

Patología de la amibiasis: factores y causas

Mineko Shibayama y Víctor Tsutsumi



Aunque muchos aspectos de la relación hospedero-parásito en la amibiasis siguen siendo desconocidos, es bien sabido que el microorganismo que la produce tiene entre sus propiedades la de *lisar*; es decir, una gran habilidad para destruir tejidos, creando lesiones de tipo ulcerativo en el intestino, o de tipo necrótico en órganos como hígado, pulmón o cerebro.

Patología de la amibiasis

La naturaleza destructiva de las lesiones anatómicas que produce han hecho que se considere a la *Entamoeba histolytica* como uno de los parásitos humanos dotado de mayor capacidad de destrucción de tejidos. Las lesiones de tipo ulcerativo que produce en el intestino, o de tipo necrótico que ocasiona en órganos como hígado, pulmón o cerebro son muestra de esta gran capacidad destructiva.

En la presente revisión se hará una breve reseña de la patología de la amibiasis en el humano. Ésta servirá para hacer una correlación con el conocimiento actual sobre la patogénesis de la enfermedad. A pesar de que ha habido un progreso importante en esta área, existen todavía muchos aspectos desconocidos sobre la relación hospedero-parásito y la producción del daño amibiano.

La amibiasis sintomática es primariamente una enfermedad intestinal que se manifiesta por una variedad de alteraciones morfológicas. La más común de éstas es la colitis ulcerativa amibiana. En la actualidad sólo se reportan pocos casos de disentería amibiana fulminante, ameboma o apendicitis amibiana.

La colitis ulcerativa amibiana se presenta en cualquier parte del intestino grueso, pero más comúnmente en el ciego, el colon sigmoides y el recto. Se caracteriza por presentar úlceras circulares (de 0.1 a 0.5 centímetros) con bordes elevados y edematosos, y con centros necróticos (Figura 1). Las ulceraciones pueden pre-



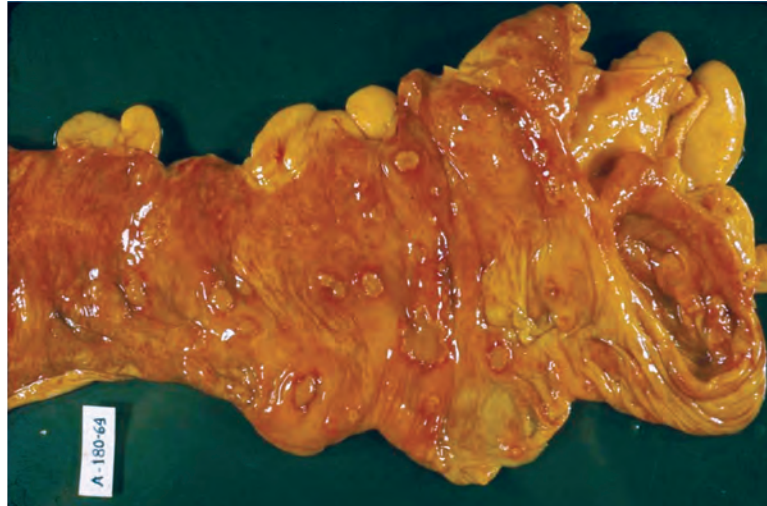


Figura 1. Amibiasis intestinal humana. Se observan numerosas úlceras nodulares en la mucosa (cortesía del Dr. Jesús Aguirre).

sentarse también como lesiones irregulares alargadas de varios centímetros de longitud. Estas lesiones se encuentran principalmente en el ciego y en el colon ascendente, y son superficiales. Ambos tipos de lesiones pueden presentarse simultáneamente. Las alteraciones histológicas de las lesiones ulcerativas pueden mostrar la clásica forma de “botón de camisa”. Estas lesiones se caracterizan por presentar necrosis amplia en la submucosa, con desplazamiento lateral y por encima de la capa muscular externa, que normalmente está intacta, y también necrosis de la parte superficial que da hacia la luz intestinal. Las amibas se observan generalmente en la periferia de las úlceras cercanas a la mucosa de aspecto normal, aunque en ocasiones se observan dentro del tejido fibrinoide que ocupa la parte central de la necrosis.

La disentería amibiana fulminante es una infección intestinal altamente mortal, aunque por fortuna es de muy baja frecuencia. En ella, el intestino grueso se encuentra muy distendido, con extenso daño, y al perforarse ocasiona una peritonitis aguda purulenta, debido al paso de bacterias a la cavidad abdominal. Se presenta principalmente en individuos con desnutrición severa.

El llamado ameboma es también una lesión intestinal poco común. Se presenta en el ciego y el colon ascendente como una masa de 5 a 30 centímetros que ocupa la pared y parte de la luz intestinal, y puede confundirse con un posible tumor del colon, por lo que es

importante su diagnóstico correcto; asimismo, las lesiones nodulares de tipo amibiano deben caracterizarse cuidadosamente.

Amibiasis hepática

Los abscesos hepáticos son la complicación extraintestinal más común de la lesión amibiana intestinal invasiva. Sin embargo, por lo menos un tercio de los casos de amibiasis hepática no muestran evidencia de amibiasis intestinal invasora cuando son diagnosticados clínicamente por primera vez.

A simple vista, el absceso hepático amibiano es un área en la que el tejido parenquimatoso del hígado ha sido completamente sustituido por un material necrótico amarillento de consistencia cremosa, y limitada por tejido hepático congestivo. El material necrótico puede ser semilíquido, y cuando los abscesos son grandes la parte central es líquida, dando un aspecto de cavidad (Figura 2).

Las amibas se localizan preferentemente en la periferia de las lesiones necróticas cercanas al parénquima hepático de aspecto normal. Algunas amibas pueden mostrar glóbulos rojos o restos celulares que han sido fagocitados. Las células inflamatorias en los abscesos grandes no son muy abundantes, aunque los espacios portales en el parénquima del hígado pueden mostrar un infiltrado inflamatorio de tipo crónico.

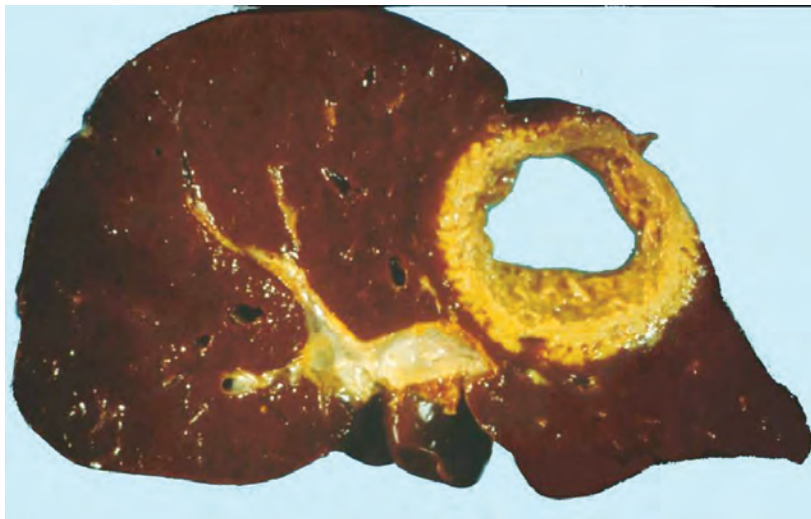


Figura 2. Amibiasis hepática humana. Se observa un gran absceso hepático cavitario (cortesía del Dr. Jesús Aguirre).

Patogenia de la amibiasis

La posibilidad de utilizar modelos experimentales en sistemas *in vitro* e *in vivo* de la enfermedad amibiana, tanto para la forma intestinal como para la hepática, así como el conocimiento del genoma amibiano, la identificación de diversos factores de virulencia y los avances sobre la respuesta del hospedero a la infección han sido muy importantes para comprender la patogénesis de la infección amibiana.

A partir de estos estudios se ha podido establecer que la amibiasis es un proceso fisiopatológico con múltiples etapas y con un comportamiento multifactorial. Los mecanismos involucrados se han relacionado con diversos fenómenos, como: i) la participación de la microbiota bacteriana, ii) la adherencia del parásito, iii) la muerte celular dependiente o independiente de contacto, iv) la actividad proteolítica y v) la fagocitosis.

Papel de las bacterias

En el intestino, los múltiples factores con los que interactúan los trofozoítos amibianos pueden modular los procesos de invasión y destrucción de tejidos. El contacto entre las amibas y la microbiota bacteriana del intestino grueso constituye el inicio de las primeras interacciones hospedero-parásito que podrían dar inicio a la enfermedad.

Las bacterias representan una fuente de alimento para las amibas, y la microbiota bacteriana provee las condiciones anaeróbicas que son importantes para el crecimiento del parásito. De ahí que podría influir en la proliferación de las amibas, así como en el proceso de enquistamiento.

Se ha propuesto que las amibas son selectivas en su interacción con diferentes especies bacterianas, y únicamente ingieren aquellas que pueden ser reconocidas. Igualmente se ha sugerido que la composición de la flora intestinal podría alterar en forma importante la patogenicidad de la amibiasis, ya que se ha observado que en las infecciones mixtas con bacterias enteropatógenas y *Entamoeba histolytica* las manifestaciones clínicas de la enfermedad están aumentadas. Estos hallazgos son relevantes para los estudios de la patogenicidad de este parásito en países o en zonas en donde existen áreas endémicas de amibiasis intestinal conjuntamente con infecciones bacterianas, como desafortunadamente sucede en México.

Estudios posteriores han mostrado que determinadas cepas de bacterias pueden alterar la adherencia y la citotoxicidad de las amibas, lo que facilitaría el desarrollo de la enfermedad invasiva. Aunque estos estudios sugieren que la composición de la flora bacteriana presente en el intestino grueso podría tener un papel importante en la virulencia de *Entamoeba histolytica*, las bases biológicas y moleculares de estas interrelaciones

no se han establecido y permanecen como un problema importante por estudiarse.

● Adherencia

El primer paso en la invasión intestinal por amibas es su contacto y adhesión a las células del hospedero. En la adhesión participan moléculas específicas del parásito llamadas adhesinas. La más estudiada es la lectina Gal/GalNac. La proteína nativa está compuesta por un heterodímero con un peso molecular de 260 kilodaltons, formado por una subunidad pesada (170 kilodaltons) unida por un enlace disulfuro a la subunidad ligera (35/31 kilodaltons), asociadas en forma no covalente con una subunidad intermedia (150 kilodaltons).

Su participación específica en la adherencia de los trofozoítos amibianos a células en cultivo se demostró al bloquear la adhesión de las amibas en presencia del azúcar galactosa, que compite por los mismos sitios en las células que utiliza la lectina.

Se ha establecido que la adhesión de las amibas a las células blanco es necesaria para que las primeras ocasionen el daño celular. Por estas características, la lectina se ha utilizado para evidenciar la presencia de amibas invasoras en pruebas diagnósticas, y como un candidato para la producción de vacunas contra la amibiasis.

Se han descrito otras moléculas en las amibas que están implicadas en la adherencia y, aunque menos estudiadas, son también importantes. Entre ellas están la lectina de 220 kilodaltons que se une a la N-acetilglucosamina, y la adhesina de 112 kilodaltons que fue descubierta mediante el uso de mutantes deficientes en adherencia. Esta última posee, además, actividad enzimática de proteinasa de cisteína, por lo que podría también participar en la degradación de moléculas durante la invasión de los tejidos. Una vez que las amibas atraviesan la capa de mucus que recubre a la mucosa, se adhieren a las células epiteliales del intestino y fagocitan glóbulos rojos provenientes de vasos sanguíneos cercanos, destruidos por la invasión. Aseguran así una fuente de hierro, indispensable para su sobrevivencia. Los eventos celulares que siguen a la adherencia son aún enigmáticos, aunque hay evidencias que sugieren que el contacto amiba-célula puede implicar

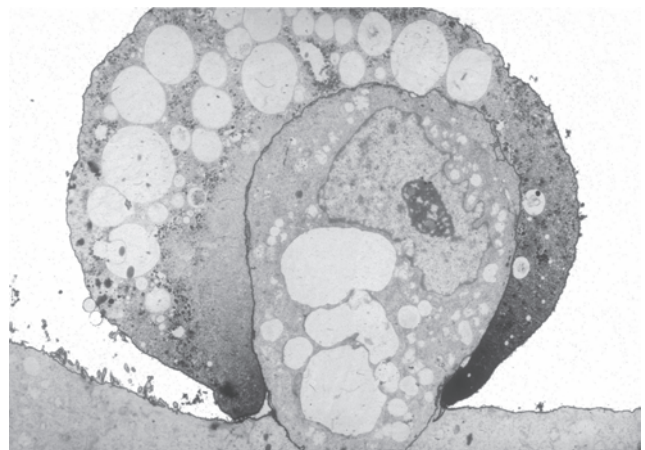
la inducción de la *apoptosis* o muerte programada de las células blanco.

● Muerte celular

Una de las propiedades que caracteriza a las amibas, y que está expresada en su nombre, *Entamoeba histolytica*, es su gran habilidad para *lisar*; es decir, destruir tejidos.

Se han hecho experimentos en los se que indujo la formación de abscesos hepáticos amibianos en ratones que fueron tratados con un inhibidor de las enzimas llamadas *caspasas*, que son características del proceso de apoptosis y que se producen y activan en las células debido a varios tipos de señales externas, entre ellas el contacto con diversos parásitos. Durante la formación del absceso se observaron lesiones amibianas en los hígados de los ratones. Estas observaciones sugieren que la citólisis y la apoptosis inducidas por los trofozoítos, en estas condiciones, pueden contribuir al desarrollo del absceso hepático, y que el contacto directo de las amibas puede ser el primer paso de la muerte celular.

Sin embargo, se ha descrito que algunos hepatocitos, que en presencia de amibas muestran núcleos picnóticos (con alteraciones en la organización del material genético) y que son positivos para la reacción de TUNEL (técnica para demostrar la fragmentación del ADN), no se encuentran en contacto directo con ellas. Por ello, su apoptosis sería más bien una acción secundaria a la iniciada por moléculas liberadas por las ami-



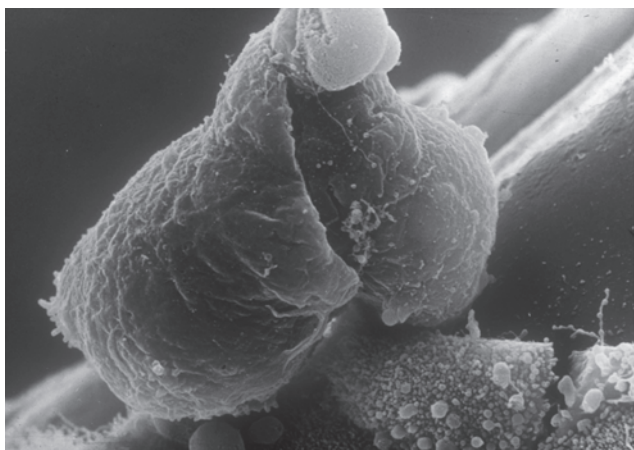
Amibas (*Entamoeba histolytica*) en contacto o fagocitando células epiteliales. Microscopía electrónica de transmisión.

bas, como los llamados *ameboporos* y las enzimas proteinasas de cisteína.

Se conoce además que la isquemia (disminución del riego sanguíneo) causada por la obstrucción de los vasos sanguíneos del hígado, causada por las amibas, provoca muerte celular. La rápida eliminación de las células que murieron por apoptosis, al ser fagocitadas por las amibas, limitaría el arribo de células inflamatorias, favoreciendo una infección prolongada o progresiva al no inducirse una respuesta inmunitaria adecuada.

En estudios *in vivo*, utilizando hámsters como modelos para inducir la infección amibiana hepática en un sistema independiente de contacto, se encontró que las amibas presentaban rasgos típicos de muerte celular programada. Los autores de este trabajo demostraron que estos cambios se presentaron debido a la activación de las células inflamatorias de la cavidad peritoneal y la producción de metabolitos altamente reactivos y tóxicos, como el óxido nítrico.

En estudios más recientes se ha demostrado que el antibiótico denominado aminoglicósido G418 desencadena muerte celular programada en las amibas, evaluada mediante análisis ultraestructural y por diversas técnicas bioquímicas y farmacológicas, y el análisis de genes involucrados en apoptosis. A pesar de estos importantes avances sobre el proceso de muerte de las células blanco, así como de los que se inducen en las propias amibas, es indispensable una investigación más a fondo para obtener evidencia sobre cómo podría controlarse que la infección amibiana avance o se detenga.



Amibas (*Entamoeba histolytica*) en contacto o fagocitando células epiteliales. Microscopía electrónica de barrido.

Ameboporos

Otras moléculas que utilizan las amibas para destruir células son los péptidos (pequeñas proteínas) formadores de poros, conocidos en su conjunto como *ameboporos*, y que tienen funciones similares a las proteínas formadoras de poros presentes en células del sistema inmunitario. Los ameboporos constituyen una familia de péptidos pequeños (5 a 30 kilodaltons) contenidos en vesículas del citoplasma de las amibas. Los ameboporos se insertan en la membrana de células blanco y causan su lisis. Las amibas que no expresan ameboporos son incapaces de matar células del hospedero o producir absceso hepático amibiano en un hámster infectado. Los hepatocitos afectados por el parásito muestran procesos indicativos de que existe una activación directa de la maquinaria de la apoptosis, que parecería activarse durante el contacto amiba-célula por la acción inicial del ameboporo, aunque no está claro por qué esta molécula tendría que inducir apoptosis en una célula ya condenada a muerte.

Actividad proteolítica

Existe una gran variedad de proteasas (enzimas que degradan proteínas) que las amibas secretan en el entorno del tejido que invaden, y que participan en varios niveles del proceso invasivo.

La primera evidencia de la patología intestinal amibiana es el incremento en la cantidad del moco secretado por las células caliciformes del epitelio intestinal, y posteriormente su disminución, lo que permite que se altere la barrera epitelial y se facilite la penetración de las amibas. Para invadir un tejido, las amibas tienen que degradar los componentes de la matriz extracelular, y esto se lleva a cabo en gran parte por la acción de proteinasas que ellas secretan, y que también se encuentran en la membrana y el citoplasma.

Estas proteinasas degradan proteínas de la matriz como colágeno, elastina, fibrinógeno, fibronectina y laminina. Las proteinasas de cisteína, también secretadas por las amibas, interfieren en la función del sistema inmunitario, participan en el enquistamiento y desenquistamiento de las amibas, y se les ha involucrado en la inducción de apoptosis. Se sabe que más de 50 genes codifican para varias proteinasas de cisteína, las

La fagocitosis de glóbulos rojos (eritrofagocitosis) es una característica muy común en las amibas invasoras, y su presencia en el citoplasma fue uno de los criterios biológicos que se usaron en el pasado para poder reconocerlas en heces disentéricas y lesiones hepáticas.

cuales se expresan dependiendo de las cepas amibianas y de las diferentes condiciones del cultivo.

Una de las más estudiadas es la proteinasa de cisteína 5, que se encuentra localizada en la membrana de los trofozoítos. En estudios recientes se mostró que si se elimina la expresión de esta proteinasa en las amibas, hay disminución en la degradación de la mucina y mayor destrucción celular, además de que amibas deficientes en esta enzima mostraron menor actividad fagocítica y reducción en el tamaño del absceso hepático experimental. Inhibidores específicos de estas enzimas, como el E-64, reducen la formación de absceso hepático experimental en animales infectados.

En años recientes, se ha introducido en el mercado una nueva generación de inhibidores de este tipo de proteasas, los cuales se espera que resulten útiles en terapias farmacológicas más específicas contra las amibas.

Fagocitosis

Una de las propiedades biológicas de la amiba que más se ha estudiado *in vitro* es la fagocitosis. Se caracteriza por la ingestión de bacterias y células vivas, así como de células muertas y fragmentos celulares. La fagocitosis de glóbulos rojos (eritrofagocitosis) es una característica muy común en las amibas invasoras, y su presencia en el citoplasma fue uno de los criterios biológicos que se usaron en el pasado para poder reconocerlas en heces disentéricas y lesiones hepáticas. Sin embargo, en estudios experimentales más recientes, se ha demostrado que las amibas capaces de producir lesiones hepáticas amibianas en animales no necesariamente muestran una gran actividad eritro-fagocítica.

La fagocitosis es un evento complejo y dinámico en el que intervienen diversas adhesinas, el citoesqueleto y enzimas digestivas, entre otras moléculas de las amibas. Es un proceso altamente ordenado y orquestado en el cual, una vez que el parásito se une y adhiere a la célula blanco, causándole la muerte, ésta es fagocitada y procesada en vacuolas específicas llamadas lisosomas y fagosomas, en donde se degradan los fragmentos celulares. Como se men-



cionó anteriormente, la capacidad de fagocitosis de células dañadas por las amibas puede ayudar a evitar la respuesta inmunitaria, aunque a la vez puede acelerar el ambiente inflamatorio que sería también dañino para la integridad del tejido invadido.

Conclusión

La infección con *Entamoeba histolytica* requiere, además de la expresión de genes de virulencia, de su adaptación a las respuestas del hospedero y a distintos factores en el microambiente de los tejidos que invade. Adicionalmente, las amibas virulentas activan y expresan genes que responden al estrés originado por la respuesta inflamatoria del huésped. Los estudios en el linaje de *Entamoeba histolytica* y la organización de su genoma en la infección, que se han iniciado recientemente, serán muy importantes para comprender mejor la enfermedad amibiana y así poder contar con mejores técnicas diagnósticas, métodos terapéuticos y estrategias para su control.

Mineko Shibayama es químico bacteriólogo y parasitólogo por la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional (IPN). Obtuvo su maestría y doctorado en la especialidad de patología experimental por el Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN (Cinvestav). Su área de investigación es la patogenicidad molecular en *Entamoeba histolytica* y en amibas de vida libre, y la cirrosis hepática experimental. Es profesora titular y coordinadora académica del Departamento de Infectómica y Patogénesis Molecular del Cinvestav, miembro de la Academia Mexicana de Ciencias (AMC) y del Sistema Nacional de Investigadores (SNI).

mineko@cinvestav.mx

Víctor Tsutsumi es médico cirujano egresado de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). Obtuvo su maestría y doctorado en la especialidad de fisiología y biofísica de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del IPN. Su área de investigación es la amibiasis experimental y fisiopatología de las enfermedades crónico-degenerativas del hígado. Es profesor titular del Departamento de Infectómica y Patogénesis Molecular del Cinvestav, miembro de la AMC y del SNI.

vtsutsum@cinvestav.m

Lecturas recomendadas

- Moncada, D., K. Keller, S. Ankri, D. Mirelman y K. Chadee (2006), "Antisense Inhibition of *Entamoeba Histolytica* Cysteine Proteases Inhibits Colonic Mucus Degradation", *Gastroenterology*, 130, 721-730.
- Pérez-Tamayo, R. (1986), "Pathology of Amebiasis", en A. Martínez-Palomo, *Amebiasis*, Amsterdam, Elsevier Science Publishing.
- Petri, W. A. Jr, R. Haque y B. J. Mann (2002), "The Bittersweet Interfase of Parasite and Host: Lectin-Carbohydrate Interactions during Human Invasion by the Parasite *Entamoeba histolytica*", *Annual Review of Microbiology*, 56, 39-64.
- Sánchez Monroy, V., D. G. Ishiwara, M. O. Flores, J. D. Villalba Magdaleno y C. G. García (2010), "*Entamoeba Histolytica*: Differential Gene Expression During Programmed Cell Death and Identification of Early Pro- and Anti-Apoptotic Signals", *Experimental Parasitology*, 126, 497-505.
- Tsutsumi, V. y M. Shibayama (2006), "Experimental Amebiasis: a Selected Review of some *in Vivo* Models", *Archives of Medical Research*, 37, 210-220.