

Campos Peralta José Manuel*,
 Sánchez Monroy Virginia**,
 Villalba Magdaleno José D'Artagnan***.

Entamoeba histolytica y su relación huésped-parásito

Entamoeba histolytica and its cell/parasite relationship

Fecha de aceptación: diciembre 2010

Resumen

En esta revisión, se describen algunos datos actuales de la serie de eventos que se producen en la relación huésped-parásito que se establece en la amibiasis, infección endémica en nuestro país. La amibiasis ha sido descrita en la literatura médica desde los tiempos de Hipócrates, y constituye una de las tres causas más comunes de muerte por enfermedades parasitarias. La enfermedad presenta diferentes cuadros clínicos, aunque todavía se desconoce mucho sobre la relación huésped-parásito que conducen a la producción de las lesiones.

En la interacción huésped-parásito, la liberación de mucina de la mucosa intestinal, la presencia de la flora bacteriana residente en el intestino, el sistema de complemento, y la respuesta inmune representan algunas de las barreras de defensa contra *E. Histolytica*. Sin embargo, varios reportes han documentado la modulación de esta respuesta por la amiba principalmente a través de sus cisteín-proteasas y lectinas. Por lo tanto, probablemente la patogénesis de la enfermedad se deba a la combinación de efectos de las condiciones que presenta el hospedero para controlar la infección, así como de las características del propio parásito.

Palabras clave: Entamoeba histolytica, amibiasis, parásito.

Abstract

In this review, we describe some current data from the series of events that occur in the host parasite relationship that is set to amebiasis, infection endemic in our country, described in medical literature since the days of Hippocrates, which is one of the three most common causes of death from parasitic diseases. This disease has different clinical pictures, but even today much is unknown about host parasite relationship leading to the production of lesions.

In host-parasite interaction of mucin release from intestinal mucosa, the presence of the resident bacterial flora in the intestine, the complement system and immune response represent some of the barriers of defense against *E. histolytica*, although several reports have documented the modulation of this response by the amoeba primarily through its cysteine proteases and lectins. Therefore, probably the pathogenesis of the disease is due to the combined effects of the conditions presented by the host to control infection, as well as to the characteristics of the parasite itself.

Keywords: *E. histolytica*, amebiasis, parasite.

* Laboratorio Multidisciplinario de Investigación, Escuela Militar de Graduados de Sanidad, Universidad del Ejército y Fuerza Aérea, México.

** Laboratorio de Biomedicina Molecular I, Programa Institucional de Biomedicina Molecular. Escuela Nacional de Medicina y Homeopatía, IPN.

*** Universidad del Valle de México, Campus Chapultepec.

Correspondencia: Virginia Sánchez Monroy,

Laboratorio Multidisciplinario de Investigación, Escuela Militar de Graduados de Sanidad, Universidad del Ejército y Fuerza Aérea, México, Lomas de San Isidro, México, DF, CP 11620.

Tel. - Fax (55) 55400759

Dirección electrónica: vickysm17@hotmail.com

Aspectos históricos

El cuadro clínico por diarrea mucosa y sanguinolenta, fiebre, escalofríos, estreñimiento de carácter intermitente, flatulencia, dolor de cabeza y abdominal de tipo espasmódico, así como fatiga, ha sido descrito en la literatura médica desde los tiempos de Hipócrates (460-377 a.C.). En el Viejo Testamento hay varias referencias que recuerdan a la disentería. Por ejemplo, en las advertencias del profeta Elías, en el libro de Segunda de Crónicas, 21:15: "Tú mismo padecerás muchas dolencias, y una enfermedad maligna te irá carcomiendo las entrañas día tras día". En el libro de Deuteronomio 23:14 se habla sobre la higiene de los campamentos, haciendo referencia a las heces como fuente de infección: "También llevarás una estaca en tu equipaje y, cuando salgas afuera para hacer tus necesidades, cavarás un hoyo con la estaca y luego lo volverás a tapar para cubrir tus excrementos". Finalmente, en el libro de Lamentaciones 2:11 encontramos: "Mis ojos desfallecieron de lágrimas, rugieron mis entrañas, mi hígado se derramó por tierra por el quebrantamiento de la hija de mi pueblo, cuando desfallecía el niño y el que mamaba, en las plazas de la ciudad".

Otros datos históricos sugieren que, en 1755, Rösel van Rosenhof, pintor miniaturista de profesión, tallador de lentes y microscopista de afición, descubrió un microorganismo que cambiaba constantemente de forma, por lo que lo llamó "el pequeño proteo". Linneo lo designó después como *Chaos proteus*. Para 1875, nada se sabía acerca de la existencia de un organismo parásito del hombre que se asociara con el conjunto de síntomas que caracterizan a la disentería amibiana. El Dr. Fedor Aleksandrevitch Lesh publicó los resultados de las observaciones y experimentos que hizo en el caso de la disentería que padeció J. Markow, un campesino de 24 años de edad, procedente de la provincia de Arcángel, internado en la clínica del profesor Eichwald en San Petersburgo. El enfermo estaba enflaquecido, tenía siete a nueve evacuaciones diarias, líquidas, precedidas por dolor en todo el abdomen y acompañadas de tenesmo, fiebre, debilidad muscular y edema en los miembros inferiores. Se quejaba de una sed intensa y de pérdida del apetito. La palpación de la fosa ilíaca izquierda y del mesogastrio provocaba dolor. Las evacuaciones eran de poco volumen, de color pardo rojizo, con grumos purulentos y mucosos. Su examen microscópico reveló presencia de abundantes formaciones celulares dotadas de movimiento propio, las cuales, en palabras de Lesh, inmediatamente fueron identificadas como amibas. El paciente falleció en condiciones de anemia avanzada y de agotamiento total. La necropsia registró edema e hiperemia en la mucosa de la mitad posterior del íleon; y lesiones semejantes, pero mucho más intensas, en el ciego donde había una gruesa capa mucosanguinolenta que cubría zonas engrosadas, con cicatrices y úlceras. El examen histopatológico de estas lesiones reveló infiltración celular en la submucosa, con presencia de amibas como las halladas antes en las heces. Lesh rechazó la relación directa de la enfermedad con la abundancia de las amibas *Amoeba coli* (nombre propuesto por él) en las heces. No conforme, reprodujo la enfermedad en perros, con lo que pudo concluir que, cuando estos

parásitos se multiplicaban en el intestino, provocaban una intensa inflamación que podía llegar a la desintegración del tejido afectado.¹

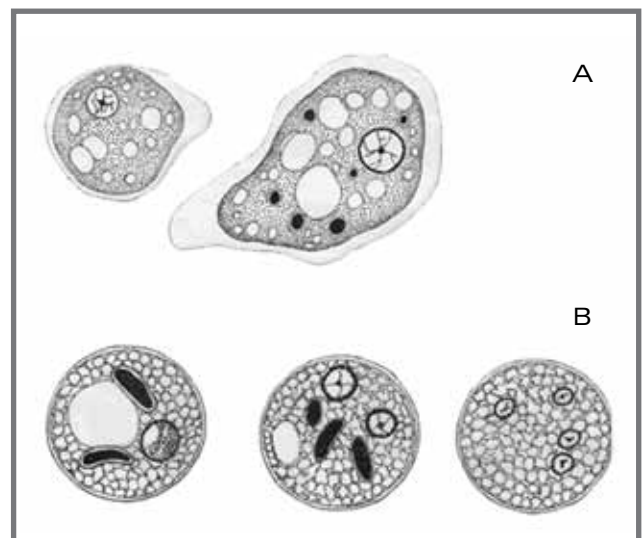
Un estudio hecho por Quincke y Roos, en 1893, hizo progresar considerablemente el conocimiento de la biología de las amibas causantes de la disentería. Estos autores confirmaron la existencia de más de una especie de amibas parásitas en el intestino humano. Descubrieron el ciclo evolutivo de la amiba disentérica con la transformación de sus trofozoítos en quistes, y que ésta era la forma infectante. En 1903, Fritz Schaudinn precisó los detalles estructurales de dos especies de amibas: a la patógena la llamó *Entamoeba histolytica*, y a la especie constantemente, desprovista de poder patógeno, la llamó *Entamoeba coli*.² Emile Brumpt, en 1925, propugnó la existencia de dos especies morfológicamente similares, pero diferentes desde el punto de vista clínico: *E. histolytica*, capaz de ocasionar enfermedad en humanos, y *Entamoeba dispar*, sin capacidad patógena. No obstante, en 1993, la consideración conjunta de varios datos llevó a una nueva descripción de la existencia de ambas especies de amibas.

Científicos del siglo XIX y XX establecieron la correlación etiológica entre *E. histolytica* y la amibiasis en el hombre, definiendo la amibiasis como la enfermedad producida en seres humanos por el protozoo parásito *E. histolytica*. Las personas infectadas con este parásito pueden desarrollar patologías potencialmente fatales, como la colitis amibiana fulminante, o el absceso hepático amibiano.^{3,4}

Morfología

E. histolytica se presenta en la naturaleza en tres estadios morfológicos: trofozoítos, prequiste y quiste (figura 1).

Figura 1
Estadios morfológicos de *Entamoeba histolytica*.
A. Trofozoítos y B. Prequistes y Quistes. Tomado de (<http://jpkc.sysu.edu.cn/jscx/Textbook/six-2.html>).



El trofozoíto corresponde a la forma vegetativa, móvil, que emite pseudópodos a base de material protoplásmico locomotor y se encuentra en las materias fecales recién emitidas. Tiene forma muy variable: su contorno puede ser redondo, irregular, o alargado; sus dimensiones varían entre 10 y 60 micras. El citoplasma presenta dos zonas que no están separadas físicamente, pero sí bien diferenciadas: el ectoplasma y el endoplasma. El ectoplasma es hialino y transparente, sin inclusiones. En la zona endoplásmica se encuentran: vacuolas, lisosomas, cisternas aplanadas semejantes a los sistemas de Golgi, y un sistema reticular membranoso similar a un retículo endoplásmico.⁵ También se hallan ribosomas, polirribosomas, un núcleo esférico sin posición fija de aproximadamente 4 a 7 micras con un endosoma central –constituido por cromatina nuclear en forma de gránulo esférico, de no más de 0.5 micras de diámetro muy tangible– que está situado por lo general en el centro del núcleo.⁶

Además, en *E. histolytica* se ha detectado DNA extranuclear, contenido en estructuras citoplásmicas (EhKOs), que se ha sugerido como un genoma remanente del proceso endosimbiótico de la mitocondria que ha sido retenido por este microorganismo.⁷ Otros estudios realizados por Ghosh y colaboradores sugirieron la existencia de criptonemas con un genoma organelar que corresponde a 2.2 % del genoma nuclear.⁸

El prequiste es el estadio que se presenta cuando las condiciones del medio ambiente en que se mueve el trofozoíto son desfavorables para su vida. Es esférico, inmóvil, sin diferenciación de ectoplasma y endoplasma, con pared gruesa y con un solo núcleo.

El quiste es la forma infectante en la naturaleza, sobrevive al suelo húmedo durante una semana por lo menos, si la temperatura fluctúa entre los 28 y 34°C, y hasta un mes, si la temperatura es de 10°C. Es esférico, y mide aproximadamente entre 5 y 20 micras; tiene cuatro núcleos y una pared gruesa, y en ocasiones presenta una vacuola con glucógeno.

Epidemiología

E. histolytica tiene una distribución mundial que afecta especialmente a los países en vías de desarrollo, y constituye una de las tres causas más comunes de muerte por enfermedades parasitarias. Infecta alrededor de 10% de la población mundial (aproximadamente 600 millones de personas), ocasionando anualmente cerca de 100,000 muertes por complicaciones.⁹

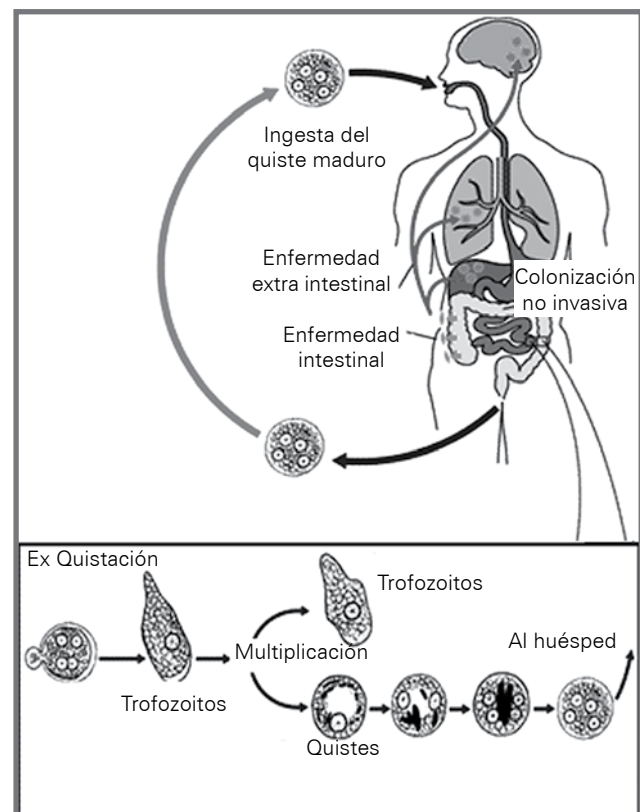
Los datos más recientes sobre la prevalencia de la infección en México, evaluados mediante un método molecular (PCR), muestran que existe una prevalencia de infección por *E. histolytica* de 13.8%, mientras que para la especie *E. dispar* (morfológicamente indistinguible de *E. histolytica*) es de 9.7%. Esto equivale a un total de 21% de la población infectada por *Entamoeba*.^{10, 11}

Ciclo biológico

La parasitosis se adquiere al ingerir los quistes, que corresponden a la fase infectante para el humano. Éstos se transmiten, principalmente, a través de alimentos y bebidas contaminadas, o bien mediante otros mecanismos

menos frecuentes que incluyen algunos tipos de prácticas sexuales. Cuando el quiste es ingerido, viaja por el aparato digestivo hasta el íleon. Allí desquista, originando un protoplasto desnudo tetranucleado que da lugar a ocho trofozoítos metaquísticos. Éstos migran al ciego y se adhieren a la mucosa intestinal. Los trofozoítos pueden invadir la mucosa intestinal y producir desde síntomas leves hasta disentería grave. Cuando ha invadido el epitelio intestinal, el parásito puede diseminarse a través de la sangre, originando lesiones extraintestinales principalmente en hígado y, con menos frecuencia, en pulmón, cerebro, piel, órganos genitales, bazo y riñón. Alternativamente, bajo condiciones aún no determinadas, los trofozoítos pueden enquistarse, salir al ambiente con las heces y así contaminar agua y alimentos, para infectar nuevamente a otros individuos, completando su ciclo de vida¹² (figura 2).

Figura 2
Ciclo de vida de *Entamoeba histolytica*. Tomado de (<http://www.dpd.cdc.gov/DPD/HTML/Amebiasis>)



Patogenia y mecanismos de patogenicidad de la amiba

La amibiasis presenta diferentes cuadros clínicos que se clasifican en i) amibiasis no invasiva, que incluye: la tifoepidemia amebiana, el ameboma, la colitis amebiana fulminante; ii) amibiasis invasiva, que incluye: abscesos hepáticos amebianos, amibiasis pulmonar, amibiasis cutánea y mucosa, y absceso cerebral amebiano.¹³

Aun cuando se conocen esta amplia variedad de manifestaciones clínico-patológicas de la enfermedad y la capacidad destructiva de los trofozoítos de *E. histolytica* en los tejidos afectados –sobre todo en el intestino grueso y en el hígado– todavía ignora mucho acerca de los mecanismos intrínsecos de la amiba y los factores del hospedero que conducen a la producción de las lesiones.

En el mecanismo patogénico de *E. histolytica* se distinguen tres etapas sobre la célula blanco: adhesión, citólisis dependiente de contacto, y fagocitosis.^{14, 15}

Adhesión

El primer paso en la invasión intestinal por los trofozoítos de *E. histolytica* es el contacto y la adherencia a las células del hospedero. Esta última requiere de un mecanismo específico que involucra moléculas de superficie del parásito llamadas adhesinas y sus receptores presentes en las células blanco.¹⁶

Se han reportado varias proteínas de *E. histolytica* involucradas en el contacto con las células blanco. Entre ellas se encuentran: las lectinas Gal-Lec y Gal/GalNac^{17, 18} una adhesina de 112 kDa,¹⁹ la proteína de superficie celular de 220kDa,²⁰ el antígeno lipofosfoglicano,²¹ las proteínas ricas en serina (SREHP) de 52 kDa,²² y las proteínas de 90,70,50 y 24 kDa.²³

De las proteínas que participan en la adhesión, las lectinas presentes en la membrana plasmática de la amiba son las principales mediadoras de la adherencia del parásito a células epiteliales, eritrocitos y neutrófilos, entre otros.^{17, 24} Además, se ha observado su participación en histólisis^{24, 25, 26} y evasión del sistema inmune a través de la unión a factores del complemento, y la interrupción de la formación del ensamble del complejo del complemento sobre la membrana de los trofozoítos.^{27, 28, 29}

Citolisis

Cuando *E. histolytica* establece contacto con las células blanco, ocurre la histólisis. Este es el mecanismo al que *E. histolytica* debe su nombre por su capacidad para destruir los tejidos. Dicho mecanismo está mediado principalmente por dos proteínas:

- i) las cisteín-proteasas (CP),³⁰ y
- ii) los péptidos formadores de poros, llamados ameboporos.^{31, 32, 33, 34, 35, 36}

Las CP son proteínas de secreción, críticas para la invasión de tejido por su capacidad para degradar componentes de la matriz extracelular, como colágena, elastina, fibrinógeno, y laminina.^{37, 38, 39} También se ha demostrado su capacidad de interferir en la función del sistema inmune al inactivar al precursor inactivo del IL-18,⁴⁰ hidrolizar a C3, IgG, IgA, y las anafilatoxinas, como C3a y C5a.^{41, 42, 43, 44}

Los ameboporos están compuestos por una pequeña proteína que forma canales iónicos entre los fosfolípidos de la membrana celular. Diversos estudios *in vitro* han demostrado su actividad citotóxica contra diferentes líneas celulares humanas y bacterias.^{36, 45, 46}

Además de las CP y los ameboporos, se ha señalado que los microfilamentos y el flujo transmembranal de calcio son necesarios para que los trofozoítos de *E. histolytica* puedan lisar la célula.^{17, 47, 48}

Fagocitosis

La fagocitosis de *E. histolytica* es el proceso que consiste en la ingestión de fragmentos celulares, células vivas, partículas inertes, y la típica ingestión de glóbulos rojos (eritrofagocitosis). En este proceso, la unión del parásito puede estar mediada por fuerzas electrostáticas. Pero también existen mecanismos altamente específicos en los que intervienen moléculas de superficie,¹⁹ cisteín proteasas,⁴⁹ y componentes del citoesqueleto.⁵⁰ Este proceso va acompañado por la formación del fagolisosoma,⁵¹ dirigido por GTPasas y proteínas Rab, que actúan como moduladores en la regulación de la fusión vesicular con las membranas de la célula blanco.

Relación huésped-parásito

Esta relación implica una serie de interacciones entre los mecanismos de defensa del huésped, para expulsar el patógeno, y las estrategias desarrolladas por el parásito para modular la respuesta del huésped y favorecer su supervivencia.

La inmunidad innata o los mecanismos inespecíficos quizá desempeñen un papel esencial en la defensa frente a la infección y la diseminación de *E. histolytica*. En este sentido, la liberación de mucina, principal constituyente de la capa de mucosa intestinal, constituye una de las primeras barreras de defensa contra la invasión de *E. histolytica*. Sin embargo, se ha reportado que la amiba modula la respuesta del hospedero a través de las CPs, ya que degradan el polímero MUC2, que es el principal componente de la mucina intestinal.⁵² Por otro lado, también se ha reportado que la amiba secreta un factor estable al calor que provoca hipersecreción mucosa de las células caliciformes, dando como resultado el agotamiento de mucina y una pérdida de la función protectora.⁵³

Respecto a las interacciones entre la flora bacteriana residente en el intestino y *E. histolytica*, se ha señalado que pueden ser factores decisivos para la defensa del huésped, o la virulencia del parásito. En efecto, algunos estudios han demostrado que los trofozoítos aumentan su virulencia en respuesta a su asociación con bacterias,^{54, 55, 56, 57} mientras que otros reportan la reducción de la virulencia del trofozoito, y sugieren que esta reducción puede estar asociada con una disminución de la lectina Gal/GalNac.^{58, 59}

El sistema de complemento es una barrera del sistema inmune no específico y ejerce un papel protector en la diseminación hematológica del parásito. En este contexto, también participa en la patogénesis de la amebiasis. Algunos estudios han demostrado que los trofozoítos responden a esta defensa activando la vía clásica y alterna del complemento en la ausencia de anticuerpos antiamebianos a través de la CP de 56 kDa.^{29, 44} Esta CP degrada los componentes del complemento C3, C4, C5 y C9, evitando efectos fisiológicos de anafilatoxinas C3a y C5a, como: el incremento de la permeabilidad vascular, la contracción del músculo liso, la supresión de la proliferación de las células T, la liberación de histaminas e IL-1, y limita la quimiotaxis de neutrófilos.

Por otra parte, se ha señalado que la lectina Gal/GalNac inhibe también el ensamble de C8 y C9 en el complejo de ataque a la membrana C5b-9. Esto impide la lisis del parásito mediada por el complemento.²⁷

Por su parte, las células del intestino se caracterizan por liberar varios potentes quimioatrayentes y citocinas

pro-inflamatorias, como IL-1, 6, 8 y 10, iniciando una inflamación aguda.^{60, 61} La IL-18 se expresa en las células intestinales, producto de la inducción de la respuesta Th1 y la producción de interferón gama (IFN- γ), el cual activa a los macrófagos capaces de matar al parásito. Sin embargo, en 2003, Que y colaboradores demostraron que la amiba puede inactivar tanto al precursor inactivo de IL-18 como a esta citocina madura, limitando la respuesta del hospedero.⁴⁰

Algunos modelos experimentales de amibiasis han mostrado que la etapa temprana de la infección se caracteriza por una infiltración predominante de los neutrófilos.^{12, 62} Como consecuencia de la interacción de los trofozoítos y los neutrófilos, estos últimos se activan después de la estimulación por IFN- γ , TNF- γ , LPS, o antígenos amibianos.^{63, 64} Muchos estudios han demostrado la actividad amebicida de los neutrófilos.^{64, 65} Esta activación conlleva a la liberación de especies reactivas de oxígeno y péptidos antimicrobianos. No obstante, se ha demostrado que la amiba interfiere con su actividad, interrumpiendo las actividades de la NADPH oxidasa y resistiendo –a través de la peroxirredoxina de 29 kDa– el estrés oxidativo.⁶⁷ Se ha demostrado, también, que *E. histolytica* pueden inducir la apoptosis de los neutrófilos.⁶⁸

Al igual que los neutrófilos, los macrófagos adquieren actividad amebicida después de la estimulación con IFN- γ , TNF- γ o el factor estimulante de las colonias.^{69, 70, 71} Se ha demostrado que diversos componentes de la superficie de los trofozoítos son reconocidos por los macrófagos a través de los receptores de peaje TLR-2 y TLR-4.⁷² El óxido nítrico (NO) ha demostrado ser un importante mediador de la citotoxicidad de los macrófagos, capaz de inhibir las CPs y la alcohol deshidrogenasa 2 del parásito.⁷³ La modulación de esta respuesta, por parte de la amiba, ha sido suprimir el estallido respiratorio y disminuir los niveles de NO, TNF- γ y IFN- γ .^{70, 74, 75}

Los mecanismos y moléculas amibianas que participan en esta modulación se conocen solo parcialmente.

Se ha sugerido que son inmunorreguladores amibianos, como una supuesta arginasa expresada por *E. histolytica*,⁷⁶ proteínas similares a la prostaglandina E2,^{77, 78} y un factor inhibidor de la migración de macrófagos.^{79, 80}

Por parte de la respuesta humoral del huésped, algunos estudios seroepidemiológicos han indicado que, aproximadamente 81-100% de los pacientes con amibiasis invasiva responden desarrollando anticuerpos específicos contra la lectina Gal/GalNac. No obstante, se ha demostrado que solo la respuesta de la IgA mucosa está vinculada a la protección contra la infección.^{81, 82, 83} Por su parte, los parásitos también modulan la respuesta del hospedero, limitando la respuesta humoral al degradar las IgA e IgG, sobre todo a través de cistein proteasas.^{41, 42, 43}

Discusión

La patogénesis asociada con la infección de *E. histolytica* se debe a su habilidad para adherirse a tejidos, principalmente a través de las lectinas. Su capacidad invasiva y destructiva la media, básicamente, el ameboporo y las CPs. Otros factores de virulencia ya han sido identificados. No obstante, aún no está totalmente claro el papel que desempeñan estos factores en el desarrollo de la enfermedad invasiva. En la interacción huésped- parásito, la liberación de mucina de la mucosa intestinal, la presencia de la flora bacteriana residente en el intestino, el sistema de complemento, y la respuesta inmune representan algunas de las barreras de defensa contra *E. histolytica*. Sin embargo, varios reportes han documentado la modulación de esta respuesta por la amiba, la cual suele ser a través de las CPs y la lectina Gal/GalNac. Por lo anterior, probablemente la patogénesis de la enfermedad se deba tanto a la combinación de efectos de las condiciones que presenta el hospedero para controlar la infección, como a las características del propio parásito.

Referencias

- Lesh FA. "Massive development of amebas in the large intestine. Fedor Aleksandrovich Lesh (Löscher)". *Am J Trop Med Hyg* 1975; 243: 383-392.
- Sepulveda B, Diamond LS. *Memorias de la conferencia Internacional sobre amibiasis*. Organizada por el Centro de Estudios sobre Amibiasis. Instituto Mexicano del Seguro Social, 1975.
- Leung J, Chin A. "Amebic colitis". *Gastrointest Endosc* 2002; 56: 732.
- Stanley SL. "Pathophysiology of amebiasis". *Trends Parasitol* 2001; 17: 280-285.
- Chávez-Munguía B, Talamas-Rohana P, Rios A, Gonzalez-Lazaro M, Martínez-Palomo: "Entamoeba histolytica: fibrillar aggregates in dividing trophozoites". *Exp Parasitol* 2008; 118: 280-284.
- Torres-Guerrero H, Peattie DA, Meza I. "Chromatin organization in Entamoeba histolytica". *Mol Biol. Parasitol* 1991; 45: 121-130.
- Orozco E, Gharabeh R, Riveron AM, Delgadillo DM, Mertcado M, Sanchez T, et al. "A novel cytoplasmic structure containing DNA networks in Entamoeba histolytica trophozoites". *Mol Gen Genet* 1997; 254: 250-257.
- Ghosh S, Field J, Rogers R, Hickman M, Samuelson J. "The Entamoeba histolytica mitochondrion-derived organelle (Crypton) contains double-stranded DNA and appears to be bound by a double membrane". *Infect Immun* 2000; 68: 4319-4322.
- World Health Organization. "Amoebiasis". *Epidemiol Rec* 1997; 72: 97-100.
- Acuña-Soto R, Samuelson J, De Girolami P, Zarate L, Millan-Velasco F, Schoolnick, Wirth D. "Application of the polymerase chain reaction to the epidemiology of pathogenic and nonpathogenic Entamoeba histolytica". *Am J Trop Med Hyg* 1993; 48: 58-70.
- Ramos F, Moran P, González E, García G, Ramiro M, Gómez A, et al. "High prevalence rate of E. histolytica asymptomatic infection in a rural Mexican community". *Am J Trop Med Hyg* 2005; 73: 87-91.
- Martínez-Palomo AC. "Amibiasis". 1ª ed., México, Editorial Médica Panamericana, 1989: 206.

13. Bernal G. "Disentería Amibiana". *Cir Ciruj* 1997; 65: 151-156.
14. Orozco E, Martínez-Palomo A, González-Robles A. "Las interacciones lectina- receptor median la adhesión de
15. *Entamoeba histolytica* a sus células epiteliales". *Arch. Inv. Med (Mex)* 1982; 13: 153-157.
16. Ravdin JI. "Pathogenesis of disease caused by *Entamoeba histolytica*: Studies of adherence, secreted toxins and contact-dependent cytolysis". *Rev Infect Dis* 1986; 8: 247-260.
17. Martínez-Palomo A. "Biology of *Entamoeba histolytica*". *Amebiasis. Amsterdam-Elsevier* 1986; 12-43.
18. Ravdin JI, Guerrant RL. "Role of adherence in cytopathogenic mechanisms of *Entamoeba histolytica*: Study with mammalian tissue culture cells and human erythrocytes". *J Clin Invest* 1981; 68: 1305-1313.
19. Petri WA, Smith RD, Schlesinger PH, Murphy CF, Ravdin JI. "Isolation of the galactose-binding lectin that mediated the in vitro adherence of *Entamoeba histolytica*". *J Clin Invest* 1987; 80: 1238-1244.
20. Arroyo R, Orozco E. "Location and Identification of *Entamoeba histolytica* adhesion". *Mol Biochem Parasitol* 1987; 110: 177-182.
21. Meza I, Cazares F, Rosales-Encina JL, Talamas-Rohana P, Rojkind M. "Use of antibodies to characterize a 220-kilodalton surface protein from *Entamoeba histolytica*". *J Inf Dis* 1987; 156: 798-805.
22. Isibasi A, Santa Cruz M, Ramírez A, Kumate J. "Inmunquímica de una lipofosfoglicana extraída de trofozoítos de *Entamoeba histolytica* cepa HK cultivados en medio axénico, utilizando el método de fenol agua". *Arch Invest Med* 1982; 13: 51-55.
23. Stanley SL, Becker A, Kunz-Jenkis C, Foster L, Ellen L. "Cloning and expression of membrane antigen of *Entamoeba histolytica* possessing multiple tandem repeats". *Prot Natl Acad Sci* 1990; 87: 4976-4980.
24. Rodríguez MA, Hernandez F, Santos L, Valdes J, Orozco E. "*Entamoeba histolytica*: molecules involved in the target cell-parasite relationship". *Mol Biochem Parasitol*, 1989; 37: 87-100.
25. Chadee K, Petri WA, Innes DJ, Ravdin JI. "Rat and human colonic mucins bind to and inhibit the adherence lectin of *Entamoeba histolytica*". *J Clin Invest* 1987; 80: 1245-1254.
26. Petri WA, Snodgrass TL, Jackson TFHG, Gathiram V, Simjee AE, Chadee K, Chapman MD. "Monoclonal antibodies against the galactose-binding lectin of *Entamoeba histolytica* enhance adherence" *J Immunol* 1990; 144: 4803-4809.
27. Li E, Becker A, Stanley SL. "Chinese hamster ovary cells deficient in N-acetyl-glucosaminyltransferase I activity are resistant to *Entamoeba histolytica*-mediated cytotoxicity". *Infect Immun* 1989; 57: 8-12.
28. Braga LL, Ninomiya H, McCoy JJ, Eacker S, Wiedmer T, Pham C, et al. "Inhibition of complement membrane attack complex by the galactose-specific adhesion of *Entamoeba histolytica*". *J Clin Invest* 1992; 90: 1131-1137.
29. Reed SL, Curd JG, Gigli I, Guillin FD, Braude AI. "Activation of complement by pathogenic and nonpathogenic *Entamoeba histolytica*". *J Immunol* 1986; 136: 2265-2270.
30. Reed SL, Gigli I. "Lysis of complement-sensitive *Entamoeba histolytica* by activated terminal complement components". *J Clin Invest* 1990; 86: 1815-1822.
31. Keene WE, Hidalgo ME, Orozco E, Mckerrow JH. "*Entamoeba histolytica*: correlation of the cytopathic effect of virulent trophozoites with secretion of a cysteine protease". *Exp Parasitol* 1990; 71: 199-206.
32. Leippe M, Tanich E, Nickel R, Van der Goot G, Pattus F, Horstmann RD, Muller-Eberhard HJ. "Primary and secondary structure of the pore-forming peptide of pathogenic *Entamoeba histolytica*". *EMBO J* 1992; 11: 3501-3506.
33. Leippe M, Andra J, Nickel R, Tanich E, Muller-Eberhard HJ. "Amoebapores, a family of membranolytic peptides from cytoplasmic granules of *Entamoeba histolytica*: isolation, primary structure, and pore formation in bacterial cytoplasmic membranes". *Mol Microbiol* 1994; 14: 895-904.
34. Young JD, Cohn TM, Lu LP, Unkeless JC, Cohn ZA. "Characterization of a membrane pore-forming protein from *Entamoeba histolytica*". *J Exp Med* 1992; 156: 1677-1690.
35. Lynch EC, Rosenberg IM, Gitler C. "An ion-channel forming protein produced by *Entamoeba histolytica*". *EMBO J* 1982; 1: 801-804.
36. Rosenberg IM, Gitler C. "Subcellular fractionation of amoebapore and plasma membrane components of *Entamoeba histolytica* using self generated Percoll gradients". *Mol Biochem Parasitol*, 1985; 14: 231-248.
37. Bracha R, Nuchamowitz Y, Mirelman D. "Amoebapore is an important virulence factor of *Entamoeba histolytica*". *J Biosci* 2002; 27: 579-587.
38. Keene WE, Hidalgo ME, Orozco E, Mckerrow JH. "*Entamoeba histolytica*: correlation of the cytopathic effect of virulent trophozoites with secretion of a cysteine protease". *Exp Parasitol* 1990; 71: 199-206.
39. Muñoz ML, Calderon J, Rojkind M. "The collagenase of *Entamoeba histolytica*". *J Exp Med* 1982; 155: 42-51.
40. Serrano JJ, de la Garza M, Moreno MA, Tovar R, León G, Tsutsumi V, Muñoz ML. "*Entamoeba histolytica*: electron-dense granule secretion, collagenase activity and virulence are altered in the cytoskeleton mutant BG-3". *Mol Microbiol* 1994; 11: 787-792.
41. Que X, Kim SH, Sajid M, Eckmann L, Dinarello Ca, Mckerrow JH, Reed SL. "A surface amebic cysteine proteinase inactivates interleukin-18". *Infect Immun* 2003; 71: 1274-1280.
42. Quezada-Calvillo R, López RR. "IgA protease in *Entamoeba histolytica* trophozoites". *Adv Exp Med Biol* 1986; 216B: 1283-1288.
43. Kelsall BL, Ravdin JI. "Degradation of human immunoglobulin A by *Entamoeba histolytica*". *J Infect Dis* 1993; 168: 1319-1322.
44. Tran VQ, Herdman DS, Torian BE, Reed SL. "The neutral cysteine proteinase of *Entamoeba histolytica* degrades IgG and prevents its binding". *J Inf Dis* 1998; 177: 508-511.
45. Reed SL, Keene WE, Mckerrow JH. "Thiol proteinase expression correlates with pathogenicity of *Entamoeba histolytica*". *J Clin Microbiol* 1989; 27: 2772-2777.
46. Andra J, Leippe M. "Pore forming peptide of *Entamoeba histolytica* significance of positively charged amino acid residues for its mode of action". *FEBS* 1994, 354: 97-102.
47. Berninghausen O, Leippe M. "Necrosis versus apoptosis as the mechanism of target cell death induced by *Entamoeba histolytica*". *Infect Immun* 1997; 65: 3615-3621.
48. Ravdin JI, Sperelakis N, Guerrant RL. "Effect of ion channel inhibitors on the cytopathogenesis of *Entamoeba histolytica*". *J Infect Dis* 1982; 146: 335-340.
49. Ravdin JI, Murphy CF, Salata RA, Guerrant RL, Hewlett EL. "N-Acetyl-D-galactosamine-inhibitable adherence lectin of *Entamoeba histolytica*. Partial purification and relation to amoebic virulence in vitro". *J Infect Dis* 1985; 151: 804-815.

50. Ankri S, Stolarsky T, Mirelman D. "Antisense inhibition of expression of cysteine proteinases does not affect *Entamoeba histolytica* cytopathic or haemolytic activity but inhibits phagocytosis". *Mol Microbiol* 1998; 28: 777-785.
51. Godbold GD, Mann BJ. "Involvement of the actin cytoskeleton and p21 rhofamily GTPase in the pathogenesis of the human protozoan parasite *Entamoeba histolytica*". *Braz J Med Biol Res* 1998; 31: 1049-1058.
52. Stuart LM, Ezekowitz RA. "Phagocytosis: elegant complexity". *Immunity* 2005; 22: 539-550.
53. Lidell ME, Moncada DM, Chadee K, Hansson GC. "*Entamoeba histolytica* cysteine proteases cleave the MUC2 mucin in its C-terminal domain and dissolve the protective colonic mucus gel". *Proc Natl Acad Sci* 2006; 103: 9298-9303.
54. Tse SK, Chadee K. "Biochemical characterization of rat colonic mucins secreted response to *Entamoeba histolytica*". *Infect Immun* 1992; 60: 1603-1612.
55. Anaya-Velázquez F, Padilla-Vaca F. "Effect of intestinal bacteria on the virulence of *Entamoeba histolytica*". *Arch Med Res* 1992; 23: 183-185.
56. Bracha R, Mirelman D. "Virulence of *Entamoeba histolytica* trophozoites. Effects of bacteria, microaerobic conditions, and metronidazole". *J Exp Med* 1984; 160: 353-368.
57. Bhattacharya A, Anand MT, Jayshree P, Yadav N, Bhattacharya S. "Molecular changes in *Entamoeba histolytica* in response to bacteria". *J Eukaryot Microbiol* 1998; 45: 28S-33S.
58. Bhattacharya A, Ghildyal R, Prasad J, Bhattacharya S, Diamond LS. "Modulation of a surface antigen of *Entamoeba histolytica* in response to bacteria". *Infect Immun* 1992; 60: 1711-1713.
59. Padilla-Vaca F, Ankri S, Bracha R, Koole LA, Mirelman D. "Down regulation of *Entamoeba histolytica* virulence by monoxenic cultivation with *Escherichia coli* O55 is related to a decrease in expression of the light (35-kilodalton) subunit of the Gal/GalNAc lectin". *Infect Immun* 1999; 67: 2096-2102.
60. Variyam EP. "Luminal bacteria and proteases together decrease adherence of *Entamoeba histolytica* trophozoites to Chinese hamster ovary epithelial cells: a novel host defence against an enteric pathogen". *Gut* 1996; 39: 521-527.
61. Seydel KB, Li E, Zhang Z, Stanley SL Jr. "Epithelial cell-initiated inflammation plays a crucial role in early tissue damage in amebic infection of human intestine". *Gastroenterology* 1998; 115: 1446-1453.
62. Eckmann L, Reed SL, Smith JR, Kagnoff MF. "*Entamoeba histolytica* trophozoites induce an inflammatory cytokine response by cultured human cells through the paracrine action of cytolytically released interleukin-1 alpha". *J Clin Invest* 1995; 96: 1269-1279.
63. Tsutsumi V, Mena-López R, Anaya-Velázquez F, Martínez-Palomo A. "Cellular bases of experimental amebic liver abscess formation". *Am J Pathol* 1984; 117: 81-91.
64. Denis M, Chadee K. "Human neutrophils activated by interferon-gamma and tumor necrosis factor alpha kill *Entamoeba histolytica* trophozoites in vitro". *J Leukoc Biol* 1989; 46: 270-274.
65. Guerrant RL, Brush J, Ravdin JI, Sullivan JA, Mandell GL. "Interaction between *Entamoeba histolytica* and human polymorphonuclear neutrophils". *J Infect Dis* 1981; 143: 83-93.
66. Jarillo-Luna RA, Campos-Rodríguez R, Tsutsumi V. "*Entamoeba histolytica*: immunohistochemical study of hepatic amoebiasis in mouse. Neutrophils and nitric oxide as possible factors of resistance". *Exp Parasitol* 2002; 101: 40-56.
67. Arbo A, Hoefsloot M, Ramírez A, Ignacio-Santos J. "*Entamoeba histolytica* inhibits the respiratory burst of polymorphonuclear leukocytes". *Arch Invest Med (Mex)* 1990; 21(Suppl 1): 57-61.
68. Bruchhaus I, Richter S, Tannich E. "Removal of hydrogen peroxide by the 29kDa protein of *Entamoeba histolytica*". *Biochem J* 1997; 326: 785-789.
69. Sim S, Yong TS, Park SJ, Im KI, Kong Y, Ryu JS, Min DY, Shin MH. "NADPH oxidase-derived reactive oxygen species-mediated activation of ERK1/2 is required for apoptosis of human neutrophils induced by *Entamoeba histolytica*". *J Immunol* 2005; 174: 4279-4288.
70. Salata RA, Martínez-Palomo A, Murray HW, Conales L, Trevino N, Segovia E, et al. "Patients treated for amebic liver abscess develop cell mediated immune responses effective in vitro against *Entamoeba histolytica*". *J Immunol* 1986; 136: 2633-2639.
71. Lin JY, Keller K, Chadee K. "*E. histolytica* proteins modulate the respiratory burst potential by murine macrophages". *Immunology* 1993; 78: 291-297.
72. Ghadirian E, Denis M. "*Entamoeba histolytica* extract and interferon-gamma activation of macrophage-mediated amoebicidal function". *Immunobiology* 1992; 185: 1-10.
73. Maldonado-Bernal C, Kirschning CJ, Rosenstein Y, Rocha LM, Rios-Sarabia N, Espinosa-Cantellano M, et al. "The innate immune response to *Entamoeba histolytica* lipopeptidophosphoglycan is mediated by toll-like receptors 2 and 4". *Parasite Immunol* 2005; 27: 127-137.
74. Siman-Tov R, Ankri S. "Nitric oxide inhibits cysteine proteinases and alcohol dehydrogenase 2 of *Entamoeba histolytica*". *Parasitol Res* 2003; 89: 146-149.
75. Wang W, Keller K, Chadee K. "*Entamoeba histolytica* modulates the nitric oxide synthase gene and nitric oxide production by macrophages for cytotoxicity against amoebae and tumour cells". *Immunology* 1994; 83: 601-610.
76. Se'guin R, Keller K, Chadee K. "*Entamoeba histolytica* stimulates the unstable transcription of c-fos and tumor necrosis factor- α messenger RNA by protein kinase C signal transduction in macrophages." *Immunology* 1995; 86: 49-57.
77. Elnekave K, Siman-Tov R, Ankris S. "Consumption of L-arginine mediated by *Entamoeba histolytica* L-arginase (EhArg) inhibits amoebicidal activity and nitric oxide production by activated macrophages". *Parasite Immunol* 2003, 25: 597-608.
78. Dey I, Keller K, Belley A, Chadee K. "Identification and characterization of a cyclooxygenase-like enzyme from *Entamoeba histolytica*". *PNAS* 2003; 100: 13561-13566.
79. Gutierrez-Alarcon A, Moguel-Torres M, Mata-Leyva O, Cuellar-Nevarez G, Siqueiros-Cendon T, Erosa G, et al. "*Entamoeba histolytica*: inflammatory process during amebic liver abscess formation involves cyclooxygenase-2 expression in macrophages and trophozoites". *Exp Parasitol* 2006; 114:154-159.
80. Rico G, Leandro E, Rojas S, Gimenez JA, Kretschmer RR. "The monocyte locomotion inhibitory factor produced by *Entamoeba histolytica* inhibits induced nitric oxide production in human leukocytes". *Parasitol Res* 2003; 90: 264-267.
81. Utrera-Barillas D, Velazquez JR, Enciso A, Cruz SM, Rico G, Curiel-Quesada E, et al. "An anti-inflammatory

- oligopeptide produced by *Entamoeba histolytica* down-regulates the expression of pro-inflammatory chemokines". *Parasite Immunol* 2003; 25: 475-482.
82. Kaur U, Sharma AK, Sharma M, Vohra H. "Distribution of *Entamoeba histolytica* Gal/GalNAc lectin-specific antibody response in an endemic area". *Scandinavian Journal of Immunology* 2004; 60: 524-528.
83. Haque R, Ali IKM, Sack RB, Ramakrishnan G, Farr BM, Petri WA Jr. "Amoebiasis and mucosal IgA antibody against the *Entamoeba histolytica* adherence lectin in Bangladeshi children". *J Infect Dis* 2001; 183:1787-1793.
84. Haque R, Mondal D, Duggal P, Kabir M, Roy S, Farr BM, Sack RB, Petri WA Jr. "*Entamoeba histolytica* Infection in Children and Protection from Subsequent Amoebiasis". *Infect Immun* 2006; 74: 904-909.