

Análisis comparativo de los sistemas de reparación del daño a la membrana plasmática de protozoarios parásitos y su hospedero.

Rodrigo Martínez-Gallardo¹, Leydi Arlett Villanueva-Tapia², Jorge Luis Tejeda-Salazar¹, Javier Herrera-Gallardo¹, Fátima Ramírez-Montiel¹, Fernanda Torres-Castellanos¹, Fernando Anaya-Velázquez¹, Bernardo Franco¹, Felipe Padilla-Vaca¹ (padillaf@ugto.mx)

¹División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato, Guanajuato, C.P. 36050, México.

²División de Ciencias de la Salud, Campus León, Universidad de Guanajuato, León, C.P. 37670, México.

Resumen

La membrana plasmática (MP) en todos los seres vivos juega un papel muy importante en la viabilidad celular ya que se encarga de aislar selectivamente el contenido de la célula del ambiente externo, regular el intercambio de sustancias entre el interior y el exterior celular y permitir la comunicación intracelular. Numerosos procesos naturales y agentes externos provocan lesiones en la MP; sin embargo, las células cuentan con mecanismos para repararlas y mantener así la homeostasis celular. Durante el proceso infeccioso los protozoarios parásitos que afectan al humano utilizan una batería de moléculas que actúan sobre la MP de las células del hospedero. Por su parte, el hospedero utiliza una serie de estrategias y moléculas para defenderse de los parásitos con la finalidad de evitar su infección y progresión de la enfermedad, donde la MP de los parásitos es uno de los blancos. En células de mamíferos se han descrito diferentes mecanismos de reparación de la MP frente al daño por sustancias líticas microbianas. Uno de estos mecanismos es mediado por la enzima esfingomielinasa ácida (aSMasa) que favorece la internalización de la lesión y la restauración de la integridad de la MP. Recientemente se reportó que el parásito *Entamoeba histolytica* posee un mecanismo para reparar el daño de su MP producido por péptidos antimicrobianos y el sistema del complemento del hospedero, que también es mediado por aSMasas del parásito, pudiendo ser un mecanismo presente en otros protozoarios parásitos como *Trichomonas vaginalis*. Por lo anterior, es relevante contrastar los mecanismos de reparación del daño a la MP mediados por aSMasas que utiliza el parásito *E. histolytica* y su hospedero.

Palabras clave: Membrana plasmática, Esfingomielinasa ácida, *Entamoeba histolytica*.

Membrana plasmática

La membrana plasmática (MP) ha sido reconocida desde hace mucho tiempo como una bicapa lipídica que envuelve la célula separándola del exterior. Además de los lípidos, la MP es un complejo de proteínas y carbohidratos, los cuales se encuentran en constante reorganización y favorecen el intercambio de materia y energía entre el exterior y el interior de la célula (Romero C., y col., 2019).

La MP regula el intercambio de sustancias entre el interior y el exterior celular y permitir la comunicación intracelular. Además, provee sitios de anclaje para el citoesqueleto o los componentes de la matriz extracelular, entre otras muchas funciones, que permite mantener la homeostasis celular. La MP en su capa interna está constituida por fosfatidilserina y fosfatidiletanolamina, mientras que la capa externa la constituyen la fosfatidilcolina y la esfingomielina. También presenta microdominios (balsas lipídicas) enriquecidos de lípidos como colesterol, glicolípidos y esfingolípidos (Meza U., y col., 2010), los cuales son sitios de ensamblaje de complejos proteicos y sustratos de enzimas responsables de la generación de segundos mensajeros, ensamblado de transportadores controlando las interacciones entre células de organismos pluricelulares. Por lo anterior, la integridad y funcionalidad de la MP es importante para mantener la viabilidad de la célula.

Amibiasis

La amibiasis intestinal es una infección ocasionada por el parásito protozoario *Entamoeba histolytica*. De acuerdo con los datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS), la amibiasis afecta aproximadamente a 500 millones de personas en todo el mundo, siendo más afectados los individuos menores de 14 y los mayores de 50 años. La mayor incidencia se da en países en vías de desarrollo en zonas endémicas de

América Central, América del Sur, África y Asia, mientras que el resurgimiento de la amibiasis en países industrializados se debe principalmente a viajeros o inmigrantes provenientes de zonas endémicas (Shirley DAT., y col., 2019).

Existen varias especies de *Entamoeba* que infectan al ser humano, las más estudiadas son la patógena *E. histolytica* y la no patógena *E. dispar*, ya que son morfológicamente indistinguibles. En el portador asintomático, *E. histolytica* reside como comensal en el lumen intestinal sin lesionar los tejidos, solo alrededor de 10% al 20% de estos casos progresan para desarrollar una infección sintomática (Shirley DAT., y col., 2019).

De acuerdo con el órgano o tejido afectado la amibiasis se clasifica en amibiasis intestinal y extraintestinal. La amibiasis intestinal es una infección sintomática no invasiva (diarrea inespecífica), puede provocar colitis amibiana y ameboma que es una infección localizada y crónica del ciego o colon ascendente con presentación clínica en forma de tumor. La amibiasis extraintestinal es cuando se presenta principalmente absceso hepático amibiano, y en ocasiones puede alcanzar el pulmón y el cerebro (Shirley DAT., y col., 2019).

El diagnóstico de la amibiasis se puede realizar mediante varias pruebas y en ocasiones se requiere una combinación de ellas. La microscopía en heces es la más utilizada, en donde se buscan quistes y trofozoítos. Además del método microscópico, se pueden utilizar las pruebas de detección de antígenos (lectina Gal/GalNAc) en heces y la detección de anticuerpos en suero, con una sensibilidad y especificidad variable. El estándar de oro en el diagnóstico es la PCR, debido a su alta eficacia y sensibilidad, pero el costo y la necesidad de conocimientos técnicos limita su uso en entornos endémicos con recursos limitados, sin embargo, ha permitido la identificación y diferenciación de especies no patógenas de *Entamoeba* (Qvarnstrom Y., y col., 2005).

Actualmente no existe una vacuna para la prevención de la amibiasis, por lo que el tratamiento de la infección dependerá del tipo de amibiasis y de la severidad del padecimiento. Los amebicidas con acción a nivel del lumen intestinal incluyen a la paromicina, el yodoquinol y el furoato de diloxanida, que no tienen efecto a nivel tisular, en cambio, la amibiasis invasiva intestinal y extraintestinal se tratan con amebicidas tisulares como los 5-nitroimidazoles que incluyen el tinidazol y metronidazol, siendo el medicamento de elección (Dingsdag SA., y Hunter N., 2018).

Entamoeba histolytica

E. histolytica es un parásito protozoario que se presenta en dos formas celulares, los quistes que es la forma infectiva y de resistencia y los trofozoítos que es la forma invasiva. Los trofozoítos miden entre 20 y 50 μm , tienen motilidad orientable, presentan ectoplasma claro y bien delimitado con pseudópodos y endoplasma granuloso con un núcleo excéntrico. Carece de los orgánulos típicos evidentes de las células eucariotas, en su lugar contiene abundantes vacuolas de tamaño variable (Espinosa-Cantellano y Martínez-Palomo, 2000). Poseen una MP cubierta de glicoproteínas y lipofosfoglicanos, donde el 35% de su contenido lipídico corresponde al fosfonato de aminoetil ceramida, un compuesto resistente a la hidrólisis por fosfolipasas (Castellanos-Castro., y col., 2020). Por otro lado, los quistes miden entre 10 - 15 μm y están cubiertos por una pared compuesta por material fibrilar y quitina. Esta estructura es resistente a diferentes factores tales como jugo gástrico y calor (Ravdin JI., 2000).

El ciclo de vida del parásito empieza cuando los quistes son ingeridos en alimentos o en agua contaminada y su pared es disuelta en el tracto gastrointestinal y el parásito se desenquista liberando un trofozoíto tetranucleado que dará lugar a ocho trofozoítos uninucleados. En el intestino los trofozoítos interactúan con la microbiota intestinal del hospedero, llegando a colonizar el intestino grueso donde se multiplican por fisión binaria. Después de algunos ciclos de división, los trofozoítos se diferencian a quistes y son excretados en la materia fecal. Los trofozoítos que permanecen en el intestino grueso pueden permanecer en el lumen o invadir la mucosa intestinal (Figura 1) (Martínez-Palomo, 1982).

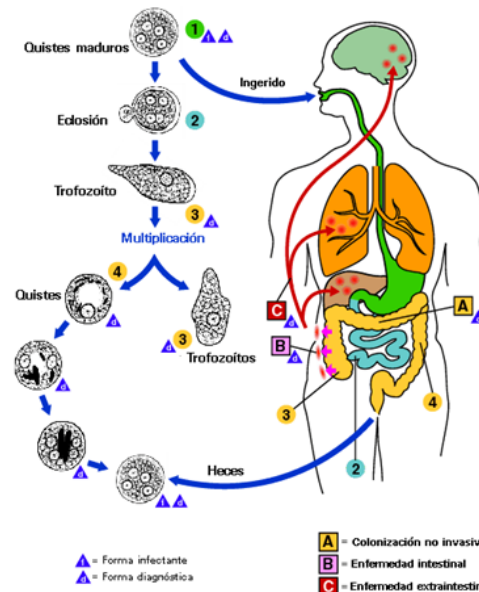


Figura 1. Ciclo de vida de *E. histolytica*. La infección se transmite por la ingestión de quistes maduros (1). El proceso de eclosión ocurre en el intestino delgado y los trofozoítos son liberados (2 y 3). Los trofozoítos se multiplican por fisión binaria y producen quistes. Los quistes y trofozoítos pueden encontrarse en heces de individuos infectados (3 y 4) (Tomado de <http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/html/amebiasis>).

Los trofozoítos de *E. histolytica* son capaces de matar a las células del hospedero mediante varios mecanismos que incluyen la apoptosis, la fagocitosis y la trogocitosis. Para inducir estos eventos la ameba cuenta con factores de virulencia los cuales son moléculas implicadas en el establecimiento de la patología y generalmente participan en procesos de adhesión, colonización, invasión del tejido, evasión e inhibición de la respuesta del sistema inmune. Asimismo, las amebas poseen determinantes de virulencia que les permite sobrevivir y adaptarse a diferentes situaciones de estrés en el hospedero (Anaya-Velázquez y Padilla-Vaca, 2011).

Los clásicos factores de virulencia de *E. histolytica* son: a) Lectina Gal/GalNAc que media la adhesión del parásito a la mucina, células epiteliales y bacterias. Además, se ha sugerido que esta lectina se une a los componentes del complemento C8 y C9 evitando el ensamblaje del complejo de ataque a membrana evitando la lisis por este mecanismo; b) Cisteína Proteasas que participan en la destrucción de monocapas celulares *in vitro*, además de tener la capacidad de degradar componentes de la matriz extracelular e inmunoglobulinas, como IgA e IgG, componentes de la respuesta inmune humoral y la C3 convertasa; c) Amebaporos, moléculas formadoras de poros, capaces de insertarse en la bicapa lipídica de la membrana de células epiteliales, lo que permite el paso de iones, agua y moléculas pequeñas, alterando el equilibrio osmótico de la célula y produciendo su lisis (Anaya-Velázquez y Padilla-Vaca, 2011).

Tricomoniasis

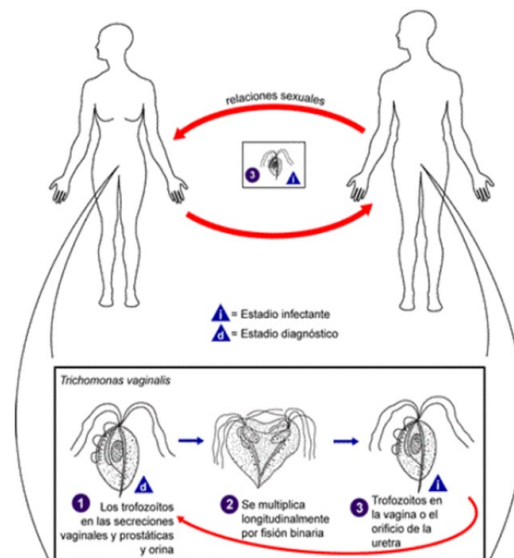
La tricomoniasis urogenital es la enfermedad de transmisión sexual (ETS) más frecuente a nivel mundial, causada por el protozoo parásito *Trichomonas vaginalis*. (Chin J, 2001). La tricomoniasis es una infección cosmopolita, lo cual representa un problema de salud pública mundial. Anualmente se estima alrededor de 276 millones de personas en edad reproductiva infectadas, presentando una mayor incidencia en personas del sexo femenino, en la etapa sexualmente más activa de (20-25 años) (Carrada-Bravo, 2006).

En hombres la enfermedad generalmente cursa de forma asintomática, entre las manifestaciones más comunes se manifiesta secreción de uretra y malestar al interior del pene al orinar o eyacular e infertilidad. En mujeres puede presentarse desde un estado de portador asintomático, hasta síntomas agudos y

crónicos tales como flujo vaginal anormal, dolor genital, además dolor y malestar al orinar e infertilidad (Lewis D., 2014). La detección de la tricomoniasis se puede realizar por medio de diversas técnicas de laboratorio. La observación con microscopía óptica de secreciones uretrales o vaginales y exudados vaginales es la prueba con mayor uso a nivel mundial, aunque su sensibilidad es baja (Maciques I., y Alonso-Castellanos, 2002). Además, el cultivo de las muestras recolectadas, la detección inmunológica con partículas de látex y la PCR de algunos marcadores moleculares son pruebas alternas que ayudan en el diagnóstico de la infección. Para el tratamiento el fármaco por elección es el metronidazol y el tinidazol (Carrada-Bravo, 2006).

Trichomonas vaginalis

T. vaginalis es un protozoo flagelado microaerofílico que se encuentra únicamente en forma de trofozoito, presentando una forma típicamente piriforme, mide alrededor de 9 por 7 μm , su movimiento vibratorio adireccional característico se debe a la presencia de cinco flagelos, uno de los cuales constituye la membrana ondulante. Carecen de mitocondrias y presentan un núcleo prominente, obteniendo su energía de un organelo especial denominado hidrogenosoma. Su nicho ecológico es el tracto urogenital del ser humano, siendo su único hospedero, donde es capaz de adherirse al epitelio vaginal y uretral gracias a factores de virulencia como las adhesinas presentes en la superficie del protozoario (Arroyo R., 2017).



T. vaginalis es un parásito de transmisión sexual de ciclo biológico directo. El trofozoito se transmite a través del coito. Se divide por fisión binaria que comienza con la duplicación de las estructuras locomotoras originando dos trofozoitos (Figura 2). Coloniza el tracto urogenital humano incubándose en un periodo que va desde los 5 hasta los 28 días (CDC, 2017).

Figura 2. Ciclo de vida de *T. vaginalis*. Es un parásito de transmisión sexual de ciclo biológico directo y se transmite a través del coito. Los trofozoitos se encuentran en secreciones vaginales, prostáticas y en orina. El proceso de multiplicación es mediante fisión binaria longitudinal (Tomado de www.cdc.gov/dpdx/trichomoniasis/index.html).

T. vaginalis se encuentra constantemente en un ambiente complejo que va teniendo cambios bruscos, en el que influye el pH, microbiota, la respuesta inmune del hospedero, los niveles de hierro y zinc, las fluctuaciones hormonales, etc. Por lo que el parásito ha tenido que desarrollar mecanismos de adaptación para poder llevar a cabo su proceso infeccioso.

La interacción parásito-hospedero es un proceso multifactorial que depende de mecanismos inherentes al hospedero y de mecanismos inherentes al parásito. Las adhesinas y las cisteín proteasas, juegan un papel clave en la patogénesis de las tricomonas, en donde las adhesinas son importantes para la interacción con las células del epitelio vaginal mediante la unión a receptores. La adhesión se ve facilitada con la actividad

lítica de las proteasas al degradar componentes de la mucosa la cual tiene una función protectora (Figueroa-Angulo, y col., 2012).

Daño a la membrana plasmática

La ruptura de la asimetría lipídica funciona a veces como una señal de que hay alteraciones en la célula, dado que la MP constituye una barrera que mantiene las diferencias esenciales entre el citosol y el ambiente extracelular, cualquier interrupción de esta bicapa conduce a una salida de constituyentes citoplásmicos, que desencadena eventos bioquímicos y estructurales degenerativos que pueden ocasionar la muerte celular. Estos procesos se pueden producir de manera natural o experimental (Petrou T., y col., 2017).

Daño mecánico. Las células pueden estar sometidas a daños mecánicos como lo son cambios constantes de temperatura, presión, salinidad, etc. Incluso bajo sus propias condiciones fisiológicas como la contracción y la división celular. Como resultado de estos daños se puede dar la formación de poros lipídicos en la MP, los cuales se pueden cerrar espontáneamente. Sin embargo, si se excede el número de este tipo de lesiones en la MP pueden producir daños irreversibles (Blazek AD., y col., 2015).

Moléculas formadoras de poros. La membrana plasmática también puede perder su integridad mediante la interacción con proteínas formadoras de poro que pueden dañar a las células de mamíferos y parásitos. Este tipo de moléculas generan la formación de poros proteicos en la MP que no pueden cerrarse espontáneamente, lo cual genera una pérdida de la homeostasis celular que la puede llevar a la desintegración mediante un proceso lítico (Blazek AD., y col., 2015).

Especies reactivas de oxígeno. Cuando se pierde el balance de óxido-reducción celular ya sea por alteración del metabolismo o por exposición de diversos agentes, se provoca un estado de estrés oxidativo, el cual se caracteriza por el aumento de especies reactivas de oxígeno (ROS), que pueden reaccionar con otras biomoléculas celulares produciendo daño. Las ROS alteran la fluidez y generan daño en la MP mediante la formación de “nanoporos” debido a la peroxidación lipídica (Ferranti CS., 2020).

Las células de mamífero pueden estar expuestas a diversos agentes que dañan a su MP. Entre estos tenemos a algunas toxinas bacterianas como la estreptolisina y a agentes líticos producidos para parásitos como el amebaporo producido por *E. histolytica* (Ramírez-Montiel., y col., 2019). Estas moléculas presentan un amplio espectro de células blanco del hospedero. *T. vaginalis* también posee actividades líticas que no han sido totalmente caracterizadas y se ha sugerido que las cisteín proteasas participan en la actividad hemolítica de este parásito (Hernández HM., y col., 2014).

Los parásitos son agentes patógenos que durante el proceso infectivo se confronta a los diferentes sistemas de defensa del hospedero, como el sistema del complemento, péptidos antimicrobianos y ROS producidas por las células del sistema inmune, donde la MP es uno de los blancos potenciales. El sistema del complemento es un mecanismo de la defensa inmune innata, eficaz en la eliminación de patógenos es el sistema del complemento humano, el cual culmina en la formación del complejo de ataque a la membrana, el cual genera grandes poros en la MP, alternado el equilibrio osmótico y lisando al patógeno (Begum S., y col., 2015). Los péptidos antimicrobianos son moléculas secretadas por células epiteliales y leucocitos, estas moléculas en su mayoría son péptidos catiónicos, que se unen a las membranas de microorganismos ricos en fosfolípidos aniónicos y se integran en las membranas induciendo la formación de poros, causando la lisis de microorganismos (Blazek AD., y col., 2015). Las defensinas y catelicidinas son los péptidos antimicrobianos más estudiados (Rivas-Santiago., y col., 2006).

Mecanismo de reparación de la membrana plasmática

La reparación de la membrana plasmática es una respuesta celular conservada que media el resultado activo de las alteraciones de la membrana para mantener la homeostasis y prevenir la muerte celular y la progresión de múltiples enfermedades. La reparación de la membrana celular reutiliza los mecanismos de

diversas funciones celulares, incluido el tráfico de vesículas, la exocitosis y la endocitosis, para reparar la MP (Blazek AD., y col., 2015).

Reparación de la MP del hospedero (humano)

Mediada por anexinas. Las anexinas forman una familia de proteínas de unión a Ca^{2+} que interactúan periféricamente con las membranas celulares cuando se incrementan los niveles de este catión. El incremento de Ca^{2+} además ayuda a reclutar otros factores, como proteínas que interactúan en el sitio de la herida, y estabilizan los reordenamientos dinámicos de la membrana necesarios para un sellado eficaz. Al ocurrir un aumento de Ca^{2+} inducido por la lesión, las anexinas interaccionan con el sitio de daño en MP y se unen fuertemente a los fosfolípidos cargados negativamente, posteriormente forman estructuras que contienen las lesiones, las cuales pueden formar ampollas que contienen citosol o pequeñas microvesículas libres de citosol, que la célula puede desprender, eliminando de esta forma la lesión de la MP (Koerdt SN., y col., 2019).

Mediada por aSMasas de mamíferos. Las aSMasas son enzimas metabólicas involucradas en la producción de ceramida en la transducción de señales. En mamíferos, las aSMasas se presentan en dos formas, una lisosomal y otra secretada, ambas codificadas por el mismo gen. Se ha descrito que la lisosomal no es dependiente de Zn^{2+} , mientras que la secretada es activada por concentraciones fisiológicas del mismo ion (Clarke CJ y Hannun YA, 2006). La aSMasa lisosomal, ha sido involucrada en la reparación de daños a la MP. Cuando hay un daño o lesión en la MP hay una internalización de Ca^{2+} , este incremento, entre otras cosas, desencadena la exocitosis de los lisosomas, que son reconocidos como vesículas que pueden responder de manera rápida en respuesta a una elevación de Ca^{2+} citoplásmico. Los lisosomas se fusionan con la MP en el sitio de daño y secretan su contenido, incluyendo a la aSMasa lisosomal, la cual hidroliza a la esfingomielina (SM) presente en la cara externa de la MP generando microdominios enriquecidos con ceramida, la cual activa la endocitosis. Los endosomas internalizan la lesión, regenerando de esta manera la integridad y el funcionamiento de la MP (Tam C., y col., 2010).

Reparación de la MP del parásito (*E. histolytica*)

Mediada por aSMasas del parásito. En *E. histolytica* el mecanismo de reparación mediado por aSMasas le permite enfrentar los diferentes agentes líticos del hospedero y sobrevivir en un ambiente hostil. Este parásito cuenta con seis genes que codifican para aSMasas, los cuales se transcriben activamente y cuya actividad secretada es estimulada por cationes como el Mg^{2+} e inhibida por el Co^{2+} (Ramírez-Montiel y col., 2019). El daño a la MP del parásito ocasionado por toxinas, péptidos antimicrobianos o el complemento, induce un incremento en la secreción de aSMasa que se correlaciona con una mayor viabilidad de las amibas. Este daño a la MP amibiana permite la entrada de Ca^{2+} extracelular, lo cual induce la migración de los lisosomas a la periferia de la célula, se fusionan con la MP y vierten su contenido al exterior de la célula incluyendo a las aSMasas. Las aSMasas secretadas producen ceramida que favorece la internalización de la lesión para su degradación en el compartimento endolisosomal. Los poros generados por el daño de la MP, en primera instancia se bloquean rápidamente mediante estructuras tipo parche formados por lisosomas y endosomas que previenen la lisis del trofozoíto, y posteriormente se lleva a cabo la reparación del daño mediante la internalización de la lesión (Figura 3) (Ramírez Montiel, y col., 2019). Este mecanismo de reparación del daño a la MP es muy similar al mecanismo ya reportado en las células de mamíferos (Tam C., y col., 2010).

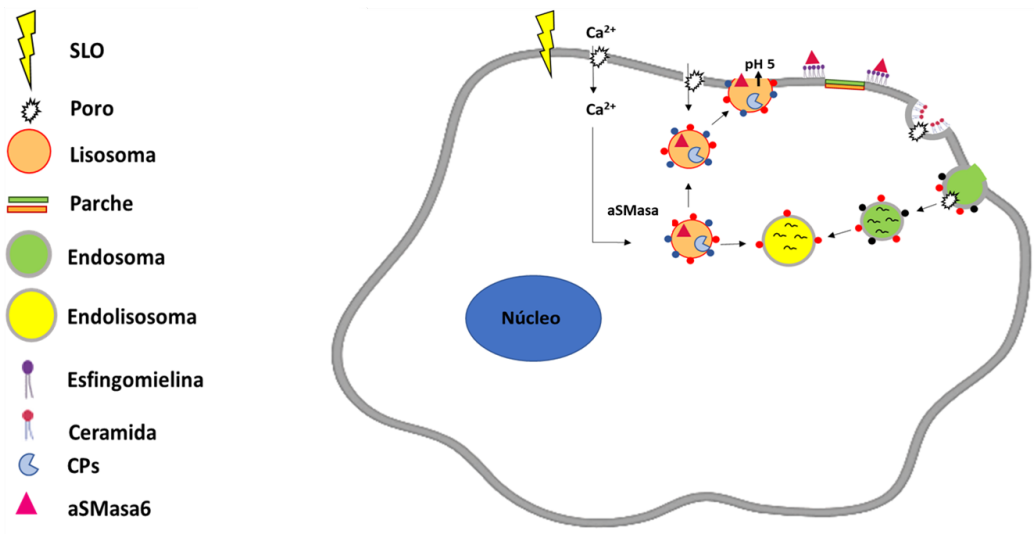


Figura 3. Mecanismo de reparación del daño a la membrana plasmática de *E. histolytica*. El daño ocasionado por la toxina SLO (poro) a la MP permite la entrada de Ca^{2+} extracelular y eleva su concentración intracelular lo cual desencadena la migración y exocitosis de los lisosomas que vierten su contenido al espacio extracelular, incluyendo a la aSMasa. La aSMasa hidroliza la esfingomielina de la membrana en ceramida, esta última favorece la formación de endosomas que internalizan las lesiones (Modificado de Ramírez Montiel y col., 2019).

Por otro lado, se sabe poco de las aSMasas en *T. vaginalis*, sin embargo, se encontraron en su genoma 6 genes que codifican para estas enzimas y cuya actividad ha sido detectada en sobrenadantes, los cuales presentaron la misma dependencia de cationes ya reportada para *E. histolytica* (estimulada por Mg^{2+} e inhibida por Co^{2+}) (Torres-Castellanos, Tesis de Licenciatura 2020). Lo anterior sugiere que *T. vaginalis* podría presentar un mecanismo de reparación del daño a la MP ocasionado por factores del hospedero tales como péptidos antimicrobianos y estrés oxidativo, similar a lo descrito para *E. histolytica*. Este proceso está siendo investigado actualmente.

Conclusion

Durante el proceso infeccioso los protozoarios parásitos *E. histolytica* y *T. vaginalis* utilizan moléculas (amebaporos y hemolisinas) que dañan a las células del hospedero, las cuales a su vez presentan varios mecanismos de reparación del daño ocasionado a su MP, destacando el mediado por la aSMasa que favorece el sellado y reparación del daño. En contraparte, el hospedero utiliza diversas estrategias para combatir a los parásitos, una de ellas es la producción de moléculas con actividad lítica (péptidos antimicrobianos y complemento), cuya finalidad es destruirlos, por lo que los parásitos presentan mecanismos para escapar de esta respuesta del hospedero. Recientemente se ha descrito que los trofozoítos de *E. histolytica*, al igual que las células del hospedero, presentan un sistema de reparación de daños a la MP mediado por aSMasas causados por múltiples agentes perturbadores de la membrana. El proceso de reparación de la MP mediado por aSMasa consiste en la exocitosis de lisosomas en el sitio de la lesión, liberación de aSMasa, formación de parches de contención, seguido de endocitosis de la MP dañada en un proceso dependiente de Ca^{2+} . *T. vaginalis* es otro parásito con actividad de aSMasa secretada, por lo que podría presentar un mecanismo de reparación a su MP, similar al de *E. histolytica*. Es muy interesante analizar desde el punto de vista evolutivo, que un protozoario tan antiguo como *E. histolytica* presente un mecanismo de reparación del daño a la MP como el de mamíferos.

Agradecimientos

Agradecemos al Dr. Luis Felipe Padilla Vaca por la oportunidad de participar en el presente proyecto, por su guía y apoyo. A la Dra. Fátima Ramírez Montiel y a la BE Fernanda Torres Castellanos por sumarse y enriquecer el proyecto. A nuestros compañer@s del proyecto de verano por formar un excelente equipo de trabajo y ser parte del Laboratorio de Patobiología Molecular de Protozoarios Parásitos. A nuestros padres por su apoyo y motivación. A la Universidad de Guanajuato por promover e impulsar las vocaciones científicas.

Referencias

- Anaya-Velázquez, F., & Padilla-Vaca, F. (2011). Virulence of *Entamoeba histolytica*: a challenge for human health research. *Future Microbiology*, 6(3), 255-258.
- Arroyo, R. (2017). Tricomonosis. *Ciencia-Academia Mexicana de Ciencias*, 68(1), 58-61.
- Begum, S., Quach, J., & Chadee, K. (2015). Immune evasion mechanisms of *Entamoeba histolytica*: progression to disease. *Frontiers in microbiology*, 6, 1394.
- Blazek, A. D., Paleo, B. J., & Weisleder, N. (2015). Plasma membrane repair: a central process for maintaining cellular homeostasis. *Physiology*, 30(6), 438-448.
- Carrada-Bravo, T. (2006). Tricomoniasis vaginal. Informe de un caso y revisión de la literatura. *Revista Mexicana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio*, 53(3), 151-156.
- Castellano Castro, S., Bolaño, J., & Orozco, E. (2020). Lipids in *Entamoeba histolytica*: Host Dependence and Virulence Factors. *Frontiers in cellular and infection microbiology*.
- Chin, J. (2001). *El control de las enfermedades transmisibles* (No. 581). Pan American Health Org.
- Clarke, C. J., & Hannun, Y. A. (2006). Neutral sphingomyelinases and nSMase2: bridging the gaps. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1758(12), 1893-1901.
- Dingsdag, S. A., & Hunter, N. (2018). Metronidazole: an update on metabolism, structure-cytotoxicity and resistance mechanisms. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 73(2), 265-279.
- Espinosa-Cantellano, M., & Martínez-Palomo, A. (2000). Pathogenesis of intestinal amebiasis: from molecules to disease. *Clinical microbiology reviews*, 13(2), 318-331.
- Ferranti, C. S., Cheng, J., Thompson, C., Zhang, J., Rotolo, J. A., Buddaseth, S., ... & Kolesnick, R. N. (2020). Fusion of lysosomes to plasma membrane initiates radiation-induced apoptosis. *Journal of Cell Biology*, 219(4).
- Figueroa-Angulo, E. E., Rendón-Gandarilla, F. J., Puente-Rivera, J., Calla-Choque, J. S., Cárdenas-Guerra, R. E., Ortega-López, J., ... & Arroyo, R. (2012). The effects of environmental factors on the virulence of *Trichomonas vaginalis*. *Microbes and infection*, 14(15), 1411-1427.
- Fiori, P. L. (1993). *Trichomonas vaginalis* haemolysis: evidence of functional pores formation on red cell membranes. *FEMS Microbiology Letters*, 109(1), 13-18.
- Hernández, H. M., Marcet, R., & Sarracent, J. (2014). Biological roles of cysteine proteinases in the pathogenesis of *Trichomonas vaginalis*. *Parasite*, 21.
- <https://www.cdc.gov/dpdx/amebiasis/index.html>
- <https://www.cdc.gov/dpdx/trichomoniasis/index.html>
- Koerdts, S. N., Ashraf, A. P., & Gerke, V. (2019). Annexins and plasma membrane repair. *Current topics in membranes*, 84, 43-65.
- Lewis, D. (2014). Trichomoniasis. *Medicine*, 43(7), 369-371.

Maciques Rodríguez, I., & Alonso Castellanos, M. (2002). Diagnóstico y síntomas clínicos de la trichomoniasis vaginal. *Revista Cubana de Obstetricia y Ginecología*, 28(2), 0-0. 99.

Martínez-Palomo, A. (1982). *The biology of Entamoeba histolytica*. Research Studies Press (John Wiley & Sons Ltd.).

Meza, U., Romero-Méndez, A. C., Licón, Y., & Sánchez-Armass, S. (2010). La membrana plasmática: modelos, balsas y señalización. *Revista de Educación Bioquímica*, 29(4), 125-134.

Petrou, T., Olsen, H. L., Thrasivoulou, C., Masters, J. R., Ashmore, J. F., & Ahmed, A. (2017). Intracellular calcium mobilization in response to ion channel regulators via a calcium-induced calcium release mechanism. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 360(2), 378-387.

Qvarnstrom, Y., James, C., Xayavong, M., Holloway, B. P., Visvesvara, G. S., Sriram, R., & da Silva, A. J. (2005). Comparison of real-time PCR protocols for differential laboratory diagnosis of amebiasis. *Journal of clinical microbiology*, 43(11), 5491-5497.

Ramírez-Montiel, F., Mendoza-Macías, C., Andrade-Guillén, S., Rangel-Serrano, Á., Páramo-Pérez, I., Rivera-Cuéllar, P. E., ... & Padilla-Vaca, F. (2019). Plasma membrane damage repair is mediated by an acid sphingomyelinase in *Entamoeba histolytica*. *PLoS pathogens*, 15(8), e1008016.

Ravdin, J. I. (2000). Current Controversies. In *Amebiasis* (pp. 163-169).

Rivas-Santiago, B., Sada, E., Hernández-Pando, R., & Tsutsumi, V. (2006). Péptidos antimicrobianos en la inmunidad innata de enfermedades infecciosas. *salud pública de méxico*, 48, 62-71.

Romero, C., Meza Villanueva, U., & Sánchez Armass, S. (mayo de 2019). Membrana Plasmática: La Frontera Dinámica de la Célula. *Universitarios Potosinos* (235), 12-17.

Shirley, D. A. T., Watanabe, K., & Moonah, S. (2019). Significance of amebiasis: 10 reasons why neglecting amebiasis might come back to bite us in the gut. *PLoS neglected tropical diseases*, 13(11), e0007744.

Tam, C., Idone, V., Devlin, C., Fernandes, M. C., Flannery, A., He, X., ... & Andrews, N. W. (2010). Exocytosis of acid sphingomyelinase by wounded cells promotes endocytosis and plasma membrane repair. *Journal of Cell Biology*, 189(6), 1027-1038.

Torres-Castellanos María Fernanda. 2020. Caracterización de la actividad de esfingomielinasa ácida secretada por cepas de *Trichomonas vaginalis* de diferente virulencia. Tesis de Licenciatura. Universidad de Guanajuato. División de Ciencias Naturales y Exactas. Departamento de Biología.