



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

TRABAJO FIN DE GRADO

**TÍTULO: MECANISMOS MOLECULARES
IMPLICADOS EN LA PATOGENIA DE
*ENTAMOEBIA HISTOLYTICA***

Autor: Laura Moratilla Martínez

Tutor: Francisco Ponce Gordo

Convocatoria: Junio 2018

INDICE

1. Resumen
2. Introducción y antecedentes.
3. Objetivos
4. Metodología
5. Resultados y discusión
 - 5.1 Moléculas de superficie
 - 5.2 Proceso de invasión de la mucosa
 - 5.3 Respuesta del hospedador en el epitelio intestinal
 - 5.4 Mecanismos de evasión de la respuesta inmune del parásito en el epitelio intestinal
 - 5.5 Colonización intestinal
 - 5.6 Colonización final extraintestinal
6. Conclusiones
7. Bibliografía

1. RESUMEN

Entamoeba histolytica es un protozoo parásito que se va a localizar en el colon y el ciego tras la ingestión de los quistes maduros por parte del hospedador, y a continuación puede producirse una invasión tisular, pudiendo llegar a localizaciones extraintestinales como hígado, pulmón o cerebro, y dando cuadros clínicos que van desde asintomáticos a severos y, produciendo incluso disentería amebiana y amebomas extraintestinales en los tejidos que invade. (1)

La amebiasis causada por *E. histolytica* es la tercera causa de enfermedad parasitaria en el mundo, después de la malaria y la esquistosomosis.

Es un parásito que causa 100000 muertes al año, y el 10% de la población presenta la enfermedad, aunque se calcula que 50 millones de personas se infectan al año. Se transmite por ingestión de agua y alimentos contaminados con quistes maduros procedentes de heces. En áreas endémicas la prevalencia puede llegar hasta el 40%, y estas zonas son América Central y del Sur, Asia y África, y zonas con saneamiento deficiente. En los países desarrollados, los grupos de alto riesgo a la infección son los viajeros, inmigrantes o visitantes de áreas endémicas, residentes en instituciones para discapacitados y hombres homosexuales que practican el sexo oro-anal. (2)

2. INTRODUCCION Y ANTECEDENTES

Entamoeba histolytica es un protozoo de distribución mundial, aunque como ya se ha indicado existen regiones del mundo donde es endémica. Es una ameba parásita, que pertenece al género *Entamoeba*. Presenta dos formas de vida, trofozoitos y quistes. El tamaño del trofozoito varía entre los 10 y los 60 μm , y presenta un núcleo con un cariosoma pequeño, compacto y normalmente de localización central, y la cromatina periférica es fina y está distribuida de manera uniforme sobre la superficie interna de la membrana nuclear. La presencia de eritrocitos en el citoplasma de los trofozoitos es diagnóstico de *E. histolytica*, porque es la única ameba del género *Entamoeba* capaz de fagocitar hematíes. Las formas de resistencia son quistes, que cuando están maduros presentan forma esferoidal y contienen cuatro núcleos. Su tamaño oscila entre los 10 y los 20 μm , y los quistes maduros presentan cuerpos cromatoides alargados y redondeados en los extremos. Esta ameba es

morfológicamente indistinguible de *Entamoeba dispar*, que no produce invasión de tejidos, lo que dificulta el diagnóstico.(3)

El mecanismo de transmisión es por vía directa tras la ingestión de quistes maduros, que se encuentran en heces formes. Así, la transmisión se produce por alimentos, agua o manos contaminadas por materia fecal. En el intestino delgado se produce la exquistación y se liberan los trofozoitos, en concreto se liberan ocho, que migran al colon para dar lugar a la colonización. Una vez allí se multiplican por fisión binaria y producen quistes que salen en las heces formes, aunque si existe diarrea se puede producir la salida de trofozoitos, que mueren en el exterior. Existen tres posibilidades: el trofozoito puede permanecer en la luz intestinal dándose lugar a una infección no invasiva que cursará de forma asintomática, y cuyos pacientes eliminarán quistes en heces, y esto se produce en el 90% de los casos; se puede producir la invasión de la mucosa intestinal por parte de los trofozoitos dando lugar a una enfermedad intestinal; o éstos pueden llegar a torrente circulatorio y dar lugar a una enfermedad extraintestinal, colonizando otros tejidos como hígado, cerebro o pulmones, entre otros. (1)

E. histolytica es un parásito anaerobio o microaerófilo, que es capaz de sobrevivir al estrés oxidativo que se genera durante su paso por el organismo del hospedador, y aunque carece de glutatión como molécula antioxidante, presenta tripanotiónina, que es un análogo de éste, pero el principal tiol que media la defensa antioxidante es la cisteína, que además protege a los trofozoitos del choque oxidativo producido por el tratamiento farmacológico con metronidazol, que es el fármaco de elección. Por otro lado, la cisteína desempeña un papel fundamental en la conformación de los clústeres hierro-azufre [Fe-S], que son cofactores de muchas enzimas del parásito.

El metabolismo energético es menos complejo que en otros parásitos, ya que no presenta mitocondria, por lo que no presenta ni ciclo de Krebs ni fosforilación oxidativa. Su fuente de energía es la glucosa, que por glucólisis va a producir ATP, necesario para la supervivencia del parásito. (4) Presenta una biosíntesis de aminoácidos muy reducida, y ausencia de vías para la síntesis de novo de purina, pirimidina y timidilato, porque carece de ribonucleótido reductasa. (5)

Como ya se ha dicho, *E. histolytica* carece de algunos orgánulos como son mitocondria, aparato de Golgi o retículo endoplásmico. Se ha comprobado que el orgánulo que podría sustituir a la mitocondria es el mitosoma. (6)

El parásito va a presentar tres mecanismos de patogenia: en primer lugar la lectina de galactosa/N-acetil-d-galactosamina (lectina Gal/GalNAc) que se va a unir a la mucina colónica en la colonización y posteriormente va dar lugar a la adhesión a las células epiteliales intestinales en la patogenia de la enfermedad. En segundo lugar encontramos las cisteinproteasas que son enzimas hidrolíticas que van a degradar la mucina del moco, y lisar la matriz extracelular, y van a estimular las respuestas inflamatorias. Por último está la formación de ameboporos mediante proteínas específicas para destruir las células hospedadoras. (7)

3. OBJETIVOS

El objetivo es conocer el proceso patogénico que se produce en el organismo del hospedador tras la ingestión del parásito. Así los objetivos son conocer los mecanismos de asentamiento y patogenia de *E. histolytica* en el hospedador, la respuesta inmune del hospedador frente a esta invasión y la evasión de la respuesta inmune del parásito para llegar finalmente a colonizar tanto el colon como tejidos extraintestinales, produciendo las manifestaciones típicas.

4. METODOLOGÍA

La metodología se basa en la búsqueda bibliográfica en bases de datos de internet como Pubmed o Sciencedirect, y revisión bibliográfica de artículos científicos, para posteriormente comparar los contenidos de los diferentes artículos, y hacer una síntesis de la información.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Moléculas de superficie

E. histolytica presenta como molécula de superficie, la lectina de galactosa/ N-acetil-d-galactosamina, que es un heterodímero, que consta de una subunidad pesada (Hgl) transmembrana de 170 KDa y una subunidad ligera (Lgl) de 31/35 KDa anclada por glicosilfosfatidilinositol (GPI), ambas unidas por un puente disulfuro. Contiene también una

subunidad intermedia (Igl) de 150 KDa anclada de nuevo por GPI, que se asocia a la subunidad pesada de forma no covalente. La subunidad pesada presenta un dominio de reconocimiento de carbohidratos (CDR), que es clave en la adherencia, porque se une a residuos de galactosa y N-Acetilgalactosamina de la mucina y de las células a las que se une. Solo la Hgl se ha visto que tiene actividad lectina, pero hay estudios que parecen demostrar que también la Igl presenta esta actividad.

Se ha comprobado que el dominio de reconocimiento de carbohidratos de la subunidad pesada, presenta homología con la molécula CD 59, que es un inhibidor presente en el organismo del huésped contra el complejo de ataque de membrana (C5b-C9) del complemento.

Así, se sabe que la lectina de Gal/ GalNAc se encuentra implicada, en la evasión del complemento como mecanismo de evasión de la respuesta inmune, además de en la adhesión y destrucción de las células hospedadoras.

El dominio de reconocimiento de carbohidratos, es capaz de inducir la formación de TNF- α y óxido nítrico (NO) en los macrófagos de médula ósea. Esto se produce porque la exposición de la lectina a los macrófagos da lugar a una mayor expresión del receptor TLR 2 y la producción de citoquinas proinflamatorias. Ésta producción de citoquinas proinflamatorias se produce porque la subunidad pesada presenta homología con la secuencia carboxi terminal de la integrina b2, responsable de la reorganización del citoesqueleto del parásito, y la lectina se une a las balsas lipídicas, que son regiones formadas por dominios ricos en colesterol y esfingolípidos y que sostienen plataformas de transducción de señales, y que tienen un papel en la regulación de la función de los receptores de la superficie celular, de gran importancia para la virulencia de la ameba, por la activación de neutrófilos y macrófagos y la producción de TNF- α con la consiguiente activación de células NK (*natural Killer*). (8)

El colesterol de las balsas lipídicas es fundamental, de hecho, la eliminación de colesterol inhibe la adhesión de los trofozoitos a las células del hospedador y al colágeno. (9)

Luego tenemos otras moléculas de superficie, que son los lipofosfopeptidoglicanos (LPPG). Estos LPPG son proteofosfoglicanos (PPG), que tienen un anclaje de tipo glicosilfosfatidilinositol (GPI), y pueden subdividirse en dos familias: los lipofosfoglicanos (LPG) y los lipofosfopeptidoglicanos (LPPG). El LPPG es un componente de un glicocalix que está compuesto por oligosacáridos de glicoproteínas y glicolípidos que da protección a los trofozoitos porque forma una barrera. (10)

Se sabe que el LPPG actúa como un PAMP (patrones moleculares asociados a microorganismos patógenos) cuando es reconocido por los receptores tipo Toll 2 y 4 (TLR 2 y 4). Esta interacción va a dar lugar a la activación del NF- κ B y la liberación de ciertas citoquinas como interleucina 8 (IL-8) interleucina 10 (IL-10), e interleucina 12 (IL-12), y el factor de necrosis tumoral (TNF- α) en los monocitos. (11)

5.2 Proceso de invasión de la mucosa

Todo comienza con la ingestión de los quistes maduros por parte del hospedador. En el estómago empieza la inmunidad innata en el hospedador, con el ácido del estómago, pero al estar en forma de quiste con una pared formada por quitina, los quistes de *E. histolytica* son resistentes. Es en el intestino delgado, donde se produce la exquistación y salen los trofozoitos, que son capaces de producir la invasión. En el intestino grueso, el hospedador presenta una barrera que constituye de nuevo inmunidad innata, que es la barrera mucosa que evita que el trofozoito pueda ponerse en contacto directamente con la célula epitelial intestinal. (7)

El primer paso es la unión del parásito a la mucina de la mucosa colónica, que está compuesta por mucinas altamente glicosiladas, siendo la *MUC 2* la principal formadora de gel y es secretada por células caliciformes del intestino grueso y delgado. La mucina se une con alta afinidad a la lectina facilitando la colonización del intestino. (10)

Si la infección cursa asintomática, el parásito se va a unir al moco del colon y va a permanecer en ese lugar sin causar mayor daño.

Si la invasión progresa, se va a dar lugar a la colonización del intestino. Para ello, el parásito unido al moco del colon va a proceder a la degradación del mismo, para llegar a las células epiteliales, donde va a inducir la formación de varias moléculas.

Degradación del moco

La destrucción del moco es llevada a cabo por glicosidasas y cisteinproteasas. Las proteínas secretadas por el parásito tienen actividad glucosidasa, siendo la que más actividad presenta la β -Nacetil-d-glucosaminidasa. Otras con menor actividad son α -d-glucosidasa, β -d-galactosidasa, β -1-fucosidasa y α -Nacetil-d-galactosaminidasa. Así, la β -Nacetil-d-glucosaminidasa tiene un papel central en la degradación de la capa de mucina y la exposición de la cadena proteica para la posterior degradación de éstas cadenas por parte de las cisteinproteasas. El parásito presenta 50 genes que codifican para cisteinproteasas, siendo

EhCP-A1, EhCP-A2, EhCP-A5 y EhCP-A7 los más expresados, y representan más del 90% de la actividad proteolítica.

Esta degradación de mucina puede afectar también al metabolismo de la ameba y al equilibrio de la microbiota en el colon, porque la mucina altamente glicosilada es una fuente de carbono para la ameba y para la microbiota del colon. La microbiota produce también glicosidasas, que degradan polisacáridos complejos para el huésped y pueden ser absorbidos también por la ameba. Así, la actividad glicosidasa de las microbiota determina el nivel de carbohidratos libres, por lo tanto influye en el crecimiento y la supervivencia de los trofozoitos. Esto también indica que la microbiota entérica influye en la virulencia de *E. histolytica* durante la infección humana, al controlar el glicobioma (cantidad de carbohidratos colónicos libres). (10)

Una vez que el patógeno se pone en contacto con los enterocitos se producen varios procesos (mostrados en figura 1):

1. El pro- dominio de la cisteinproteasa CP- A5, que se localiza en la superficie de la ameba, es el principal implicado en la invasión del colon, ya que tiene un motivo de unión a integrina llamado RGD (arginina- glicina- aspártico), y la unión de esto a la integrina $\alpha v\beta 3$ en los enterocitos desencadena la señalización de PI3 quinasa / AKT e induce respuestas proinflamatorias de NF κ B por la formación del inflammasoma, que es un complejo multiproteico citosólico, que actúa como un sensor para patógenos y daño celular. Esta CP- A5, además convierte la pre-IL- 1 β en IL-1 β , que es su forma activa, que es una citoquina proinflamatoria. (12) (Número 1, figura 1)

2. Las células epiteliales se unen a la lectina de Gal/ GalNAc y al LPPG presentes en la superficie del parásito, y se produce la unión del dominio de reconocimiento de carbohidratos de la subunidad pesada a través del receptor *Toll- like 2 y 4* (TLR 2 y TLR 4), que activa la vía de señalización clásica de estos receptores, lo que da lugar a la producción de citoquinas proinflamatorias como son IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-12, IFN- γ y TNF- α . Además se produce la activación de NF- κ β . Se observó una correlación entre la expresión aumentada de los receptores TLR y citoquinas proinflamatorias, y la adhesión y el daño celular producido por los trofozoitos. (13) El IFN- γ contribuye a la eliminación de la infección, mientras que el TNF- α se asocia con la enfermedad. (Número 2, figura 1)

3. El parásito secreta Prostaglandina E2 (PGE 2), que se une al receptor 4 de la prostaglandina E (EP4) en las células intestinales y altera las uniones estrechas entre los

enterocitos y aumenta la secreción de cloro luminal, por lo que mejora la infiltración de los trofozoitos. Además también provoca la señalización en una cascada que conduce a la activación de NF κ B en los IEC e induce la secreción de IL-8. Por otro lado la PGE 2 provoca el agotamiento de la barrera protectora de moco porque causa una hipersecreción de mucina, ya que es un potente secretor de esta sustancia. (10) (Número 3, figura 1)

4. Además de todo esto, se va a producir la destrucción de la célula epitelial. En primer lugar se produce la adhesión al dominio de reconocimiento de carbohidratos de la lectina de Gal/ GalNAc en la superficie del parásito porque las células del hospedador contienen residuos de Gal y GalNAc y se produce una elevación de la concentración de calcio intracelular, por lo que se da produce la activación de la calpaina, que es una cisteínproteasa. Esta calpaina activada escinde la calpastatina que es el inhibidor endógeno de la calpaina, y al final este aumento de la calpaina activa la caspasa 3, que está implicada en la apoptosis de la célula. (14)

Es lo que se conoce como matanza celular dependiente de contacto, y se produce tanto en las células epiteliales del intestino como en las células del sistema inmune y los hepatocitos. Tras la apoptosis se produce la fagocitosis de la célula por parte de la ameba, porque la célula va a expresar en su membrana fosfatidilserina (PS). La fosfatidilserina, junto con la C1q, van a ayudar a la fagocitosis porque se van a unir a la EhC2PK y a la calreticulina respectivamente. (7)

5. Otro mecanismo de matanza celular es la trogocitosis, que se produce en células vivas y se inicia igualmente tras la adhesión de la célula al dominio de reconocimiento de carbohidratos de la subunidad pesada de la lectina de Gal/ GalNAc. El mecanismo molecular no está bien definido, pero se sabe que tras la unión se produce una transducción de señales que incluye PI3K y EhC2PK, que influyen en la polimerización de actina, porque es necesario el reordenamiento de los filamentos de actina. También se sabe que se va a producir un aumento la concentración de calcio intracelular. EhC2PK es una quinasa que inicia la fagocitosis. Este proceso de trogocitosis se caracteriza porque el parásito ingiere fragmentos de material de la célula huésped, lo que lleva a la muerte de la célula huésped por la pérdida de la integridad de la membrana y el potencial mitocondrial. Tras la muerte celular la ameba se disocia de la célula y procederá a iniciar el proceso de trogocitosis en otra célula. (15)

6. Además de los anteriores, otro mecanismo de matar a la célula hospedadora son los ameboporos, que son péptidos con 77 residuos de aminoácidos que contienen tres segmentos anfipáticos y están formados por dos hélices α y una lámina β , y que forman canales en la

membrana de la célula. Existen 3 isoformas, los ameboporos A, B y C que se encuentran en proporción 35:10:1 respectivamente. Tienen homología con las lisinas de las células NK y los linfocitos T citotóxicos. Se cree que los los ameboporos se unen a los fosfolípidos de la membrana cargados negativamente a través de sus residuos de lisina protonados, y se inserta en la bicapa lipídica de la célula. El resultado es la formación de un canal en la célula que permite el paso de agua, iones y otras pequeñas moléculas y que da lugar a la lisis de la célula. (16)

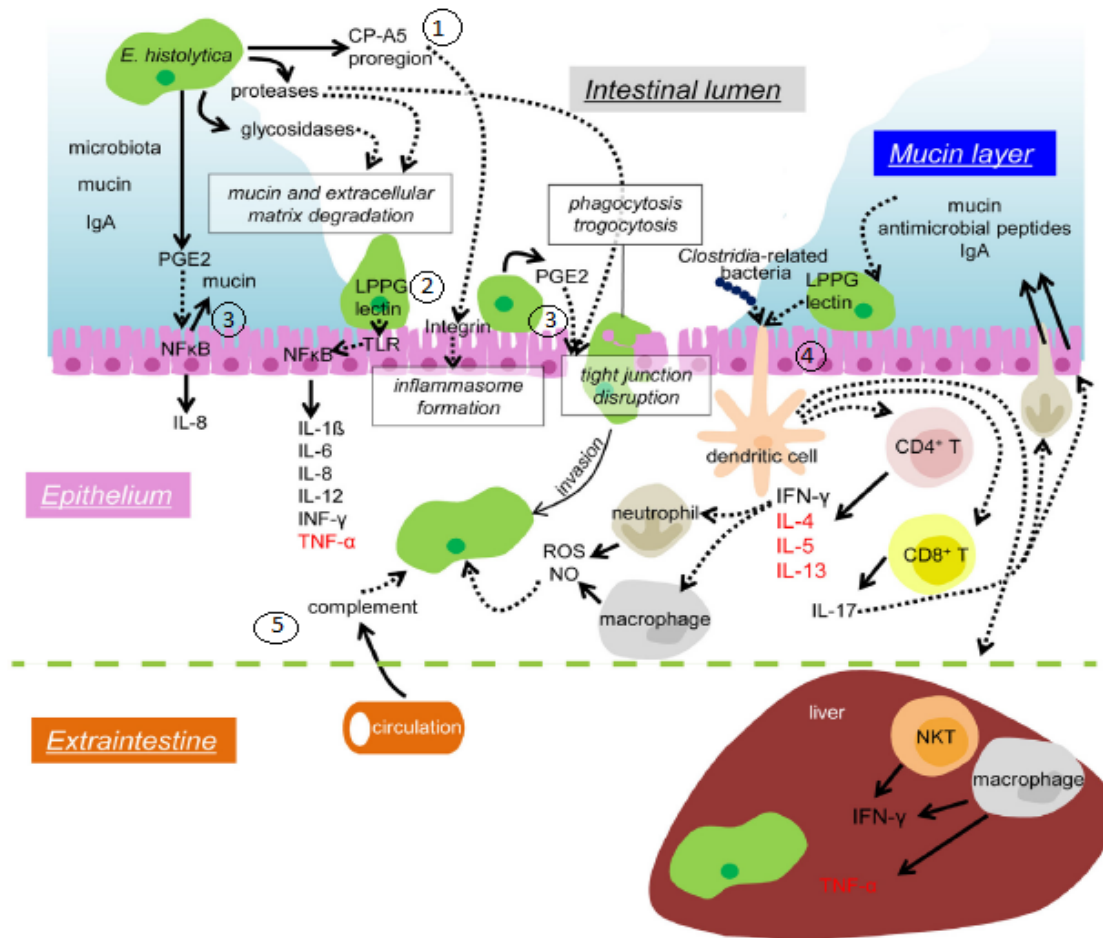


Figura 1: Mecanismos de invasión y colonización de *E. histolytica* y respuesta inmune del hospedador (10)

5.3 Respuesta del hospedador en el epitelio intestinal

De la infección asintomática, o los primeros pasos en la colonización del intestino o el paso a sangre, que es la adhesión a la mucina del moco del intestino, una primera barrera de

defensa, es la presencia de IgA en el mucus, secretada por las células plasmáticas, y su función es evitar la adhesión de los patógenos y la posterior eliminación de la capa. Existen anticuerpos IgA frente a la lectina Gal / GalNAc. (10)

Aquí se va a producir el ataque de neutrófilos y macrófagos, y del complemento, a lo trofozoitos que son capaces de llegar hasta el epitelio intestinal:

Por un lado, la lectina Gal/ GalNAc y LPPG de los trofozoitos son capaces de activar células TCD4, TCD8 (y NK en el hígado), tras la interacción con células dendríticas. Las TCD4 producen IFN γ , IL-4, IL-5 y IL-13, de las cuales las tres últimas favorecen el desarrollo de la enfermedad. Sin embargo el IFN γ , activa neutrófilos y macrófagos para, que estos sinteticen radicales libres de oxígeno (ROS) y compuestos de nitrógeno (NO). Se producen compuestos del nitrógeno usando como sustrato la L-arginina, por medio de la óxido nítrico sintasa inducible (iNOS), y los radicales libres de oxígeno se producen por el complejo NADPH oxidasa. Éstos van a atacar al trofozoito. (10)

Se ha visto que *E. histolytica* es capaz de regular el IFN γ , tiene un efecto inmunomodulador, aumentando la respuesta Th-2 (IL-4, IL-5 e IL-13), y Th-17 (IL-17), mientras que la respuesta Th-1 (IL-12) se suprime, al igual que el IFN γ . (Número 4, figura 1)

Las células TCD 8 van a producir IL-17, que va a tener varias funciones, entre ellas promueve al transporte de IgA a través del epitelio para que haya mayor cantidad de IgA en la mucosa y se evite la adhesión del parásito al moco colónico, y favorece la infiltración de neutrófilos para que ejerzan su acción en la mucosa del colon. Por otro lado, induce la secreción de mucina, y promueve la secreción de péptidos antimicrobianos.

Los péptidos antimicrobianos, más conocidos son las catelicidinas, que son moléculas cationicas de carácter peptídico. Dentro de la catelicidinas, la única descrita en humanos es la LL-37, y se ha visto que las cisteín proteasas secretadas por el parásito la degradan, aunque los fragmentos mantienen su actividad antimicrobiana. (17)

Éstos peptidos son KR-12, que es el péptido más corto, con 12 aminoácidos el KR-20, con 20 aminoácidos y KS-30, con 30 aminoácidos, y se investigó el efecto sobre los trofozoitos, observándose que el KR-20 es el más eficaz y el KR-12 y LL-37 los menos activos. (18)

Por otro lado, tenemos el complemento. En este caso, éste sistema es el mayor componente que va a producir la destrucción de los trofozoitos y va a evitar su diseminación. Los factores C3a y C5a, son aflatoxinas, y son activadores de la inflamación, porque

favorecen la producción de citoquinas proinflamatorias, como IL-6 y TNF- α por parte de los macrófagos. Además también aumentan la permeabilidad vascular y atraen células inmunitarias, tanto en epitelio como en tejidos extraintestinales y la circulación. La activación del complemento va a concluir con la formación del complejo de ataque de membrana (MAC), que va a lisar la membrana del parásito. (10) (Número 5, figura 1).

5.4 Mecanismos de evasión de la respuesta inmune del parásito en el epitelio intestinal

El parásito tiene mecanismos de defensa frente a los macrófagos y neutrófilos, y frente al complemento. También es capaz de modificar las concentraciones de las citoquinas y producir diferentes citoquinas para controlar la respuesta. Y degrada IgA y el mucus. Además fagocita células inmunes por el mecanismo de apoptosis y posterior fagocitosis.

Los mecanismos de evasión son:

1. En el caso de la degradación del mucus, como ya se ha explicado se lleva a cabo por glucosidasas y cisteinproteasas. En la degradación de la IgA, también se encuentran implicadas las cisteinproteasas, que provocan la escisión de la molécula. Son también las cisteinproteasas las que degradan la IL-1 β , que es una citoquina proinflamatoria. (Número 1, figura 2)

2. En el caso de los neutrófilos, se ha observado que un trofozoito puede matar hasta 3000 neutrófilos. En este caso, el trofozoito presenta enzimas antioxidantes, que pueden interrumpir la actividad NADPH oxidasa e inhibir el estallido respiratorio de los neutrófilos para evitar el estrés oxidativo. Estas enzimas antioxidantes son la superóxido dismutasa, la NADPH: flavina oxidoreductasa, que son capaces de detoxificar los radicales libres de oxígeno (ROS) al formar peróxido de hidrógeno (H₂O₂), y la peroxirredoxina, que es una proteína de superficie con potente actividad antioxidante. También ha habido estudios que han demostrado que la ameba puede producir la apoptosis de neutrófilos por la generación de ROS por la activación de la NADPH oxidasa a través de la activación de la quinasa ERK1/2. (10) (Número 2, figura 2)

3. En el caso de los macrófagos, los trofozoitos son capaces de inhibir el estallido respiratorio (ROS: H₂O₂, O₂⁻, OH⁻) y la producción de óxido nítrico (NO), por diferentes mecanismos: uno de ellos es que la L-arginina que es un sustrato para la producción de NO por la iNOS es transformada por la arginasa de la ameba a L-ornitina, por lo que se limita la producción de NO. (Número 3, figura 2) Otro mecanismo es que el parásito produce

prostaglandina E2 (PGE2), que actúa como inmunorreguladora, y que es producida por una enzima similar a la ciclooxygenasa (COX). Esta PGE2, mediante la interacción con los receptores de prostaglandina E 2 y 4 (EP 2/4) aumenta los niveles de AMPc en los macrófagos, lo que inhibe la liberación de citoquinas de Th1, el estallido oxidativo y la síntesis de NO por la ruta de la proteína quinasa C (PKC). Por último, el factor inhibidor de la locomoción de monocitos (MLIF), que es un pentapéptido inmunosupresor que inhibe la producción de NO. (10) (19)

4. En el caso del complemento, se va a producir la evasión, porque como ya se ha explicado, la lectina Gal/GalNAc del parásito, en concreto el dominio de reconocimiento de carbohidratos de la subunidad pesada, presenta homología con CD 59 humano, que es una proteína del organismo que previene la lisis porque evita que se forme el complejo de ataque de membrana (MAC), ya que evita que la fracción C9 del complemento se una al complejo C5b678 y se forme el poro en la membrana. (7) Además las actividades proinflamatorias de los componentes C3a y C5a, que son anafilotoxinas, son eliminadas, ya que el parásito secreta cisteinproteasas capaces de hidrolizar estos componentes. (10) (Número 4, figura 2)

5. También está el *capping*, que es una técnica de evasión, en la cual una vez que los receptores de superficie del parásito son reconocidos por anticuerpos del hospedador, se polarizan hacia el extremo posterior del mismo y son eliminados de la superficie. Esto tiene lugar gracias a la proteasa romboidal 1 (EhROM1), que se dirige a la subunidad pesada de la lectina y se dirige a la membrana celular cuando se produce el *capping*. (20) (Número 4, figura 2)

6. Por otro lado, la PGE 2 inducida por la ameba en el lumen va a dar lugar a la producción de IL-10, que se ha demostrado que mejora la producción de *MUC-2* contribuyendo a mantener la integridad de la barrera mucosa, suprime la activación de células presentadoras de antígenos, favorece la producción de IgA por parte de las células plasmáticas. La sobreestimulación del TLR por parte de LPPG o la lectina da lugar a la regulación a la baja de NFκB proinflamatoria, es decir, amortigua la señal proinflamatoria del NFκB en las células intestinales. Por otro lado promueve la inducción de células CD 4+ (T reg).

Además se ha comprobado que la IL-10 tiene acción antiinflamatoria, por lo que se puede suprimir la reacción inmune frente al parásito. (Número 5, figura 2)

7. Una vez en el epitelio intestinal, la unión del LPPG del parásito al receptor TLR2 en monocitos y macrófagos, va a dar lugar a la secreción de citoquinas antiinflamatorias IL-10 y TGF- β . Se sabe que las dosis altas de LPPG regulan negativamente la expresión del gen TLR2 en monocitos y causan retroalimentación negativa que va a atenuar las respuestas inflamatorias. (Número 6, figura 2)

8. En este caso la microbiota forma parte, ya que los microorganismos *Bacteroides fragilis* y los grupos XIV y IV de especies de *Clostridium*, por medio de las células dendríticas, inducen el desarrollo de células reguladoras T (Treg) en el colon, produciendo las citoquinas antiinflamatorias IL-10 y TGF- β . El polisacárido A de *B. fragilis* se une a TLR 2 en células TCD 4 e induce la producción de TGF- β . (Número 7, figura 2)

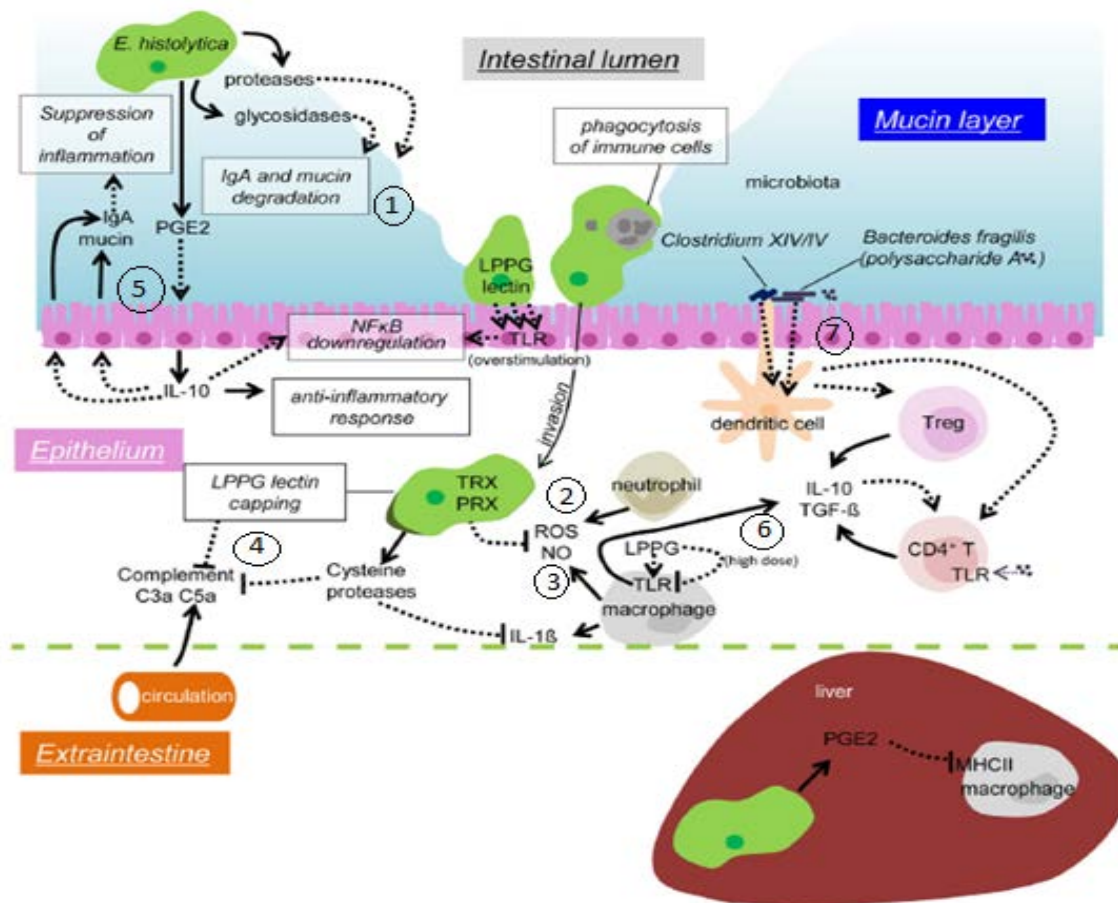


Figura 2: Posibles mecanismos de evasión de *E. histolytica* (10)

5.5 Colonización intestinal

Al final, la destrucción de los enterocitos producida por los distintos mecanismos, y los neutrófilos y macrófagos, que son atraídos dan lugar a úlceras que se van haciendo más grandes a medida que el parásito va degradando la matriz extracelular, y se producen las llamadas úlceras en cuello de botella. Se llaman así porque tiene una pequeña entrada desde el intestino que corresponde a la destrucción de los enterocitos y en el interior, el parásito ha ido lisando la matriz extracelular, que ofrece menor resistencia a la destrucción. (21)

Las enzimas lisosómicas liberadas por leucocitos polimorfonucleares y monocitos contribuyen a la destrucción del tejido y a la extensión de la lesión. (22)

5.6 Colonización final extraintestinal

El último paso en la colonización de tejidos extraintestinales por parte del parásito es la degradación de la membrana basal para entrar en circulación sanguínea. Para esto se requieren proteasas y glucosidasas. Esta etapa de la lesión se caracteriza por la lisis continua de las células, la penetración a través de la locomoción y la degradación proteolítica de la membrana basal.

Para llevar a cabo esta degradación de la membrana basal, la cisteinproteasa EhCP-A5, que va a inducir la secreción de TNF- α e IL-1 β , que a su vez va a inducir la expresión de metaloproteasas, que provocan la alteración de las estructuras de colágeno presentes en la lámina media. (23) No está muy bien conocido el papel de las glicosidasas, pero por analogía a la metástasis del cáncer se puede pensar que β -hexosaminidasa puede estar involucrada en la invasión tisular y la diseminación extraintestinal.

Una vez en sangre, el organismo del hospedador va a atacar al parásito por medio del complemento, neutrófilos y macrófagos, y células T, al igual que ocurría cuando el parásito penetraba en el epitelio intestinal. También se van a producir anticuerpos de tipo IgG frente al parásito.

De igual forma que sucedía en el epitelio, el parásito va a poder evadir la respuesta del complemento, va a producir la escisión de IgG circulante, y se cree que esta degradación podría evitar la activación de la vía clásica del complemento. También evadirá la respuesta de los macrófagos. Este proceso es igual al descrito anteriormente para el epitelio.

En circulación sanguínea, el parásito obtiene el hierro que necesita para su supervivencia por medio de la fagocitosis de eritrocitos, a partir de hemoglobinas. Es por eso por lo que *E. histolytica* es la única capaz de producir esta fagocitosis, y como ya se ha mencionado, la presencia de hematíes en el citoplasma del parásito sirve de diagnóstico. (21)

Una vez sobrepasadas las defensas del huésped llega a tejidos, uno de los más comunes es el hígado.

Allí, el organismo se defiende por medio de las células asesinas naturales NK, que producen INF γ , y de los macrófagos, que van a producir IFN γ y TNF α , que es la molécula que va a dar lugar a los abscesos, porque está asociado a daño tisular.

En cuanto a la defensa del microorganismo en hígado, la PGE2 producida por el parásito, va a producir un aumento en los niveles de AMPc, lo que conlleva a la una disminución de la expresión de las moléculas del MHC (complejo principal de histocompatibilidad) de clase II, la producción de NO y la producción de TNF- α , lo que va a dar lugar a una antiinflamación. Además, estos macrófagos no responden al IFN γ y no secretan citoquinas.

El microorganismo va a matar hepatocitos por medio de los ameboporos, anteriormente explicados. En el hígado se va a producir un absceso, que es una lesión producida por la muerte de los hepatocitos, causada a su vez por la lisis de los neutrófilos y la liberación de sus mediadores, que da lugar a pequeñas lesiones que se unen, dando lugar a una lesión mayor. (23) Las úlceras corresponden a tejido hepático necrosado con sangre.

Además del hígado, el parásito puede diseminarse a distintos tejidos, por ejemplo por contigüidad anatómica, si atraviesa el diafragma puede llegar a pulmones, pleura y pericardio, y puede producir atelectasia, pleuritis, enfisema y condensación pulmonar. La invasión del parénquima pulmonar por *E. histolytica*, conduce al desarrollo de neumonitis intersticial, seguido de licuación y formación de un absceso pulmonar.

También, por vía sanguínea se puede diseminar dando lugar a amebosis cutánea o amebosis cerebral, entre otras. (22)

6. CONCLUSIONES

E. histolytica es un parásito muy virulento, con gran cantidad de mecanismos para evadir la respuesta inmune del hospedador y propagarse hasta distintas zonas del organismo, por lo que como ya se ha explicado, puede causar desde una colonización asintomática hasta una disentería amebiana si permanece en el intestino o amebomas en los distintos tejidos en los que coloniza. Es su capacidad de colonizar distintos tejidos y de evadir la respuesta inmune del hospedador, por lo que *E. histolytica* es considerada una ameba parásita, en concreto es la única de las distintas especies del género *Entamoeba* considerada parásita.

Es por esto, por lo que es necesario profundizar en el conocimiento del mecanismo de colonización y evasión de la respuesta inmune para poder desarrollar fármacos que lo eviten y poder frenar la colonización de este parásito, que hoy en día sigue causando muertes, sobretodo en países en vías de desarrollo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Pathogen & Environment | Amebiasis | Parasites | CDC [Internet]. Cdc.gov. 2018 [citado 22 de enero 2018]. Available from: <https://www.cdc.gov/parasites/amebiasis/pathogen.html>
2. Chacín-Bonilla L. Amebiasis: aspectos clínicos, terapéuticos y de diagnóstico de la infección. Rev méd Chile. 2013; 141(5): 609-615.
3. Ash L, Orihel T. Atlas de parasitología humana. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2010.
4. Pineda E, Perdomo D. Entamoeba histolytica under Oxidative Stress: What Countermeasure Mechanisms Are in Place?. Cells. 2017 Dec; 6(4): 44
5. Anderson IJ, Loftus BJ. Entamoeba histolytica: observations on metabolism based on the genome sequence. Exp Parasitol. 2005 Jul; 110(3): 173-177.
6. Tovar J, Fischer A, Clark CG. The mitosome, a novel organelle related to mitochondria in the amitochondrial parasite Entamoeba histolytica. Molecular microbiology. Volume 32, Issue 5. June 1999. Pages 1013–1021
7. Begum S, Quach J and Chadee K (2015) Immune Evasion Mechanisms of Entamoeba histolytica: Progression to Disease. Front. Microbiol. 6:1394.
8. Kato K, Yahata K, Gopal Dhoubhadel B, Fujii Y, Tachibana H. Novel hemagglutinating, hemolytic and cytotoxic activities of the intermediate subunit of Entamoeba histolytica lectin. Sci Rep. 2015 Sep 10;5:13901
9. Goldston AM, Powell RR, Koushik AB, Temesvari LA. Exposure to Host Ligands Correlates with Colocalization of Gal/GalNAc Lectin Subunits in Lipid Rafts and Phosphatidylinositol (4,5)-Bisphosphate Signaling in Entamoeba histolytica. Eukaryotic Cell. 2012;11(6):743-751.
10. Nakada-Tsukui K and Nozaki T (2016) Immune Response of Amebiasis and Immune Evasion by Entamoeba histolytica. Front. Immunol. 7:175.
11. Maldonado C, Trejo W, Ramirez A, et al. Lipophosphopeptidoglycan of Entamoeba histolytica induces an anti-inflammatory innate immune response and downregulation of toll-like receptor 2 (TLR-2) gene expression in human monocytes. Arch Med Res. 2000; 31(4): 71-73.

12. Faust DM, Guillen N. Virulence and virulence factors in *Entamoeba histolytica*, the agent of human amoebiasis. *Microbes and Infection* 14 (2012) 1428-1441.

13. Galván-Moroyoqui J, del Carmen Domínguez-Robles M, Meza I. Pathogenic bacteria prime the induction of Toll-like receptor signalling in human colonic cells by the Gal/GalNAc lectin Carbohydrate Recognition Domain of *Entamoeba histolytica*. *International Journal for Parasitology*. Volume 41, Issue 10, 15 August 2011, Pages 1101-1112.

14. Kim K, Lee Y, Shin M. Calpain-dependent calpastatin cleavage regulates caspase-3 activation during apoptosis of Jurkat T cells induced by *Entamoeba histolytica*. *International Journal for Parasitology*. Volume 37, Issue 11, September 2007, Pages 1209-1219

15. Ralston KS. Taking a bite: Amoebic trophocytosis in *Entamoeba histolytica* and beyond. *Curr Opin Microbiol*. 2015 Dec;28:26-35.

16. Espinosa-Cantellano M, Martínez-Palomo A. Pathogenesis of Intestinal Amebiasis: From Molecules to Disease. *Clinical Microbiology Reviews* Apr. 2000, p. 318–331

17. Cobo ER, He C, Hirata K, Hwang G, Tran U, Eckmann L, et al. *Entamoeba histolytica* induces intestinal cathelicidins but is resistant to cathelicidin-mediated killing. *Infect Immun*. 2012; 80: 143-149.

18. Rico-Mata R, De Leon-Rodriguez L, Avila E. Effect of antimicrobial peptides derived from human cathelicidin LL-37 on *Entamoeba histolytica* trophozoites. *Experimental Parasitology*. Volume 133, Issue 3, March 2013, Pages 300-306

19. Moonah SN, Jiang NM, Petri WA Jr (2013) Host Immune Response to Intestinal Amebiasis. *PLoS Pathog* 9(8): e1003489.

20. Baxt LA, Singh U. New insights into *Entamoeba histolytica* pathogenesis. *Curr Opin Infect Dis*. 2008; 21: 489-494.

21. Gómez JC, Cortés JA, Cuervo SI, López MC. Amebiasis intestinal. *Infectio* 2007; 11(1): 36-45

22. Salles JM, Moraes LA, Salles MC. Hepatic Amebiasis. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases* 2003;7(2):96-110

23. Thibeaux R, Avé P, Bernier M, Morcelet M, Frileux P, Guillén N et al. The parasite *Entamoeba histolytica* exploits the activities of human matrix metalloproteinases to invade colonic tissue. *Nature Communications* volume 5, Article number: 5142 (2014)

