

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



INDUCCION *in vitro* DEL CICLO DE VIDA AXENICO DE
Entamoeba histolytica E INHIBICION DE
SU DIFERENCIACION

Por

M.C. MARIA PORFIRIA BARRON GONZALEZ

Como requisito parcial para obtener el Grado de
DOCTOR EN CIENCIA
con Especialidad en Microbiología

Septiembre, 2007

M.P.B.G.

INDUCCION *in vitro* DEL CICLO DE VIDA AXENICO DE

Entamoeba histolytica E INHIBICION DE

SU DIFERENCIACION

TD
Z5320
FCB
2007
.B376

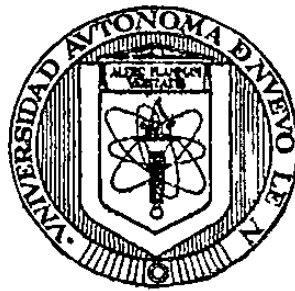
2007



1020160693

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



**INDUCCIÓN *in vitro* DEL CICLO DE VIDA AXÉNICO DE
Entamoeba histolytica E INHIBICIÓN DE
SU DIFERENCIACIÓN**

Por

M.C. MARÍA PORFIRIA BARRÓN GONZÁLEZ

Como requisito parcial para obtener el Grado de
DOCTOR EN CIENCIAS
con Especialidad en Microbiología

Septiembre, 2007

TD
253 n
CL

.L376



FONDO
TESIS
170908

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



**INDUCCIÓN *in vitro* DEL CICLO DE VIDA AXÉNICO DE
Entamoeba histolytica E INHIBICIÓN DE
SU DIFERENCIACIÓN**

Por


M.C. MARÍA PORFIRIA BARRÓN GONZÁLEZ

Como requisito parcial para obtener el Grado de
DOCTOR EN CIENCIAS
con Especialidad en Microbiología

Septiembre, 2007

**INDUCCIÓN *in vitro* DEL CICLO DE VIDA AXÉNICO DE
Entamoeba histolytica E INHIBICIÓN DE
SU DIFERENCIACIÓN**

Comité de Tesis



Dr. Mario Rodolfo Morales Vallarta
Director



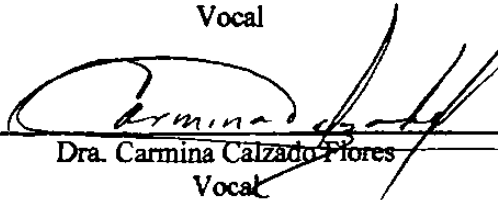
Dr. Benito David Mata Cárdenas
Director Externo



Dra. Licet Villarreal Treviño
Secretario



Dra. Diana Reséndez Pérez
Vocal



Dra. Carmina Calzado Flores
Vocal

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



INDUCCIÓN *in vitro* DEL CICLO DE VIDA AXÉNICO DE
***Entamoeba histolytica* E INHIBICIÓN DE**
SU DIFERENCIACIÓN

T E S I S

Como requisito parcial para obtener el Grado de
DOCTOR EN CIENCIAS
con Especialidad en Microbiología

Presente

M.C. MARÍA PORFIRIA BARRÓN GONZÁLEZ


Dr. Benito David Mata Cárdenas
Director Externo

Septiembre, 2007

DEDICATORIA

Al maestro de maestro

Con cariño a toda mi familia

A todos los forjadores quienes cimentaron uno a uno

las columnas de nuestra Máxima Casa de Estudios:

la Universidad Autónoma de Nuevo León.

In memoria

Dra. Estela Flores de De la Garza

Dr. Sergio De la Garza Galván

Dr. Antonio Ayala Lozano

y

Q. Margarita De la Torre

AGRADECIMIENTO

Desarrollar y escribir esta tesis no consistió sólo en la labor de una servidora, deseo dar crédito a las personas e instituciones que me asistieron, inspiraron y alentaron.

En primer lugar deseo agradecer a la Universidad Autónoma de Nuevo León y a la Facultad de Ciencias Biológicas por estos años en que me han brindado el sustento y me han abierto las puertas de sus instalaciones para el desarrollo de esta tesis.

Agradezco al Dr. Mario Rodolfo Morales Vallarta la dirección y asesoría que pacientemente y de forma tan atinada ha tenido durante el desarrollo de este trabajo, además le agradezco infinitamente por brindarme su bondadosa amistad y distinguirme en compartir su excelsa calidad humano. Además siempre le estaré agradecida por haber aceptado dirigir mi tesis tanto de licenciatura, maestría así como doctoral.

Un agradecimiento muy especial a la Dra. Licet Villarreal Treviño, una persona y maestra tan especial para mí, principalmente por haberme permitido aprender desde que era alumna de licenciatura, la disciplina y respeto que se debe tener al trabajo de laboratorio, por aceptar formar parte de la comisión de tesis de licenciatura, maestría y doctoral, por brindarme su cálida amistad, por sus oportunos consejos, por estar siempre al pendiente del avance de esta tesis y de mi persona, también le agradezco profundamente el ejemplo de vida que siempre me ha brindado.

Al Dr. Benito David Mata Cárdenas, le externo mis más sinceros agradecimientos por haber aceptado participar en la comisión de tesis tanto de licenciatura, maestría así como doctoral, por haberme compartido siempre su valiosa experiencia durante el desarrollo experimental, por infundirme confianza, por estar siempre al pendiente de las necesidades para llevar a buen término este trabajo y así como por estar al pendiente como parte de mi comité tutorial del avance de esta tesis.

A ustedes tres les agradezco el haberme acompañarme durante estos diez años en mi desarrollo profesional y juntos haber logrado éxitos en el trabajo en equipo que hemos realizado hasta ahora, gracias y que Dios los bendiga siempre.

También expreso mi gratitud a la Dra. Diana Reséndez Pérez por el apoyo que me ha brindado durante el desarrollo de esta tesis, especialmente en la parte experimental para la detección de proteínas en SDS-PAGE, así como por estar al pendiente como parte de mi comité tutorial del avance de esta tesis y agradezco profundamente las observaciones realizadas para el mejor resultado en este trabajo, además le externo mi admiración por ser una mujer tan dedicada, profesional e exitosa.

Asimismo, doy gracias a la Dra. Carmina Carlota Calzado Flores el haber aceptado formar parte de la comisión de esta tesis, por estar al pendiente de los avances de este trabajo, por haberme proporcionado la muestra de *Castela texana* empleada en este trabajo y por brindarme siempre su amable amistad.

A ustedes cinco les agradezco por aceptar formar parte de la comisión de mi tesis doctoral y el valioso tiempo dedicado a la revisión del escrito de esta tesis así como las observaciones realizadas ¡muchas gracias y que Dios los bendiga!.

Agradezco enormemente a las siguientes instituciones y personas quienes colaboraron desinteresadamente para el desarrollo de esta tesis:

- *A la empresa NEMAK, por permitirme el empleo de su microscopio electrónico de barrido y la asesoría técnica.
- *A la empresa PEÑOLES, por permitirme el empleo de su microscopio electrónico de barrido y la asesoría técnica de las Q.I. Laurentina Villegas, María Lara y Nelly
- *A la Facultad de Ingeniería Mecánica y Eléctrica de la UANL, agradezco al Dr. Virgilio González, Dra. Claudia Guerra y Dr. Edgardo Reyes por su asesoría, confianza brindada y ayuda para obtener imágenes al microscopio de fuerza atómica de contacto. Asimismo a la Dra. Ana María Guzmán por permitirme el uso del equipo necesario y la asesoría para recubrir los especímenes con oro, cuantas veces fue necesario.
- *A la División de Estudios de Postgrado de la Facultad de Ciencias Físico-Matemáticas, UANL; agradezco al Dr. Eduardo Pérez Tijerina y a su equipo de trabajo, por asesorarme y permitirme emplear su equipo para obtener las imágenes al microscopio de fuerza atómica de no-contacto.
- *A la Facultad de Medicina de la UANL
 - Depto. de Patología agradezco al Dr. Sepúlveda las facilidades prestadas para emplear las instalaciones de su laboratorio para procesar las muestras para MET, también agradezco profundamente el apoyo técnico por parte de la Q. Rosy para procesar las muestras.
- *Al Hospital Universitario
 - Depto. de Microscopía, agradezco la asesoría técnica y la ayuda por parte del Dr. Enrique Ramírez Bon para el uso del microscopio de fuerza atómica.
 - Laboratorio del HU, por haberme proporcionado las muestras de heces fecales positivas para *E. histolytica* de pacientes diagnosticados con amibiasis.

- *A la Facultad de Ciencias Biológicas de la UANL,
- Lab. de Microscopía agradezco al Dr. Jorge Piñero la asesoría y las facilidades brindadas para el revelado e impresión de las imágenes al MET.
 - Lab. de Biología del Desarrollo agradezco a la Dra. Diana Reséndez Pérez el permitirme trabajar en su laboratorio, y al M.C. Claudio Moreno Rocha le agradezco la asesoría técnica para obtener las imágenes de fluorescencia durante el desenquistamiento de *E. histolytica*, también agradezco sinceramente a la MC. Jeaneth Salina Hernández y a la Cand. Dr. Diana Linda Cárdenas Chávez la ayuda y asesoría para realizar la determinación de proteínas de *E. histolytica* en SDS-PAGE.
 - Al Departamento de Botánica, agradezco a la Dra. Teresa Torres Cepeda el permitirme el empleo del microscopio de fluorescencia para las diversas imágenes de fluorescencia mostradas en este trabajo.
 - Al Laboratorio de Microbiología General.
Agradezco profundamente a la Dra. Licet Villarreal Treviño el permitimos realizar una parte de esta tesis en su laboratorio, asimismo a la M.C. Manuela Vela Franco por donarme las cepas de *E. coli* y *E. faecalis*, además le agradezco su generosa y noble amistad que siempre me ha brindado, por todo el apoyo personal y profesional que siempre me ha otorgado ¡gracias!

*Al Centro de Investigación Biomédica del Noreste, del Instituto Mexicano del Seguro Social y a su personal en especial al Dr. Benito D. Mata Cárdenas, Dr. Javier Vargas Villarreal, Dr. Salador Saíd, Dra. Pilar Carranza Rosales por brindarme su apoyo.

Además agradezco a todos los integrantes del Departamento de Biología Celular y Genética de la Facultad de Ciencias Biológicas por formar un área de trabajo muy armoniosa, lo cual refleja la calidad humana de cada uno de los integrantes de este Departamento y todos aquellos que trabajan en esta área, gracias a: M.C. Gerardo Guajardo M., Dra. María Elena Rodríguez, Dr. Jesús Ángel de León, Dra. María Eufemia Morales Rubio, Dr. Jaime F. Neávez T. Dra. María Luisa Cárdenas Ávila, Dr. Fermín Mar Aguilar, Dr. Carlos Leal, M.C. Maribel Luna de Mar, Med. Ixchel Cuaranto, M.C. Karina Villanueva, QBP. Delia Carolina Reyna A. y todos los estudiantes del Dr. Jorge Armando Verduzco Martínez, Dra. Libertad Leal, MES. María Guadalupe Martínez, MES Ramón Cavazos, MES. María del Socorro Baez, MES Oralia González y Srita. Dulce Giovanna de la Torre por honrarme con su amistad, gracias a todos.

Agradezco también a todos los tesistas, becarios y alumnos de servicio social y PROVERICYT por permitirme aprender junto a ustedes, con cariño a: QBP Dinora Janeth Pérez Terrazas (gracias por tu amistad, por tu ejemplo de vida y gracias por ser tan linda persona siempre, que Dios te bendiga), QBP Cecilia Griselda Serrano Vázquez, Pas QBP Adán Villanueva, QBP Gabriela Guadalupe Balderrama Herrera, QBP Liliana Barrera Poblano, QBP Edith Morales, QBP Esther Casas Castellanos, QBP Yazmín L. Toríz Rodríguez, QBP Antonio C. Torres Flores, QBP Fátima

Gabriela Zamora Herrera, pas QBP Leslie Hilary Ontiveros Moreno y Pas QBP Saira Lizbeth Blanco Solano, pas QBP Ma. de la Luz Rodarte Guerrero y a la est, QBP Claudia D. Ánimas Adame.

Un agradecimiento muy especial al Dr. Jorge Armando Verduzco Martínez por su gentil amistad, por el gran apoyo que siempre me ha brindado así mismo agradezco la amistad y apoyo de la Dra. Socorro Flores González, Dr. Javier Vargas Villarreal, Dr. José Antonio Heredia Rojas, Dra. María Guadalupe Maldonado Blanco, Dra. María Guadalupe Martínez García y Dra. Pilar Carranza Rosales.

Un agradecimiento especial al Dr. Raúl Torres Zapata, por su amistad y su colaboración desinteresada al ayudarme a realizar y comprender el análisis Probit.

Agradezco a los directores de la Facultad de Ciencias Biológicas Dr. José Santos García Alvarado y al Dr. Juan Manuel Alcocer Gonzáles por las facilidades proporcionadas para llevar a cabo este trabajo.

También externo mi agradecimiento a la Dra. Julia Verde Stara, directora de la División de Estudios de Postgrado de la Facultad de Ciencias Biológicas, así como a quienes estuvieron al frente de la Subdirección de esta División durante el desarrollo de esta tesis, a la Dra. María Luisa Rodríguez Tovar y al Dr. Ricardo Gómez Flores y a quien funge actualmente al frente, la Dra. Diana Reséndez Pérez; también agradezco a la Srita. Carmen y a Yadira todas las atenciones brindadas.

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, la beca proporcionada durante el desarrollo de este trabajo, registro no 179766.

LUGAR DE TRABAJO

El presente trabajo se desarrolló en las instalaciones del Laboratorio de Biología Celular del Departamento de Biología Celular y Genética de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León, en colaboración con el Laboratorio de Bioquímica y Fisiología Celular del Centro de Investigación Biomédica del Noreste (CIBIN) del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), bajo la dirección del Dr. Mario Rodolfo Morales Vallarta.

TABLA DE CONTENIDO

Sección	Página
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS.	v
LUGAR DE TRABAJO.	ix
LISTA DE TABLAS.	xv
LISTA DE FIGURAS.	xvi
LISTA DE SÍMBOLOS	xix
NOMENCLATURA.	xx
1. RESUMEN	1
1. ABSTRACT.	2
2. INTRODUCCIÓN.	3
3. HIPÓTESIS.	5
4. OBJETIVOS.	5
4.1 Objetivo general	5
4.2 Objetivos particulares.	5
5. ANTECEDENTES.	6
5.1 Amibiasis	6
5.2 Clasificación taxonómica	7
5.3 Epidemiología	7
5.4 Ciclo de vida de <i>Entamoeba histolytica</i>	8
5.5 Biología celular y molecular de <i>Entamoeba histolytica</i>	10
5.6 Métodos de cultivo y enquistamiento para <i>E. histolytica</i>	11
5.6.1 Métodos de cultivo	11
5.6.2 Métodos de enquistamiento.	13
5.7 Pared celular de quistes de <i>Entamoeba</i>	16
5.7.1 Composición	16
5.7.2 Estructura	16
5.8 Quitina	17
5.8.1. Síntesis de quitina en pared celular de quistes de amibas.	18
5.9 Desenquistamiento de <i>Entamoeba histolytica</i>	19
5.10 Ultraestructura de trofozoitos y quistes de <i>Entamoeba</i>	20

5.11 Efecto de agentes químicos sobre el desenquistamiento <i>in vitro</i> de <i>Entamoeba</i>	21
5.12 Importancia y Justificación	23
6. MATERIAL Y MÉTODOS	24
6.1 Origen de los reactivos	24
6.2 Material biológico	25
6.2.1 Cepas de <i>Entamoeba</i>	25
6.2.2 Cepas de enterobacterias	25
6.2.3 Quistes de <i>Entamoeba histolytica</i> de pacientes con diagnóstico de amibiasis	25
6.2.4 Suero bovino	25
6.2.5 Bilis bovina	25
6.2.6 Extracto metanólico de <i>Castela texana</i>	25
6.3 Preparación de reactivos	26
6.3.1 Acetato de uranilo	26
6.3.2 Ácido clorhídrico 0.1N	26
6.3.3 Alcohol ácido	26
6.3.4 Alcohol al 70%	26
6.3.5 Alcohol al 90%	26
6.3.6 Alcohol yodado	26
6.3.7 Azul de toluidina	26
6.3.8 Azul Coomasie (Coomasie brilliant blue G)	26
6.3.9 Buffer de carga 2X	26
6.3.10 Buffer salino de fosfatos (PBS)	26
6.3.11 Buffer de fosfatos 0.2 M pH=7.2	26
6.3.12 Carbol xilol	26
6.3.13 Citrato de plomo	27
6.3.14 Calcofluor M2r 1.0%	27
6.3.15 Colorante tricrómico de Gomori	27
6.3.16 Fijador (Solución de Shaudinn)	27
6.3.17 Formalina al 10%	27
6.3.18 Glutaraldehído al 2.5%	27
6.3.19 Hidróxido de sodio 10N	27
6.3.20 Histamina 0.6 mM	27
6.3.21 Percoll (Sigma)	27
6.3.22 Resina Spurr (Spurr., 1969)	27
6.3.23 Sarkosil 0.15%	27
6.3.24 Solución acuosa saturada de cloruro de mercurio	28
6.3.25 Solución de hidróxido de sodio 1N	28
6.3.26 Solución de penicilina-estreptomina	28
6.3.27 Solución salina fisiológica	28
6.3.28 Solución decolorante	28
6.3.29 Sulfato de zinc ($\delta=1.18$ g/mL)	28

6.3.30	Tetróxido de osmio OsO ₄ 1%	28
6.3.31	Tritón X-100 al 1%	28
6.3.32	Tris-glicina 5X (500 mL)	28
6.3.33	Yodo-lugol	29
6.4	Medio de cultivo	29
6.4.1	Preparación del medio TYI-S-33	29
6.5	Métodos	29
6.5.1	Mantenimiento de <i>Entamoeba histolytica</i>	29
6.5.2	Cinéticas de crecimiento de <i>Entamoeba histolytica</i>	29
6.5.3	Obtención de quistes de <i>E. histolytica</i> a partir de heces fecales	30
6.5.4	Inducción de estructuras semejantes a quistes de <i>E. histolytica</i> bajo condiciones axénicas <i>in vitro</i>	30
6.5.4.1	Diseño experimental	30
6.5.4.2	Obtención de estructuras semejantes a quistes de <i>E. histolytica in vitro</i> bajo condiciones axénicas	33
6.5.4.3	Cinética de inducción de estructuras semejantes a quistes de <i>E. histolytica in vitro</i> bajo condiciones axénicas	33
6.5.5	Inducción del ciclo de vida axénico <i>in vitro</i> de <i>E. histolytica</i>	34
6.5.6	Separación por gradiente discontinuo de percoll	35
6.5.7	Tinciones	36
6.5.7.1	Pared celular (tinción especial)	36
6.5.7.2	Núcleos (tinción especial)	36
6.5.7.3	Citoplasma y núcleo (tinción diferencial)	36
6.5.8	Microscopía	37
6.5.8.1	Microscopía Electrónica de Transmisión (MET)	38
6.5.8.2	Microscopía Electrónica de Barrido (MEB)	38
6.5.8.3	Microscopía de Fuerza Atómica (MFA) de No-Contacto y Contacto Intermitente o Tapping	39
6.6	Análisis electroforéticos comparativos (SDS-PAGE) de los componentes protéicos de trofozoítos y de estructuras semejantes a quistes de <i>E. histolytica</i>	41
6.7	Extracción de RNA total amibiano por el método Trizol [®]	42
6.8	Determinación de la concentración inhibitoria media CI ₅₀ del metronidazol, cafeína, teofilina, NaF y extracto metanólico de <i>Castela texana</i> sobre <i>E. histolytica</i>	43
6.8.1	Efecto de agentes químicos sobre el enquistamiento de <i>E. histolytica</i>	43
6.8.2	Análisis estadístico	44

7. RESULTADOS	45
7.1 Cinética de crecimiento de <i>Entamoeba histolytica in vivo</i>	45
7.2 Rendimiento de estructuras semejantes a quistes de <i>E. histolytica</i> obtenidas bajo condiciones axénicas <i>in vitro</i>	46
7.3 Cinética de inducción de estructuras semejantes a quistes de <i>Entamoeba histolytica in vitro</i> bajo condiciones axénicas	47
7.4 Desenquistamiento axénico <i>in vitro</i> de las estructuras semejantes a quistes de <i>Entamoeba histolytica</i>	48
7.5 Inducción del ciclo de vida axénico de <i>Entamoeba histolytica</i> <i>in vivo</i>	49
7.6 Morfología de los trofozoítos, quistes y estructuras semejantes a quistes de <i>Entamoeba histolytica</i>	54
7.6.1 Tinciones	54
7.6.1.1 Fluorescencia	54
7.6.1.2 Tinción Tricrómica	55
7.6.1.3 Tinción con yodo-lugol	56
7.7 Análisis morfológico y topográfico de las estructuras semejantes a quistes de <i>Entamoeba histolytica</i>	57
7.7.1 Análisis morfológico de las estructuras semejantes a quistes de <i>E. histolytica</i> mediante microscopía electrónica de transmisión (MET)	57
7.7.2 Análisis topográfico de las estructuras semejantes a quistes de <i>E. histolytica</i> mediante Microscopía electrónica de Barrido	61
7.7.2.1 Análisis semicuantitativo.	64
7.7.3 Análisis topográfico de las estructuras semejantes a quistes de <i>E. histolytica</i> a través de Microscopía de fuerza atómica (MFA).	64
7.7.3.1 MFA de contacto intermitente o tapping.	65
7.7.3.2 MFA de No-contacto.	66
7.8 Análisis electroforético comparativo SDS-PAGE de los componentes protéicos de trofozoítos y estructuras semejantes a quistes de <i>E. histolytica</i>	67
7.9 Cuantificación del RNA total en trofozoítos y estructuras semejantes a quistes de <i>E. histolytica</i>	68
7.10 Determinar la CI ₅₀ de la cafeína, extracto metanólico de <i>Castela texana</i> , teofilina, NaF y metronidazol en cultivos de <i>Entamoeba histolytica</i>	69
7.11 Efecto del calcoflúor M2r, metronidazol, cafeína, teofilina, NaF y extracto metanólico de <i>Castela texana</i> sobre la inducción de estructuras semejantes a quistes de <i>Entamoeba histolytica</i>	73

8. DISCUSIONES	74
9. CONCLUSIONES	81
10. PERSPECTIVAS.	82
11. LITERATURA CITADA	83
APENDICE TÉCNICO.	94
Anexo A Tablas-B PROBIT.	94
Anexo B Ecuaciones	97
Anexo C Análisis estadístico	99
Glosario	101

LISTA DE TABLAS

Tabla		Página
I	Clasificación taxonómica de <i>E. histolytica</i>	7
II	Medios desarrollados para inducir el enquistamiento de <i>Entamoeba histolytica in vitro</i>	15
III	Inducción del desenquistamiento xénico <i>in vitro</i> de <i>E. histolytica</i>	20
IV	Origen de los reactivos	24
V	Composición del medio TYI-S-33 (Diamond, 1978).	29
VI	Bioensayos para inducir el enquistamiento de <i>Entamoeba histolytica</i> HM1-IMSS.	32
VII	Composición del gel separador de poliacrilamida al 10%	41
VIII	Composición del gel concentrador al 5%	41
IX	Rendimiento de estructuras semejantes a quistes de <i>E. histolytica</i> obtenido en los diversos bioensayos.	46
X	Descripción de los estadios del ciclo de vida de <i>Entamoeba histolytica</i> obtenidos <i>in vitro</i>	51
XI	CI ₅₀ de diversos agentes sobre cultivos de <i>E. histolytica in vitro</i>	72

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1. Estadios del ciclo de vida de <i>E. histolytica</i>	3
2. Distribución mundial de la amibiasis..	8
3. Ciclo de vida de <i>Entamoeba histolytica</i>	9
4. Estructura química de la quitina	17
5. Sitios de acción de la cafeína, teofilina y NaF en el metabolismo del AMPc.	23
6. Estrategia experimental para obtener estructuras semejantes a quistes de <i>E. histolytica</i>	33
7. Separación de células por gradiente discontinuo de percoll.	35
8. Estrategia experimental general.	40
9. Estrategia experimental para determinar el efecto de agentes químicos sobre el proceso de diferenciación de <i>E. histolytica in vitro</i>	44
10. Cinética de crecimiento axénico de <i>E. histolytica in vitro</i>	45
11. Cinética de inducción de estructuras semejantes a quistes de <i>E. histolytica in vitro</i>	47
12. Cinética de crecimiento de trofozoítos de <i>E. histolytica</i>	48
13. Método TGC7.	49
14a. Ciclo de vida axénico <i>in vitro</i> de <i>Entamoeba histolytica</i>	50
14b. Estadios del ciclo de vida de <i>Entamoeba histolytica</i>	53
14c. Ciclo de vida axénico de <i>E. histolytica in vitro</i>	54

15. Comparación del patrón de tinción con calcoflúor M2r.	55
16. Comparación del patrón de la tinción tricrómica.	56
17. Comparación del patrón de tinción con yodo-lugol.	56
18. Corte semifino de un trofozoíto de <i>E. histolytica</i>	57
19. Corte semifino de una estructura semejante a quiste de <i>E. histolytica</i>	57
20. Micrografía electrónica de un trofozoíto de <i>E. histolytica</i>	58
21. Micrografía electrónica de un trofozoíto de <i>E. histolytica</i>	59
22. Micrografía electrónica de una porción de un trofozoíto de <i>E. histolytica</i>	59
23. Micrografía electrónica de una sección de dos células de <i>E. histolytica</i>	60
24. Micrografías electrónicas de una célula de <i>E. histolytica</i>	61
25. Aspecto de trofozoítos de <i>E. histolytica</i> observados al MEB.	62
26. Agregado de estructuras semejantes a quistes de <i>E. histolytica</i>	63
27. Estructuras semejantes a quistes de <i>E. histolytica</i>	63
28. Estructura semejante a quiste de <i>E. histolytica</i>	63
29. Topografía de la pared celular (pc) de una estructura semejante a quiste de <i>E. histolytica</i>	63
30. Quistes de <i>Entamoeba invadens</i>	63
31. Topografía de un agregado de quistes de <i>E. histolytica</i>	63
32. Análisis semicuantitativo de la pared celular de una ESQ.	64
33. Análisis bidimensional de una estructura semejante a quiste de <i>E. histolytica</i>	65
34. Análisis topográfico de una estructura semejante a quiste de <i>E. histolytica</i>	66

35.	Análisis topográfico de una estructura semejante a quiste de <i>E. histolytica</i> a través de microscopía de fuerza atómica de No-contacto.	66
36.	Patrón electroforético de proteínas totales de <i>E. histolytica</i>	67
37.	Cuantificación de RNA total en trofozoítos y estructuras semejantes a quistes de <i>E. histolytica</i>	68
38.	Electroforesis en gel de agarosa 0.8% de RNA total.	69
39.	Diagrama de dispersión de las variables Y_i probit y $\log X_i$ del bioensayo de teofilina sobre cultivos de <i>E. histolytica</i>	70
40.	Diagrama de dispersión de las variables Y_i probit y $\log X_i$ del bioensayo de fluoruro de sodio (NaF) sobre cultivos de <i>E. histolytica</i>	70
41.	Diagrama de dispersión de las variables Y_i probit y $\log X_i$ del bioensayo de la cafeína sobre cultivos de <i>E. histolytica</i>	71
42.	Diagrama de dispersión de las variables Y_i probit y $\log X_i$ del bioensayo del metronidazol sobre cultivos de <i>E. histolytica</i>	71
43.	Diagrama de dispersión de las variables Y_i probit y $\log X_i$ del bioensayo del extracto metabólico de <i>Castela texana</i> sobre cultivos de <i>E. histolytica</i>	72
44.	Evaluación de la acción de agentes químicos sobre la inducción de estructuras semejantes a quistes de <i>E. histolytica</i>	73
45.	Morfología diversa de quistes de <i>E. histoytica</i>	75
46.	Quiste y pared celular de <i>E. histolytica</i>	76
47.	Quistes de <i>E. histolytica</i>	78
48.	Quistes de <i>E. invadens</i>	78

LISTA DE SÍMBOLOS

Å	Angstrom
X	Aumentos
β	Beta
Ø	Centrifugación
[]	Concentración
δ	Densidad
=	Igual
λ	Longitud de Onda
®	Marca registrada
<	Menor
μ	Micro/ Micra
-	Negativo
+	Positivo
%	Porcentaje

NOMENCLATURA

AMPc	5'3'-Adenosín monofosfato cíclico
HCl	Ácido clorhídrico
ADN	Ácido desoxirribonucleico
EDTA	Ácido etilen diaminotetra-acético
RNA	Ácido ribonucleico
RNA _m	Ácido ribonucleico mensajero
RNA _r	Ácido ribonucleico ribosomal
ATP	Adenosín trifosfato
ANOVA	Análisis de Varianza
NSA	Anhídrido nonenil succínico
PBS	Buffer salino de fosfatos
cm	Centímetro
CIBIN	Centro de Investigaciones Biomédicas del Noreste
CIBIO	Centro de Investigaciones Biomédicas del Occidente
Cols.	Colaboradores
CI ₅₀	Concentración inhibitoria de la mitad de la población
mM	Concentración milimolar
N	Concentración Normal
D(+)	Configuración D (serie D), Dextrogiro
L(-)	Configuración L (serie L), Levogiro
civ	Cuerpos intravacuolares
DEPC	Dietil piro carbonato
CO ₂	Dióxido de carbono
SDS-PAGE	Electroforesis en gel de poliacrilamida en Dodecil sulfato de sodio
ESQ	Estructuras semejantes a quistes

Fig.	Figura
Figs.	Figuras
°C	Grados centígrados o Celsius
g	Gramo
g/mL	Gramo por mililitro
h.	Horas
IMSS	Instituto Mexicano del Seguro Social
ININ	Instituto Nacional de Irradiación Nuclear
Co ⁺²	Ion cobalto
kDa	Kilodaltones
Kg	Kilogramos
Lb.	Libra
L.	Litro
Log	Logaritmo
µg	Microgramos
µm	Micrómetro
MFA	Microscopio de Fuerza Atómica
MEB o SEM	Microscopio Electrónico de Barrido
MET	Microscopio Electrónico de Transmisión
mg	Miligramo
mL.	Mililitro
min	Minuto (s)
M	Molar
N.L.	Nuevo León
OMS	Organización Mundial de la Salud
Pb	Pares bases
PEHPS	Peptona-Extracto de Hígado-Páncreas-Suero (Medio para cultivo de <i>E. histolytica</i>)

APS	Persulfato de amonio
pH	Potencial de hidrógeno
Chs-1	Quitin sintetasa-1
EhCHS1	Quitin sintetasa-1 en <i>Entamoeba histolytica</i>
EhCHS2	Quitin sintetasa-2 en <i>Entamoeba histolytica</i>
rpm	Revoluciones por minuto
seg	Segundos
TEMED	Tetramethylethylenediamine
TGC7	TYI+Glucosa+CO ₂ + 7 días.
TYI-S-33	Tripticasa-Extracto de Levadura-Suero (Medio para cultivo de <i>Entamoeba histolytica</i>)
UV	Ultravioleta
U	Unidades
UANL	Universidad Autónoma de Nuevo León.
UDP	Uridin-Difosfato
vi	Vesículas intravacuolares
<i>et al.</i>	Y colaboradores