagenolítica, por lo tanto puede considerarse como un marcador de virulencia *in vitro* (8).

Se han localizado también dentro de los gránulos citoplasmáticos una proteína del tipo lisozima con actividad antibacterial.

Se ha detectado una proteína nueva, miembro de la familia de las cisteinproteinasas. Esta proteína, llamada CP5 es hidrofílica y se asocia con la membrana amibiana. Algunos estudios han demostrado que CP5 se encuentra presente en las vesículas granulares y puede encontrarse en diferentes áreas de la superficie de la amiba. Estos hallazgos implican que después de la liberación de CP5 desde los gránulos citoplasmáticos se asocia con la superficie y puede ser retenida.

La localización de la enzima en la superficie de la amiba sugiere que CP5 interviene en la patogénesis y defensa contra factores del huésped (9).

Actividad hemolítica y Eritrofagocitosis

Se conoce que el tipo más importante de célula del huésped con la que el trofozoito interactúa, son los glóbulos rojos (54).

La actividad hemolítica de los trofozoitos de *E. histolytica*, consiste en la capacidad de lisar eritrocitos humanos y no se correlaciona con la virulencia.

Cuando los trofozoitos se retan con globulos rojos, ocurren tres eventos simultáneos:

- actividad hemolítica
- eritrofagocitosis y
- digestión de los eritrocitos.

Las células rojas específicamente pegadas a la superficie amibiana son fagocitados en pocos segundos. Cuando este proceso ocurre, las amibas lisan glóbulos rojos externos y la hemoglobina liberada puede ser detectada en los sobrenadantes de las células participantes. Finalmente, las amibas comienzan la digestión de los eritrocitos fagocitados, tan pronto como son endocitados (54).

La fagocitosis es un proceso mediante el cual la célula internaliza partículas mayores a 0.5 micras dentro de vacuolas por medio de un mecanismo que requiere la polimerización de actina. Es un fenómeno complejo iniciado por la interacción de moléculas de superficie de la célula ingerida y la fagocítica.

Los trofozoitos de *E. histolytica* son fagocitos profesionales con una gran capacidad para internalizar gran variedad de materia particulada y células. Esta actividad se relaciona con la patogenicidad del parásito.

Se han descrito dos diferentes procesos de eritrofagocitosis, uno clásico y uno por succión. La fagocitosis clásica involucra la invaginación de la membrana plasmática, y el mecanismo de succión consiste en que una pequeña porción de la membrana del eritrocito está en contacto con el trofozoito, mientras que su contenido está siendo internalizado.

Existe otro mecanismo, en que el eritrocito se sumerge en la membrana de superficie, sin la formación de invaginaciones membranales y no parece haber participación del citoesqueleto ambiano. La inducción de estos diferentes tipos de eritrofagocitosis depende de la rigidez de la membrana plasmática de la célula blanco (34).

La hemoglobina es una proteína importante de los eritrocitos humanos, por lo tanto, su degradación y utilización es un mecanismo de alta virulencia. Se han identificado tres proteasas de *E. histolytica* que degradan hemoglobina de diferentes fuentes (porcina bovina y humana) con pesos moleculares de 116,82 y 38 kDa y con pH óptimo neutro, que probablemente corresponden a cisteín-proteasas (83).

Otras proteasas amibianas

Se ha demostrado la actividad de hialuronidasa en múltiples cepas de E. histolytica, sin embargo, esta actividad enzimática no se ha relacionado con la patogenicidad. Otras enzimas de la amiba son tripsina, pepsina, gelatinasa, y enzimas hidrolíticas para caseína, fibrina y hemoglobina, las cuales son inhibidas por el suero. E. histolytica tiene una proteasa cetepsina β de 16 kDa, pH óptimo 5.0, inhibida por la macroglobulina beta-2 del suero y que tiene un efecto citopático de liberación celular.

Se ha postulado una citotoxina o enterotoxina de secreción amibiana como un mecanismo que contribuye a la enfermedad en humanos. Sin embargo, los estudios realizados muestran que el daño a la mucosa del colon ocurre solamente en el sitio de adhesión amibiana, pero no excluyen un efecto enterotoxigénico.

Se ha descrito que E. histolytica posee un metabolismo eminentemente anaerobio. Se ha reportado que cultivos de la amiba producen radicales libres que son capaces de causar daño biológico (58).

DEGRADACIÓN Y EFECTO MECÁNICO

La patogenicidad de las amibas es un fenómeno multifactorial y los eventos que ocurren a nivel de la membrana y que participan en la adhesión son importantes para el efecto de destrucción celular final. El entendimiento de los fenómenos celulares y moleculares que ocurren durante la invasión del huésped requiere del conocimiento de la composición química y de las propiedades de la membrana del parásito.

Otro aspecto muy importante en las interacciones huésped-parásito durante el efecto citopático, además de la composición de la membrana, es conocer de qué manera y con qué elementos se arreglan los fenómenos que se presentan en la misma, como son la adhesión, la endocitosis, la redistribución de proteínas de superficie, su movilidad por la emisión de pseudópodos, etc.

Las propiedades de la membrana, y posiblemente la interacción de elementos del citoesqueleto con ella, le confieren al parásito cierto dinamismo. Esto, junto con los diversos factores de virulencia, le dan al trofozoito la capacidad de atravesar la mucosa intestinal y llegar a invadir órganos. En este proceso se requiere también la capacidad de reconocer e interactuar con los componentes de la matriz extracelular y posteriormente degradarlos.

Se sabe que la matriz extracelular juega un papel activo y complejo en la regulación del comportamiento de las células que se encuentran en contacto con ella, influyendo en su desarrollo, migración, proliferación, forma y funciones metabólicas. La matriz extracelular está compuesta por varios tipos de colágena, proteoglicanos y fibronectina.

Proteínas que unen colágena.

En la amibiasis invasora los trofozoitos degradan a las células y al tejido conectivo del huésped. Una de las enzimas líticas liberadas es la colagenasa y su actividad es mayor en aquellas cepas más virulentas. Esta correlación entre actividad colagenolítica y virulencia indica que la colagenasa juega un papel importante en el fenómeno de invasión tisular.

Con el fin de profundizar el conocimiento acerca de esta actividad se ha purificado la enzima. Los resultados muestran que las proteínas capaces de unirse a la colágena pueden degradarla, generando fragmentos de 75, 50 y 25 kDa, también generados cuando la colágena es degradada por trofozoitos vivos. Se ha determinado que esta actividad requiere de un pH neutro, inhibida por EDTA, ortofenantrolina, suero y cisteína, lo que sugiere que se trata de una metaloproteasa.

Mediante experimentos de inmunofluorescencia indirecta se ha mostrado que las proteínas que unen colágena son componentes de la superficie de los trofozoitos. Esta localización fue confirmada mediante experimentos de inhibición de la adhesión de los trofozoitos a fibras de colágena tipo I. Se han aislado tres proteínas de superficie que unen colágena de 105, 56 y 30 kDa de trofozoitos de *E. histolytica* por medio de cromatografía de afinidad, las cuales son capaces de degradar colágena tipo I (36).

Se ha reportado que la interacción de colágena tipo I y Ca^{2+} con trofozoitos amibianos da como resultado una fosforilación de tirosina dependiente del tiempo de un homólogo de pp125 FAK (proteína compleja de peso molecular entre 120 y 130 kDa), lo que sugiere la participación de esta proteína en la vía de señalización traduccional para la expresión de genes en la amiba (61).

Receptor a Fibronectina (FN).

Se ha demostrado que los componentes de la matriz extracelular son degradados por los trofozoitos durante la invasión de la lámina basal y la penetración de la mucosa intestinal. Al unirse los trofozoitos a un sustrato recubierto con FN, el citoesqueleto de éstos se estructura formando las "placas de adhesión". Se propuso entonces que la interacción entre el citoesqueleto y los componentes de la matriz extracelular, en este caso la FN, se estaba dando a través de una proteína de membrana (receptor a FN).

Todos los receptores a FN conocidos en diferentes tipos celulares se han clasificado como integrinas, un amplio grupo de moléculas heterodiméricas (cadena α y β) que funcionan como receptores de adhesión. Estas moléculas receptoras son proteínas integrales de membrana que por uno de sus extremos interaccionan o reconocen componentes de la matriz extracelular y por el otro, componentes del citoesqueleto. Esta proteína tiene un peso molecular de 140 kDa y se localiza en la superficie de los trofozoitos.

Se han identificado dos diferentes proteínas que unen fibronectina en la superficie del trofozoito, de 37 y 140 kDa, lo que sugiere que la interacción con FN es mediada por al menos dos receptores que pueden reconocer diferentes dominios en la molécula de FN.

La FN soluble al unirse a la superficie de los trofozoitos, es degradada y usualmente internalizada. FN y otras proteínas incrementan la unión y las actividades secretorias que llevan a la degradación de sustratos.

Se ha reportado la unión diferencial de los trofozoitos a FN y a fragmentos proteolíticos de FN. En particular, el fragmento de 70 Kda, el cual corresponde a la terminación amino de la molécula, y al fragmento de 120 KDa, que contiene el dominio de unión celular y estimula la adhesión y migración de los trofozoitos.

Los fragmentos derivados de FN estimulan la adhesión y migración de los trofozoitos y en algunos casos, esta estimulación es más alta que en la FN intacta, por lo que la degradación de la FN y otras proteínas de ECM puede ser un factor que promueva la motilidad y locomoción dirigida (25).

La capacidad de locomoción y desplazamiento de las amibas se pueden considerar como parámetros de su patogenicidad.

Se conocen diversas moléculas que tienen capacidad para inducir procesos de motilidad celular. En especial, las proteínas de la matriz extracelular transmiten señales al interior de la célula. Estas a su vez, desencadenan una cascada de respuestas dirigidas a provocar y regular un proceso. Este proceso puede ser tan variado como lo son entre sí la locomoción, la excitosis, cambios de forma, la fagocitosis, la expresión de genes específicos y el metabolismo.

Se ha demostrado que la obstrucción de la interacción de todas las proteínas membranales con sus receptores o ligandos, inhibe la adhesión de las amibas a sus blancos, y por consiguiente, todos los fenómenos de daño celular que suceden.

La presencia de miosina II en las placas de adhesión indica que las funciones del citoesqueleto (CKS) se llevan a cabo en la forma clásica de complejos actina-miosina.

La localización de miosina I, por otro lado sugiere la participación de esta miosina no-convencional en el movimiento de vesículas secretoras en el citoplasma y su posible acumulación en las zonas de contacto membrana amibiana -blanco, de donde se desprenderían para llevar a cabo la lisis o degradación de este último.

Las miosinas I han sido propuestas como mediadores de la movilidad de la base de la membrana dependiente de actina, así como del movimiento de organelos, circulación de vesículas, fagocitosis, pinocitosis, o formación de lamelipodios.

Se ha identificado y analizado el gen que codifica para miosina IB. La comparación entre el último dominio de esta miosina de *E. histolytica* con aquellos de otras amibas muestra la presencia de tres regiones distintas características de miosina no convencional. La región más corta carboxilterminal de la miosina I es capaz de unir actina (95).

Los estudios con mensajeros secundarios han indicado que el calcio y la calmodulina participan en algunas de las vías de transducción e señales activadas por la unión a FN. Se sabe que la redistribución del calcio de compartimientos especiales al citoplasma, es un factor necesario para que se lleve a cabo la unión a FN. Igualmente, la participación de calmodulina y su activación por unión a calcio son factores necesarios para la reorganización de las proteínas del CKS y al formación de placas de adhesión.

Se ha encontrado que las amibas regulan el pH interno utilizando un intercambiador Na/protones y que la unión a FN produce una alcalinización del citoplasma que se revierte una vez que desaparece el estímulo. Estos cambios, son concomitantes con la activación y traslocación de cinasas del citoplasma a la fracción CKS-membrana y con el aumento en actina polimerizada que, a su vez, preceden a la formación de placas de adhesión y a la secreción de proteasas.

Se ha encontrado que tanto los cambios de forma celular, así como el proceso de diferenciación de los trofozoitos a quistes, que implica cambios de forma, motilidad y metabolismo, controlan los niveles de expresión del o los genes de actina. Las señales que inducen la activación de la PKC y el aumento de los niveles de AMPc interno, y que sabemos promueven la polimerización de la actina, estimulan la síntesis intensa del RNAm correspondiente (48).

La unión a fibronectina induce la entrada de Ca en los trofozoitos y la elevación del calcio libre citoplasmático tiene un efecto regulador en la organización del citoesqueleto modificando el equilibrio entre la actina soluble G y la actina polimerizada F. Estudios realizados muestran que existe una correlación entre altos niveles de cAMP intracelular y los cambios que se observan en la organización del citoesqueleto y la transcripción del mRNA para actina (49).

La interacción del parásito con FN también involucra la activación de vías de señales de traducción en las que ocurren fosforilaciones mediadas por la proteincinasa C (PKC) acompañadas por aumento de inositol trifosfato y Ca.

Todos estos eventos están precedidos por una interacción inicial de un receptor para FN acoplado a proteína G, que puede activar algunas enzimas como la adenilato ciclasa y fosfolipasa C (PLC). Por lo tanto, se ha llegado a la conclusión de que las proteínas G y la PLC desempeñan un papel activo en la adhesión de *E. histolytica* a FN (87).

Cambios en las amibas como respuesta al estímulo inducido por FN

MENSAJEROS SECUNDARIOS	EVENTO
AMPc	aumenta
PKC	se transloca a la región CKS-membrana y se activa
Inositol trifosfato	aumenta
Ca ²⁺	sale de compartimientos intracelulares
Calmodulina	se une al calcio
pHi	aumenta
Otras cinasas	se activan y fosforilan varias proteínas
CITOESQUELETO	
Actina	Aumenta la forma polimerizada Se forman placas de adhesión Se asocia a proteínas como a actina, vinculina, tropomiosina y miosinas I y II.
Proteasas	Aumenta la secreción al medio externo
Locomoción	Aunque se adhieren fuertemente al sustrato, al degradarlo se desplazan activamente.

Se han propuesto proteínas de unión a actina para la rápida reorganización del citoesqueleto de *E. histolytica*. Al analizar la secuencia genómica y el cDNA de la amiba, Ebert et al. identificaron un gen de 4,698 nucleótidos que codifica para una proteína de 170 KDa. Análisis con bases de datos reveló que mostraba grandes similitudes con proteínas que unen actina como la gelsolina y la vilina (22).

La migración de *E. histolytica* incluye una serie de fenómenos, incluyendo la extensión de pseudópodos, flujo citoplasmático y retracción del extremo final.

Durante el movimiento, la distribución celular interna de actina cambia como consecuencia de señales de traducción del ambiente. La actina se polimeriza en el extremo donde interactúa como muchas otras proteínas. Por ejemplo, la miosina I y la actina ABP-120 han sido localizadas en los pseudópodos de la amiba.

Adicionalmente, la actina está concentrada en las regiones posteriores de amibas migrantes donde también se ha encontrado miosina II.

El complejo actinmiosina está involucrado en la contracción de la parte final y en la actividad de movimiento del citoplasma, los cuales generan movimiento amibiano. Los cambios morfológicos durante la migración de *E. histolytica* están acompañados de la formación del uroide. Este apéndice de la parte posterior de la célula se forma por invaginaciones de la membrana.

Ligandos de recubrimiento como el complemento, lectinas o anticuerpos anti-amiba se acumulan en el uroide y son eliminados por un constante desprendimiento de la membrana. La eliminación de ligandos tóxicos, contribuye a la sobrevivencia de la amiba.

La regulación del citoesqueleto está bajo el control de pequeñas proteínas de unión a GTP pertenecientes a la familia relacionada con Ras. Estas GTPasas funcionan mediante un ciclo entre una conformación inactiva de unión GDP y una conformación GTP activa. Rac 1, una de estas proteínas, estimula la pinocitosis y la acumulación de filamentos de actina en la membrana plasmática formando membrana arrugadas.

Se ha encontrado que la proteína Rac G está acumulada en la región del uroide, donde otros componentes del citoesqueleto se localizan. Guillén et al. investigaron el papel de esta proteína, mostrando que la sobreexpresión de Eh-Rac G interfiere con la regulación del "encapsulamiento" y/o la formación del uroide. La acumulación de rac G en el uroide sugiere que la polimerización de actina en este apéndice está bajo el control de la vía de señalización de Rac (29).

INMUNIDAD DEL HUÉSPED

INMUNIDAD INESPECÍFICA

Anatómicamente, el tubo digestivo está formado por varias capas; la interna es la mucosa, y determina la "luz" o espacio donde se encuentra el contenido intestinal; la externa es la serosa, capa lisa y brillante formada por el peritoneo. La mucosa está formada por una sola capa de células epiteliales; por debajo de ella se encuentra la lámina propia, con buen número de células maduras efectoras del sistema inmune de las mucosas, que se encargan de la defensa contra las infecciones por los agentes que llegan por la vía oral. Bajo la lámina propia se encuentra la capa submucosa y envolviendo a ésta se halla la capa muscular, formada por músculo liso responsable del peristaltismo, movimiento involuntario del intestino que impulsa el bolo alimenticio.

La respuesta inmune de las mucosas está sujeta a mecanismos únicos, especialmente en cuanto a las funciones de reconocimiento y efectoras. A ella no se aplican ciertos dogmas de la respuesta inmune periférica, especialmente los concernientes al manejo de los antígenos.

Se ha demostrado que las células epiteliales intestinales (CEI) tienen un papel activo en el manejo de los antígenos, ya que pueden expresar moléculas de histocompatibilidad de clase II, las cuales eran consideradas como exclusivas de las células presentadoras de antígeno "profesionales".

Por otra parte, al entrar en contacto con los patógenos adherentes en la mucosa, las CEI secretan interleucina 8, mediador quimiotáctico (44).

Cuando los patógenos adherentes colonizan la mucosa intestinal, sus antígenos son capturados y procesados por los órganos linfoides localizados inmediatamente por debajo de las mucosas, que en el intestino delgado son llamadas "placas de Peyer".

En los últimos años ha quedado claro que la inmunidad local de las mucosas inducida por la infección previa con un patógeno adherente protege mejor y permite respuestas inmunes más rápidas y eficientes contra infecciones subsecuentes por la misma especie de patógeno que la inmunidad sistema inducida por vacunación parenteral.

Las amibas, formas vegetativas o trofozoitos, del parásito Entamoeba histolytica, colonizan y dañan la mucosa del intestino grueso, causando la amibiasis intestinal. De ahí las amibas pueden diseminarse a otros órganos y provocar la amibiasis extraintestinal. A pesar de la gravedad de los casos de la amibiasis extraintestinal, la amibiasis intestinal es la manifestación clínica más frecuente de enfermedad, la fuente de transmisión de la infección y el blanco natural para la vacunación.

Las amibas histolíticas son fundamentalmente invasoras, porque las lesiones que causan consisten en zonas de necrosis alrededor de los sitios colonizados por los parásitos.

Al realizar estudios sobre el efecto de los lisados amibianos sobre preparaciones intestinales se ha encontrado que la señal microscópica más temprana de daño es la formación de vacuolas translúcidas localizadas por debajo de los núcleos de las células epiteliales, seguidas de desprendimiento masivo y ruptura de la capa epitelial.

Dosis bajas inducen las vacuolas subnucleares descritas; con dosis intermedias la capa epitelial comienza a separarse de la lámina propia y existe necrosis incipiente de las células interglandulares; las dosis altas causan descamación masiva y destrucción de las células epiteliales interglandulares (44).

Las barreras contra la infección de parásitos entericos incluye el pH ácido gástrico, enzimas digestivas, competencia con la flora normal y la mucosa que cubre el intestino. El ácido del estómago es una defensa efectiva contra los trofozoitos pero no contra la forma de quiste.

Otro mecanismo de resistencia del huésped es la competencia de la flora bacteriana por el hierro, la producción de metabolitos tóxicos como ácidos grasos de cadena corta y los efectos de las enzimas bacterianas sobre los trofozoitos.

Una defensa no inmune que bloquea la adhesión al epitelio del colon de *E. histolytica* es la destrucción de la lectina específica a galactosa que se encuentra en la superficie amibiana por proteasas pancreáticas, sales biliares y glicosidasas bacterianas.

Las mucinas del colon son otra defensa importante contra la invasión ya que al unirse al dominio que reconoce carbohidratos de la adhesina a galactosa, previenen la adhesión y destrucción de las células epiteliales intestinales.

Se ha demostrado *in vitro*, que la rápida liberación de mucinas preformadas es estimulada por el contacto de la amiba con las células colónicas, aparentemente por medio de un mecanismo dependiente de proteincinasa C (63).

En la lucha inmunitaria participan células con propiedades innatas de destrucción: neutrófilos, macrófagos y las células asesinas naturales (NK).

Los neutrófilos concurren al sitio de la infección, donde fagocitan al invasor, y liberan, mediante suicidio, un arsenal de reactivos tóxicos que destruyen bacterias y parásitos en la zona de inflamación. Entre estos compuestos están las defensinas, que son péptidos de 30 aminoácidos con actividad tóxica para los parásitos.

Se han determinado algunas condiciones en modelos murinos para inducir úlceras amibianas del colon que permitan el análisis del papel de los neutrófilos en la infección intestinal amibiana.

Ratones tratados con anticuerpos anti-neutrófilos muestran una alta frecuencia de lesiones, sugiriendo la importancia de los neutrófilos para limitar el daño tisular (75).

Los macrófagos migran hacia el sitio de infección para capturar al microorganismo, digiriéndolo en sus vacuolas endocíticas mediante enzimas digestivas.

Estas células desempeñan dos funciones fundamentales: eliminación del agente infeccioso mediante fagocitosis y por digestión intracelular, y la degradación de proteínas del parásito a segmentos pequeños de polipéptidos, para ser identificados por los T cooperadores. Estos procesos conducen a la activación de la células T cooperadora, con el objeto de inducir la síntesis y secreción de citocinas.

Las NK destruyen a las células infectadas mediante la actividad digestiva del contenido de los gránulos de secreción y acción de las perforinas.

Otro instrumento importante en la defensa inmune es el sistema del complemento. Está constituido por un conjunto de 23 proteínas cuya función es eliminar microorganismos. La activación de este sistema se da por dos mecanismos: mediante la participación de anticuerpos y a través de la activación directa en la superficie del parásito.

La destrucción del parásito se da por la inserción de un canal formado por las proteínas C5-C9 en la membrana, provocando la desintegración celular. El complemento también aumenta la eficiencia de captura por las células fagocíticas.

La infección por *Entamoeba histolytica* causa daño a las barreras de la mucosa intestinal durante la invasión a tejidos y está asociada con una respuesta inflamatoria del huésped caracterizada por la infiltración de neutrófilos en la capa de la mucosa.

INMUNIDAD ESPECÍFICA

El sistema inmune está constituido por 2×10^{12} células linfocíticas, la mitad de ellas son linfocitos B cuya función es la producción de anticuerpos inducidos por antígenos. Los anticuerpos son proteínas (inmunoglobulinas) que interaccionan de manera específica con el microorganismo y sus toxinas. La otra mitad son los linfocitos T que fueron reclutados en el timo durante la edad temprana del individuo. Allí se someten a un proceso de enseñanza que les habilita para reconocer a los antígenos extraños y distinguirlos de los propios.

Los linfocitos T y B son errantes entre los tejidos del cuerpo en la mayor parte del tiempo, manteniendo una vigilancia continua en busca de antígenos derivados de los microorganismos o tumores. Los linfocitos producen sustancias que interfieren con la infección. Estas sustancias conocidas como citocinas estimulan la propagación, diferenciación y maduración celular, con el propósito de hacer más eficiente la actividad de defensa mediada por células. Las citocinas regulan concertadamente la activación e inhibición de diversas funciones microbidas de diferentes células del sistema inmune.

La identificación del antígeno se puede dar mediante el receptor de las células B (inmunoglobulinas de superficie) induciendo la producción de anticuerpos que reaccionan específicamente con el patógeno.

Las células T portan en su superficie el TCR que reconoce segmentos de péptidos de 9 a 12 aminoácidos derivados de la degradación de los microorganismos en el interior de los macrófagos.

Las células T activadas están constituidas por diversas subpoblaciones, unas gobiernan los procesos inmunes (Tcooperadoras), mientras que otras (T citotóxicas) conducen la destrucción de células infectadas por parásitos.

Para el reconocimiento y la inducción de la respuesta inmune participan cuatro tipos de receptores celulares para antígenos: inmunoglobulinas, TCR, complejo mayor de histocompatibilidad I (MHC I) y MHCII. MHC-I se encuentra en todas las células del organismo, mientras que MHCII en células presentadoras de antígeno.

Los anticuerpos reconocen por lo general a los antígenos íntegros, mientras que las células T únicamente fragmentos lineales de las proteínas.

Las citocinas son, por lo menos, 18 proteínas encargadas de la comunicación intercelular, de promover la propagación celular, la conversión a células con facultad en citotoxicidad, mantener el equilibrio de funciones celulares, lograr la eliminación correcta del microorganismo y reparar el tejido dañado.

La continua interacción entre el trofozoito y el huésped ha permitido el desarrollo de mecanismos eficaces de defensa, pero también se han generado diversas tácticas de evasión de la amiba al rechazo inmune.

Para ello el sistema inmune también ha desarrollado una diversidad de mecanismos dirigidos por las células T que, a pesar de ser incapaz de eliminar completamente la infección, no permite una elevada mortalidad por amibiasis.

INMUNIDAD HUMORAL

Producción de anticuerpos.

A consecuencia de la infección amibiana en el humano, se generan anticuerpos contra el parásito en niveles elevados. Estos anticuerpos se encuentran en todos los fluidos biológicos del organismo y contribuyen al balance entre la infección y el rechazo. En el modelo de absceso amibiano en ratones SCID se ha observado que al inocular en el hígado anticuerpos contra una de las proteínas de superficie amibiana (antígeno SREHP) no se desarrolla el absceso amibiano. En cambio, en los ratones que no recibieron anticuerpos se originó el absceso. También se observó que los anticuerpos que inhiben la adhesión del trofozoito a monocapas de cultivo celular son competentes para prevenir el desarrollo del absceso.

Contrariamente a estos resultados, Tsutsumi y su grupo observaron que los anticuerpos fueron ineficaces para impedir la formación de abscesos en el modelo del hámster. Calderón et al. encontraron que los anticuerpos de pacientes con amibiasis contrarrestan la adhesión el trofozoito a monocapas celulares, reduciendo el daño en el tejido (18).

La subunidad pesada de 170 kDa de la lectina Gal/GalNAc es el antígeno más reconocido por el sistema inmune. Los anticuerpos anti-lectina impiden la adhesión in vitro y la destrucción de células.

Otros antígenos incluyen las glicoproteínas de superficie de 37 y 90 kDa y la glicoproteína citoplasmática de 59 kDa.

El desarrollo de la respuesta humoral no provoca resolución espontánea de colitis amibiana o absceso hepático, pero sí contribuye a la resistencia de subsecuentes enfermedades invasivas.

Una de las defensas específicas más importante contra *E. histolytica* es la respuesta secretora IgA. De hecho, durante la amibiasis, los anticuerpos IgA contra el parásito se secretan en fluidos humanos como secreciones del colon, saliva y calostro.

Los anticuerpos IgA inhiben la adhesión de los trofozoitos a células epiteliales, impidiendo su destrucción.

Debido a la memoria inmunológica por infecciones pasadas, la glándula mamaria secreta durante la lactancia anticuerpos contra patógenos que han infectado a la madre los cuales son recibidos por el niño. Debido a que en México la amibiasis es endémica, se espera que la frecuencia de anticuerpos contra este protozoario en el calostro humano sea alta.

Anticuerpos IgA purificados de calostro humano tienen efecto inhibitor sobre la actividad proteolítica de *E. histolytica* (72).

Una glicoproteína de 35 kDa de la membrana de *E. histolytica* parece ser relevante en la respuesta inmune de humanos.

Esta proteína es muy sensible para detectar anticuerpos y discriminar si la amibiasis está presente o no. Así mismo, se ha encontrado una respuesta inmune secundaria a la proteína en el suero de pacientes con absceso hepático amibiano caracterizada por anticuerpos IgG e IgA (21).

Complemento.

Para indagar si el sistema del complemento participa en el rechazo de la amiba se ha analizado si el suero humano afecta a los trofozoitos, observándose que tanto el suero carente de anticuerpos anti-amiba como el suero inmune poseen la propiedad de desintegrar a la amiba mediante la activación del complemento por la vía clásica. De manera análoga se ha demostrado que el parásito también es destruido mediante la activación del complemento por la vía alterna.

También se ha observado que , al pegarse C3 del complemento a la superficie de la amiba, se convierte a C3b, confiriendo una señal en las amibas mediante la cual pueden ser reconocidas por macrófagos a través de sus receptores para los elementos del complemento.

Al analizar estas reacciones se ha encontrado que se asocian a la superficie del trofozoito 35 millones de moléculas C3b, convirtiendo a las amibas en un blanco muy atractivo para el ataque de los macrófagos (44).

Participación de Interleucinas.

La IL-8, una quimiocina de la familia C-X-C, tiene la capacidad de atraer y activar neutrófilos y puede jugar un papel crucial en la regulación del acúmulo de neutrófilos en la mucosa intestinal.

El mecanismo involucrado en regular la producción de IL-8 requiere el contacto amiba-célula y la liberación de IL-1 preformada a partir de células lisadas, las cuales ejercen efecto en las células intactas remanentes (100).

Se han realizado estudios para comprobar si *E. histolytica* causa la inducción de IL-8 a partir de células epiteliales en la ausencia de contacto célula-célula, encontrándose que los componentes solubles amibianos pueden estimular directamente la inducción de esta citocina sin el mencionado contacto o lesión.

Por lo tanto, la liberación de IL-8 a partir de células de la mucosa epitelial en respuesta contra *E. histolytica* juega un nuevo papel en la iniciación de la inflamación aguda del huésped en la amibiasis intestinal antes de que ocurra el contacto célula-célula o una lesión que lleve a colitis amibiana (100).

Ciertas citocinas como la IL-1, IL-6 y el factor de necrosis tumoral (TNF) se consideran importantes inductores y reguladores de la respuesta de fase aguda.

Por otra parte, los pacientes con absceso hepático amibiano muestran en el suero elevados niveles de otros marcadores de fase aguda como C3, proteína C-reactiva y albúmina disminuída, indicando el desarrollo de una respuesta inflamatoria del hígado.

Experimentos para identificar citocinas en el suero de pacientes con absceso hepático amibiano muestran la ausencia de $TNF\alpha$ e IL-1, sugiriendo la acción de un mecanismo regulador que disminuye la concentración sistémica de estas citocinas inflamatorias durante la fase aguda cuando la inflamación y la destrucción de tejido se presentan.

In vitro, tanto el TNF como la IL-1 muestran una acción anti-proliferativa en hepatocitos humanos, por lo tanto, se infiere que la ausencia de estas citocinas podría conferir una ventaja homeostática al tejido hepático dañado por la infección.

Por el contrario, el estudio muestra una alta concentración sistémica de IL-6. Esta citocina tiene un efecto proliferativo en los hepatocitos. Se sugiere que la IL-6 tiene un papel primario a nivel sistémico como responsable de las manifestaciones tóxicas y febriles del absceso hepático amibiano y localmente, a nivel tisular contribuye a la regeneración homeostática del tejido dañado por el parásito (52).

INMUNIDAD CELULAR

Los antígenos inducen una respuesta inmunológica en las placas de Peyer, caracterizada por la diferenciación y proliferación de linfocitos, con actividad citotóxica o capacidad de producir anticuerpos contra los antígenos de los agentes infecciosos que los inducen.

Los linfocitos estimulados por los antígenos son captados y procesados en las placas de Peyer y en los órganos linfoides correspondientes de la mucosa respiratoria, genitourinaria y otras, emigran primero a través de los vasos y los ganglios linfáticos, luego pasan a la circulación general, y ya maduros se establecen en la lámina propia, capa subyacente a la mucosa, en las diferentes regiones de los aparatos digestivo, respiratorio y genitourinario, y en las glándulas salivales, lacrimales, etc.

Mediante la inoculación de amibas a ratones por la vena porta a fin de facilitar su migración al hígado, se encontró la formación abscesos amibianos en el hígado de ratones SCID (ratones con inmunodeficiencia aguda, que carecen de linfocitos B y T), pero no hubo abscesos en el grupo de ratones normales. Estos hallazgos sugieren que por carecer de linfocitos, los ratones SCID no poseen función defensora, lo cual demuestra que éstos conducen la respuesta inmune contra la amibiasis hepática (18).

Diversos estudios *in vitro* e *in vivo*, han mostrado que el macrófago activado y los eosinófilos están involucrados en la destrucción de la amiba. Sin embargo, en los estudios con ratones SCID no se vio la acción del macrófago para limitar el absceso hepático, lo que podría sugerir su nula participación. Pero se debe tener en mente que para lograr una protección eficaz se requiere de la activación del macrófago por efecto de las citocinas generadas principalmente por los linfocitos T cooperadores, funciones que en el ratón inmunodeficiente están suprimidas (18).

Se ha sugerido que en estadíos tempranos de infección en el hígado, las amibas atraen células inflamatorias que destruyen el parénquima humano después de la lisis. En etapas avanzadas, la destrucción de tejido se vuelve mayor, produciendo áreas extensas de necrosis asociadas con reacciones inflamatorias. Por lo tanto, algunos factores producidos por células del huésped participan en el desarrollo de la necrosis.

Uno de los factores que puede participar en el daño tisular es el óxido nítrico, que es producido por macrófagos, neutrófilos, células endoteliales o hasta hepatocitos cercanos a amibas. Por lo tanto, el (NO) no necesariamente inhibe la proliferación del parásito, como se ha mostrado en estudios *in vitro*, sino por el contrario la sobreproducción de (NO) por células inflamatorias o células dañadas del hígado contribuyen a la extensión del absceso hepático amibiano.

Los hamsters con absceso hepático amibiano producen (NO) que se detecta en suero. Los niveles de (NO) se correlacionan directamente con el grado de daño hepático, sugiriendo que esta molécula participa en el daño tisular (60).

Se ha reportado que en un estudio con ratones BALB/c, *E. histolytica* es capaz de producir daño hepático en la ausencia de células inflamatorias y éstas tiene un papel de protección parcial en la infección amibiana (97).

La destrucción de los trofozoitos de *Entamoeba histolytica* por fagocitos involucran mediadores oxidativos y no oxidativos. Se ha demostrado que el (NO) es la molécula con mayor citotoxicidad liberada por macrófagos activados y el oxígeno y el peróxido de hidrógeno pueden ser cofactores para la molécula efectora (42).

Se ha estudiado el destino y la localización celular de proteínas antigénicas amibianas durante estadíos tempranos de invasión al hígado de hamsters por *E. histolytica*, encontrándose que los trofozoitos son capaces de liberar o secretar moléculas antigénicas durante la invasión y estas moléculas son capturadas por células sinusoidales y parenquimales hepáticas (98).

Debido a que la mayoría de los hepatocitos que contienen antígenos amibianos en el citoplasma presentan diferentes grados de daño celular, se ha planteado que los antígenos pueden ser dañinos.

Por otra parte, el antígeno amibiano en las células endoteliales constituye una señal para secretar otras sustancias por el endotelio, que pueden actuar como moléculas proinflamatorias (98).

El análisis morfológico secuencial muestra que la invasión amibiana desde la cavidad peritoneal al parénquima hepático es precedida por una reacción aguda inflamatoria producida por los parásitos en la cavidad peritoneal.

En la cavidad peritoneal, las células inflamatorias rodean e interactúan con los trofozoitos formando elongados y pequeños foci que se adhieren y contactan con la superficie del hígado. El daño al tejido parenquimal está asociado con la presencia de un infiltrado agudo y crónico inflamatorio, la formación de granulomas, coalescencia y producción de áreas extensas de necrosis (86).

EVASIÓN INMUNOLÓGICA

EVASIÓN DEL COMPLEMENTO

Entamoeba histolytica tiene varios mecanismos que le permiten evadir las actividades líticas y anafilatóxicas del complemento, favoreciendo la invasión de la mucosa intestinal y la diseminación a sitios extraintestinales, como el hígado.

Se ha demostrado el potencial del parásito para prevenir las propiedades vasodilatadoras y quimiotácticas de los componentes del complemento C3a y C5a (producidos por activación de la cascada del complemento), ya que éstos son degradados por la cisteín-proteasa ambiental. La inhibición de la lisis por complemento en los pasos terminales del ensamblaje de C8 y C9 para formar el complejo de ataque a membrana se lleva a cabo in vitro por la adhesina específica a galactosa del parásito. Se ha reportado que la lectina comparte secuencia de identidad (en el dominio rico en cisteína de la subunidad de 170 kDa) y cruza antigénicamente con CD59, un inhibidor humano del ensamblaje de C8 y C9.

El dominio extracelular rico en cisteína es el sitio al que se unen anticuerpos monoclonales que inhiben e incrementan la adhesión y causan anulación de la resistencia C5b-9 (18).

FACTOR INHIBIDOR DE LA LOCOMOCIÓN DE MONOCITOS

Entamoeba histolytica secreta un factor inhibidor de la locomoción de monocitos (MLIF), pequeño y estable al calor, que bloquea la respiración de macrófagos y neutrófilos e inhibe la migración de monocitos (63).

In vivo, se ha observado que el MLIF retarda la llegada de leucocitos mononucleares (la mayoría monocitos). Al agregar MLIF a una reacción de hipersensibilidad tardía de contacto cutáneo, caracterizada por causar infiltración de monocitos se observa que este factor inhibe de manera efectiva los componentes tardíos de la reacción inflamatoria. Es decir, actúa a nivel de marginación, adhesión y diapédesis de monocitos en el espacio intersticial (36).

FORMACIÓN DE CASQUETE

Una de las características del trofozoito es el enorme dinamismo de su membrana, posee un reciclamiento continuo con membranas intracelulares y una marcada movilidad de las proteínas de superficie. Cuando los anticuerpos se unen a la amiba, se forman entrelazados con los antígenos, los cuales son movilizados para formar un casquete polar evaginado, acarreado con ello la mayoría de los anticuerpos. Minutos después se desprende del trofozoito. Este fenómeno de exfoliación es un mecanismo importante de evasión de la amiba al efecto nocivo del anticuerpo (18).

Por lo tanto, a pesar de que durante la infección con *E. histolytica* se desarrolla una respuesta de anticuerpos específicos, éstos no son protectores.

DEGRADACIÓN DE ANTICUERPOS

La cisteín-proteasa, la proteasa extracelular más importante, es capaz de hacer hendiduras en la cadena pesada de IgG mono y policlonales en la fase fluida de una manera dependiente de tiempo y dosis. Los anticuerpos irrumpidos no pueden unirse a la superficie del trofozoito.

Se ha demostrado que la eficiencia de la respuesta humoral del huésped puede estar limitada por esta acción de la cisteín-proteasa contra anticuerpos IgG (79).

De la misma forma, se ha descrito que las cisteín-proteasas tienen una potente actividad degradativa sobre anticuerpos IgA (69).

SUPRESIÓN DE LA INMUNIDAD CELULAR

Las infecciones por Entamoeba histolytica están asociadas con supresión de la inmunidad celular. Los macrófagos de animales infectados con la amiba son deficientes en funciones efectoras. Se sabe que la amiba modula la respuesta de macrófagos provenientes del absceso hepático amibiano mediante el decremento en la producción de TNF.

Los niveles de TNF aumentan en estos macrófagos cuando son pretratados con r-IFN gamma o con indometacina. Más aún, los macrófagos derivados del absceso amibiano hepático producen niveles elevados de prostaglandina E (PGE) en respuesta a E. histolytica, *in vivo* e *in vitro*.

La amiba suprime la síntesis de la molécula de superficie "1a" en macrófagos inducida por IFN y la expresión de RNAm-labeta por un mecanismo dependiente de PGE. Las evidencias muestran que el PGE puede regular la respuesta inmune celular particularmente en infecciones parasitarias.

La infección con trofozoitos de E. histolytica induce un incremento significativo en la síntesis de PGE, local y sistémico.

El PGE es un agente modulador que puede tener efectos particulares en diferentes tipos de células. Induce la proliferación celular y la producción de inmunoglobulinas y tiene un efecto sinergista con IL-4 (citocina TH2) para aumentar la producción de IgE e IgG.

Puede modular las funciones del macrófago, suprimiendo la producción de citocinas TH1 (IL-2 e IFN-g) e inhibir la proliferación de células T por mitógenos. Se ha reportado que durante la infección, existe una supresión de la función del macrófago mediada por PGE (78).

Se ha sugerido que la amiba puede tomar ventaja de estímulos inflamatorios como son IL-1 e IFN-gamma ya que éstos incrementan la unión al epitelio del colon (24).

CONCLUSIONES

La vacunación es uno de los medios más eficaces y baratos para prevenir las enfermedades infecciosas. Sin embargo, el desarrollo de nuevas vacunas que ayuden a prevenir las enfermedades de mayor incidencia en los países pobres está prácticamente paralizado porque el mercado de fármacos nuevos es mucho más lucrativo que el de vacunas.

El desarrollo de vacunas orales eficaces contra patógenos adherentes depende de avances en el conocimiento de dos áreas clave:

- a) la inmunidad de las mucosas y
- b) los mecanismos patogénicos de los agentes infecciosos, particularmente la identificación y caracterización de los factores moleculares que provocan las alteraciones estructurales y metabólicas en las enfermedades infecciosas. Estos probablemente pudiesen servir como antígenos en las vacunas correspondientes.

En los últimos años ha quedado claro que la inmunidad local de las mucosas inducida por la infección previa con un patógeno adherente protege mejor y permite respuestas inmunes más rápidas y eficientes contra infecciones subsecuentes por la misma especie de patógeno que la inmunidad sistémica inducida por vacunación parenteral.

Un primer paso para abordar el problema de la amibiasis es la identificación de una batería de antígenos amibianos que estimulen en el humano las respuestas dirigidas por células inmunes, por ejemplo en antígeno SREHP y la adhesina P170 que se encuentran en la superficie de la amiba.

El análisis morfológico que se ha hecho de las etapas tempranas de la infección hepática amibiana en varios modelos experimentales, tanto los considerados susceptibles como los considerados resistentes, ha proporcionado información importante referente a las componentes celulares del huésped que podrían estar participando tanto en la destrucción del tejido hepático o durante el rechazo de la infección parasitaria.

Tanto las proteínas que unen colágena como la proteína de 140 kDa que funciona como receptor a la fibronectina son moléculas involucradas en el proceso invasivo. Moléculas como la lectina de 220 kDa pueden cumplir una doble función: por una parte convertirse en blanco y , a la vez, modulador de la respuesta inmune del huésped, y por otro, participar de manera importante en el fenómeno de adhesión, paso crucial en la interacción huésped-parásito que finalmente permitirá a los trofozoitos iniciar todo su mecanismo de invasión.

En los diferentes aspectos de la patogenicidad de las amibas se requiere de la motilidad coordinada del parásito.

Esto se refleja tanto en la locomoción de los trofozoitos como en su adhesión y en los movimientos dentro del citoplasma que aseguran la secreción de proteasas y la fagocitosis. La motilidad en sus diversas manifestaciones depende de la integridad y funcionamiento del citoesqueleto.

A partir de los genes que codifican para los gránulos electrodensos se pretende insertar éstos en sistemas de expresión que ofrezcan la posibilidad de modificaciones postraduccionales, como son las levaduras y las células de mamífero, a fin de obtener inmunógenos en cantidades ilimitadas y probar su eficiencia en modelos animales que posteriormente puedan ser retados a amibiasis intestinal o inducción de absceso hepático amibiano. Además se puede pensar en la obtención de una vacuna a partir de una cepa atenuada de *Salmonella* con doble mutación que permita la expresión de los genes de los gránulos electrodensos en el tracto digestivo y la inducción de una primera respuesta inmune a nivel de mucosas, antes de que el parásito penetre las células epiteliales.

La adhesina de 112 kDa parece tener también un papel activo en la fagocitosis y en la invasión de los tejidos, lo que la hace muy atractiva para tratar de desarrollar métodos que bloqueen la acción de esta molécula y que, por lo tanto, bloqueen el proceso agresor de *Entamoeba histolytica*.

Sin embargo, a pesar de los esfuerzos por desarrollar nuevas vacunas y la utilización de fármacos, la amibiasis sigue siendo un problema muy importante de salud pública en nuestro país, ya que la pobreza y la falta de higiene están siempre presentes.

La prevención del contacto con la amiba podría ser la forma más eficaz de evitar el desarrollo de la enfermedad. Para lograr esto, se debe conscientizar a la población para que mejore sus hábitos de higiene.

BIBLIOGRAFÍA

- 1.- Abd-Alla M., el-Hawey A., Ravdin J.; "Use of an enzyme-linked immunosorbent assay to detect anti-adherence protein antibodies in sera of patients with invasive amebiasis in Cairo, Egypt"; *Am J Trp Med Hyg*, 47(6), 1992, pp.800-4.
- 2.- Abd-Alla M., Jackson T., Gathiram V.; "Differentiation of pathogenic *Entamoeba histolytica* infections from nonpathogenic infections by detection of galactose-inhibitable adherence protein antigen in sera and feces"; *J Clin Microbiol*, 31(11), 1993, pp.2845-50.
- 3.- Adams S., Robson S., Gathiram V.; "Immunological similarity between the 170 kDa amoebic adherence glycoprotein and human beta 2 integrins"; *Lancet*, 341, 1993, pp.17-9.
- 4.- Aguirre M., Rosales J., Talamás P.; "Secreted *Entamoeba histolytica* acid phosphatase (SAP)"; *Arch Med Res*, 28, 1997, pp.S184-S185.
- 5.- Agundis C., Blanco F., Zenteno E., Linares M.; "Cross reactivity of mouse monoclonal antibodies to glycoprotein with two different antigens from the outer membrane of *Entamoeba histolytica*"; *Arch Med Res*, 28, 1997, pp.S239-S241.
- 6.- Anaya M., Rosales J., Talamás P.; "Membrane acid phosphatase (MAP) from *Entamoeba histolytica*"; *Arch Med Res*, 28, 1997, pp. S182-S183.
- 7.- Andrä J., Berninghausen O., Leippe M.; "Potency of amoebapores compared to that of other membrane-permeating peptides"; *Arch Med Res*, 28, 1997, pp.S156-S157.
- 8.- Araiza L., Avila e., Muñoz M., Arias S.; "*Entamoeba histolytica*: role of surface proteases on its virulence"; *Arch Med Res*, 28, 1997, pp.S175-S177.
- 9.- Benkert C., Jabobs T., Berninghausen O.; "Molecular basis of aggressive and defensive functions of *Entamoeba histolytica*"; *Arch Med Res*, 28, 1997, pp.S152-S153.
- 10.- Berninghausen O., Leippe M.; "Calcium-independent cytolysis of target cells induced by *Entamoeba histolytica*"; *Arch Med Res*, 28, 1997, pp.S158-S160.
- 11.- Bhattacharya A., Anand M., Paul J, Yadav N.; "Molecular changes in *Entamoeba histolytica* in response to bacteria"; *J Eukaryot microbiol*, 45(2), 1998, pp.28S-33S.

- 12.- Burchard G., Bilke R.; "Adherence of pathogenic and non-pathogenic Entamoeba histolytica strains to neutrophils"; Parasitol Res, 78(2), 1992, pp.146-53.
- 13.- Burchard G., Moslein C, Bratting N.; "Adherence between Entamoeba histolytica trophozoites and undifferentiated or DMSO-induced HL-60 cells"; Parasitol Res, 78(4), 1992, pp.336-40.
- 14.- Burchard G., Prange G.; "Serum-independent and serum-dependent cytoadherence in the interaction of Entamoeba histolytica with mammalian target cells"; Int J Parasitol, 23(3), 1993, pp.365-73.
- 15.- Burchard G., Prange G., Mirelman D.; "Interaction of various Entamoeba histolytica strains with human intestinal cell lines"; Arch Med Res, 23(2), 1992, pp.193-5.
- 16.- Burchard G., Prange G., Mirelman D.; "Interaction between trophozoites of Entamoeba histolytica and the human intestinal cell line HT-29 in the presence or absence of leukocytes"; Parasitol Res, 79(2), 1993, pp.140-5.
- 17.- Bruchhaus I., Richter S., Tannich E.; "Characterization of two E. histolytica proteins that inactivate reactive oxygen species"; Arch Med Res, 28, 1997, pp.S91-S92.
- 18.- Calderón J., Velázquez C.; "Las defensas inmunes en la infección amibiana"; Avance y Perspectiva, 14, 1995, pp.97-101.
- 19.- Carrero J., Petrossian P., Sánchez M., Lacleite J.; "A new isoform of the serine-rich E. histolytica protein recognized by human secretory IgA antibodies from patients with intestinal amebiasis"; Arch Med Res, 28, 1997, pp.S259-S261.
- 20.- Connaris S., Greenwell P.; "Glycosidases in mucin-dwelling protozoans"; Glycoconj J, 14(7), 1997, pp.879-882.
- 21.- Chávez K., Agundis C., Cervera H.; "Identification of an idiotype on mouse monoclonal antibody directed to a 35 kDa glycoprotein from Entamoeba histolytica"; Arch Med Res, 28, 1997, pp.S242-S244.
- 22.- Ebert F., Bub H.; "Molecular cloning of an Entamoeba histolytica gene encoding a polypeptide with similarities to actin-binding proteins"; Arch Med Res, 28, 1997, p. S136.
- 23.- Escandón C, Treviño, N, Escobedo de la Peña J.; "La amibiasis y el absceso hepático amibiano en México, un problema de salud pública de actualidad"; Rev Gastroenterol Méx, 61 (4), 1996, pp. 378-386.

- 24.- Flores L., Bacon K., Estrada T.; "A fluorescence-based quantitative adhesion assay to study interactions between Entamoeba histolytica and human enterocytes. Effect of proinflammatory cytokines"; J Immunol Methods, 166(2), 1993, pp. 243-250.
- 25.- Franco E., Vazquez J., Meza I.; "Adhesive and chemotactic properties of fibronectin and fibronectin-derived fragments on Entamoeba histolytica trophozoites"; Arch Med Res, 28, 1997, pp. S161-S163.
- 26.- García G., Avila A., Ayala P.; "Identification and location of the cell-binding domain in the 112 kDa adhesin gene of Entamoeba histolytica"; Arch Med Res, 28, 1997, pp.S164-S165.
- 27.- García G., Arroyo R., Mena R.; "Involvement of the 112 kDa adhesin in Entamoeba histolytica phagocytosis"; Arch Med Res, 28, 1997, pp.S166-S167.
- 28.- Gilchrist C., Mann B., Petri W.; "Control of ferredoxin and Gal/GalNAc lectin gene expression in Entamoeba histolytica by a cis-acting DNA sequence"; Infect Immun, 66(5), 1998, pp.2383-2386.
- 29.- Guillén N., Sansonetti P.; "Rac G, a small GTPase, regulates capping of surface receptors in Entamoeba histolytica" Arch Med Res, 28, 1997, pp.S129-131.
- 30.- Gimenez J.A., Rico G., Fernández J.; "Inhibition of contact cutaneous delayed hypersensitivity reactions to DNBC in Guinea Pigs by the monocyte locomotion inhibitory factor (MLIF) produced by axenically grown Entamoeba histolytica"; Arch Med Res, 28, 1997, pp.S237-S238.
- 31.- Gómez A., Martínez M., Garduño J., Valadez A.; "Humoral immune response to E. histolytica/E. dispar during the first year of life. A cohort study"; Arch Med Res, 28, 1997, pp.S325-S326.
- 32.- Gottke M., Keller K., Belley A., García R.; "Functional heterogeneity of colonic adenocarcinoma mucins for inhibition of Entamoeba histolytica adherence to target cells"; J Eukaryot Microbiol, 45(2), 1998, pp.17S-23S.
- 33.- Hernández R., Luna J., Orozco E.; "Comparison of the Entamoeba histolytica TATA-binding protein (TBP) structure with other TBP"; Arch Med Res, 28, 1997, pp.S43-S45.
- 34.- Herrera D., Espinosa Ma., Martínez A.; "Erythrophagocytosis by Entamoeba histolytica"; Arch Med Res, 28, 1997, pp.S197-S199.

- 35.- Jackson T.; "*Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* are distinct species clinical, epidemiological and serological evidence"; Int J Parasitol, 28(1), 1998, pp.181-186.
- 36.- Jiménez B., Rosales J.; "*Entamoeba histolytica*: partial cloning and expression of cDNAs encoding a 30 kDa collagen-binding protein"; Arch med Res, 28, 1997, pp. S173-S174.
- 37.- Kain K., Ravdin J.; "Galatose specific adhesion mechanisms of *Entamoeba histolytica*: model for study of enteric pathogens"; Methods in Enzimology, 253, 1995, pp.424-439.
- 38.- Kelsall B., Ravdin J.; "Immunization of rats with the 260 kDa *Entamoeba histolytica* galactose-inhibitible lectin elicits an intestinal secretory immunoglobulin A response that has *in vitro* adherence-inhibitory activity"; Infect Immun, 63(2), 1995, pp. 686-689.
- 39.- Leon G., Fiori C., Das P., Moreno M.; "Electron dense granules and the pathogenesis in *Entamoeba histolytica*"; Arch Med Res, 28, 1997, pp.S188-S189.
- 40.- León G., Moreno M., Tovar R., Baylon L.; "Los gránulos electrodensos y la patogenicidad en *Entamoeba histolytica*"; Avance y Perspectiva, 14, 1995, pp.120-126.
- 41.- Leroy A., Bruyne G., Mareel M.; "Transfer of the Gal/GalNac-Specific amebic lectin from trophozoites to frozen sections of human colon mucosa"; Arch Med Res, 28,1997, pp.S170-S172.
- 42.- Lin J., Chadee K.; "Macrophage cytotoxicity against *Entamoeba histolytica* trophozoites is mediated by nitric oxide from L-arginine"; J Immunol, 148(12), 1992, pp.3999-4005.
- 43.- López R., Bermudez C., Chávez L.; "Preservation of cysteine proteinases and othe *Entamoeba histolytica* proteins from autoproteolysis"; Arch Med Res, 28, 1997, pp. S130-S105.
- 44.- López R.,Navarro F., Chávez L.; "Avances en la amibiasis intestinal"; Avance y Perspectiva, 14, 1995, pp.75-87.
- 45.- MannB., Chung C., Dodson J., Ashley L.; "Neutralizing monoclonal antibody epitopes of the *Entamoeba histolytica* galactose adhesin map to the cysteine-rich extracellular domain of the 170-kDa subunit"; Infect Immun, 61(5), 1993, pp.1772-8.

- 46.- Mann B., Dodson J., Schroeder J.; "Structure and function of the galactose/N-acetyl D-galactosamine inhibitable adhesin of Entamoeba dispar"; Arch Med Res, 28, 1997, pp.S-168-S169.
- 47.- Mann B., Lockhart L.; "Molecular analysis of the Gal-galNAc adhesin of Entamoeba histolytica"; J Eukaryot Microbiol, 45(2), 1998 pp.13S-16S.
- 48.- Manning R., Meza I.; "Señales celulares y citoesqueleto en Entamoeba histolytica: reguladores de motilidad e invasión"; Avance y Perspectiva, 14, 1995, pp.109-113.
- 49.- Manning R., Piña A., Meza I.; "cAMP levels and up-regulation of actin mRNA in Entamoeba histolytica"; Arch Med Res, 28, 1997, pp.S134-S135.
- 50.- Martínez F., Pérez L., Talamás P.; " Preliminary estudy of the 220 kDa lectin-elicited immune response in hamster: possible vaccine candidate"; Arch Med Res, 28, 1997, pp.S267-S268.
- 51.- McCoy J., Mnn B., Vedvick T., Pak Y.; "Structural analysis of the light subunit of the Entamoeba histolytica galactose-specific adherence lectin"; J Biol Chem 268(32), 1993, pp.24223-31.
- 52.- Medina C., Cordero P., Caballero E.; "Serum cytokines of acute phase response in the amebic liver abscess"; Arch Med Res, 28, 1997, pp.S250-S252.
- 53.- Montfort I., Olivos A., Pérez R.; "Phagocytosis and proteinase activity are not related to pathogenicity of E. histolytica"; Parasitol Res, 79(2), 1993, pp.160-162.
- 54.- Mora J., Gutiérrez M., Anaya F.; "Entamoeba histolytica: kinetics of hemolytic activity, erythrophagocytosis and digestions of erythrocytes"; Arch Med Res, 28, 1997, pp. S200-S201.
- 55.- Moreno L., López R.; "Rapid isolation of lymphocytes of the large and small intestine to assess anti Entamoeba histolytica immune response"; Arch Med Res, 28, 1997, pp.S253-S255.
- 56.- Mukhopadhyay C., Lohia A.; "Modelinf of Entamoeba histolytica ferredoxin"; J Biomol Struct Dyn, 15(4), 1998, pp.663-672.
- 57.- Muñoz M., Das P., Tovar R.; "The cytoskeleton in Entamoeba histolytica during EDG secretion"; Arch Med Res, 28, 1997, pp.S193-S194.

- 58.- Muñoz J., Jiménez E., Cercantes P.; "Oxygen free radicals produced by Entamoeba histolytica are able to cause biological damage"; Arch Med Res, 28, 1997, pp.S154-S155.
- 59.- Navarro F., Pedroso M., López R.; "Cholera toxin increases rat serum and mucosal antibody responses against Entamoeba histolytica trophozoites" Arch Med Res, 28, 1997, pp.S225-S227.
- 60.- Pacheco J., Campos R., Ventura J., Shibayama M.; "Role of nitric oxide in experimental hepatic amebiasis"; Arch Med Res, 28, 1997, pp.S214-S216.
- 61.- Pérez E., Muñoz M., Ortega A.; "Signal transduction mechanisms in Entamoeba histolytica trophozoites"; Arch Med Res, 28, 1997, pp.S127-S128.
- 62.- Petri, W.; "Amebiasis and the Entamoeba histolytica Gal/GalNAc lectin: from lab bench to bedside"; J Inv Med, 44(2), 1996, pp.24-35.
- 63.- Petri W., "Host-parasite relationships in amebiasis: conference report"; J Inf Dis, 169, 1994, pp.483-484.
- 64.- Petri W., Mann B.; "Molecular mechanisms of invasion by Entamoeba histolytica"; Semin Cell Biol, 4(5), 1993, pp.305-13.
- 65.- Petri W., Schnaar R.; "Purification and characterization of galactose and N-acetylgalactosamine specific adhesin lectin of Entamoeba histolytica"; Methods in enzymology, 253, 1995, pp.98-104.
- 66.- Pimienta P., Diamond L.; "Comparative ultrastructural studies of the cell surface and endocytic vacuoles of Entamoeba histolytica Schaudinn, 1903 and Entamoeba dispar Brumpt, 1925"; Arch Med Res, 28, 1997, pp. S113-S115.
- 67.- Ramos F., Valenzuela O., Morán P.; "Anti-E. histolytica IgA antibodies in saliva of E. histolytica or E. dispar infected individuals: longitudinal study of cohorts"; Arch Med Res, 28, 1997, pp.327-329.
- 68.- Rangel A., Spinella S, Urdaneta H.; "Entamoeba histolytica 60 kDa cysteine proteinase and its relationship with the humoral immune response"; Arch Med Res, 28, 1997, pp.S262-S263.
- 69.- Ravdin J., Kelsall B.; "Role of mucosal secretory immunity in the development of an amebiasis vaccine"; Am J Trop Med Hyg, 50, 1994, pp.36-41.
- 70.- Ravdin J., Murphy C.; "Characterization of the galactose-specific binding activity of a purified soluble Entamoeba histolytica adherence lectin"; J Protozool, 39(2), 1992, pp.319-23

- 71.- Ravdin J., Shain D., Kelsall B.; "Antigenicity, immunogenicity and vaccine efficacy of the galactose-specific adherence protein of Entamoeba histolytica"; *Vaccine*, 11(2), 1993, pp.241-6.
- 72.- Rico R., Avila E.; "Inhibition of proteolytic activity of Entamoeba histolytica by human colostrum IgA antibodies"; *Arch Med Res*, 28, 1997, pp.S256-S258.
- 73.- Rico G., Kretschmer R.; "The monocyte locomotion inhibitory factor (MLIF) produced by axenically grown Entamoeba histolytica fails to affect the locomotion and the respiratory burst of human eosinophils in vitro "; *Arch Med Res*, 28, 1997, pp. S233-S234.
- 74.- Rico G, Ximenez C. Ramos F., "Production of the monocyte locomotion inhibitory factor (MLIF) by axenically grown Entamoeba histolytica: synthesis or degradation?"; *Arch Med Res*, 28, 1997, pp.S235-S236.
- 75.- Rivero L., Aguirre J., Calderón J.; "Production of amebic intestinal lesions in BALB/c mice"; *Arch Med Res*, 28, 1997, pp.S220-S222.
- 76.- Rodríguez M.A., Arroyo R., Rigother M.C.; "Entamoeba histolytica: identificación y caracterización de una adhesina y su gen"; *Avance y Perspectiva*, 14, 1995, pp.127-133.
- 77.- Salazar I., Ortega A., Das P.; "Differential display of mRNAs from Entamoeba histolytica during electron dense granules secretion"; *Arch Med Res*, 28, 1997, pp.S190-S192.
- 78.- Sánchez B., Escalante B., Rosales J.L.; "Metabolism of arachidonic acid during amebic abscess formation in Hamster"; *Arch Med Res*, 28, 1997, pp.S217-S219.
- 79.- Scott D., Tran V., Torian B.; "Cleavage of IgG by the neutral cysteine proteinase of E. histolytica"; *Arch Med Res*, 28, 1997, pp.S178-S179.
- 80.- Schain D., Salata R., Ravdin J.; "Development of amebicidal cell-mediated immunity in gerbils immunized with the galactose-inhibitable adherence lectin of Entamoeba histolytica"; *J. Parasitol*, 8(14), 1995, pp.563-568.
- 81.- Schain D., Salata R.; "Human T-lymphocyte proliferation, lymphokine production and amebicidal activity elicited by the galactose-inhibitable adherence protein of Entamoeba histolytica"; *Infect Immunol*, 60(5), 1992, pp.2143-6.
- 82.- Seguin R., Mann B., Keller K.; "The galactose adherence lectin of Entamoeba histolytica activates primed macrophages for amebicidal activity mediated by nitric oxide"; *Arch Med Res*, 28, 1997, pp.S228-S229.

- 83.- Serrano J., Negrete E., Reyes M.; "Hemoglobinas in Entamoeba histolytica HM-1: IMSS"; Arch Med Res, 28, 1997, pp.S202-S203.
- 84.- Sharma M., Dasarathy S., Sushma S.; "Variants of amebic liver abscess"; Arch Med Res, 28, 1997, pp.272-273.
- 85.- Shibayama M., Campos R., Ramirez A.; "Entamoeba histolytica: liver invasion and abscess production by intraperitoneal inoculation of trophozoites in hamsters"; Exp Parasitol, 88(1), 1988, pp.20-27.
- 86.- Shibayama M., Campos R., Ramirez A.; "Morphological Analysis of amebic liver abscess produced by intraperitoneal inoculation of Entamoeba histolytica trophozoites in hamsters"; Arch Med Res, 28, 1997, pp. S207-S210.
- 87.- Soid L., Meza Is; "Partial characterization of G proteins and PLC as possible signal transduction elements during adhesion of Entamoeba histolytica to fibronectin"; Arch Med Res, 28, 1997, pp.S132-S133.
- 88.- Spice W., Ackers J.; "The effects of Entamoeba histolytica lysates on human colonic mucins"; J Eukaryot Microbiol, 45(2), 1998, pp.24S-27S.
- 89.- Spinella S., Farhettin P., Gayral P.; "A novel cysteine protease in Entamoeba histolytica"; Arch Med Res, 28, 1997, pp.S180-S181.
- 90.- Stanley S., Jackson T., Singh S.; "Longitudinal study of the antibody response to recombinant Entamoeba histolytica antigens in patients with amebic liver abscess"; Am J Trop Med Hyg, 58(4), 1998, pp.414-416.
- 91.- Talamás P., Rosales J.L.; "Estudio celular y molecular de componentes amebianos que participan en la interacción de los trofozoitos con el huésped"; Avance y Perspectiva, 14, 1995, pp.102-108.
- 92.- Torres M., Carrero J., Ortiz L.; "A 148-kDa secretory proteinase from Entamoeba histolytica"; Arch Med Res, 28, 1997, pp.S186-S187.
- 93.- Vargas J., Martínez H., Castro J., Mata B.; "Identification of three Entamoeba histolytica intracellular acyl-hidrolase activities"; Arch Med Res, 28, 1997, pp.S94-S95.
- 94.- Vargas J., Olvera R., Mata B., Martínez H.; "Isolation of an Entamoeba histolytica intracellular alkaline phospholipase A2"; Parasitol Res, 84(4), 1998, pp.310-314.

- 95.- Vargas M., Voigt H., Sansonetti P.; "The tail domain of Entamoeba histolytica myosin IB bind F-actin"; Arch Med Res, 28, 1997, pp.S137-S138.
- 96.- Variyam E.; "Bile salts promote adherence-decreasing effect of colonic luminal hydrosales on Entamoeba histolytica"; Arch Med Res, 23(2), 1992, pp.223-5.
- 97.- Velázquez C., Tsutsumi V., Shibayama M.; "Role of the neutrophil in the pathogenesis of the amebic liver lesion in mice"; Arch Med Res, 28, 1997, pp.S230-S232.
- 98.- Ventura J., Campos R., Ramírez A.; "Early interaction of Entamoeba histolytica trophozoites with hepatic parenchymal and inflammatory cells of hamster"; Arch Med Res, 28, 1997, pp.S211-S213.
- 99.- Vohra H., Kaur S., Ganguly; "Inhibition of adhesion by monoclonal antibody to 66 kDa surface antigen of Entamoeba histolytica"; Arch Med Res, 23(2), 1992, pp.235-7.
- 100.- Yu Y., Chadee K.; "Secreted Entamoeba histolytica proteins stimulate Interleukin-8 mRNA expression and protein production in human colonic epithelial cells"; Arch Med Res, 28, 1997, pp.S223-S224.