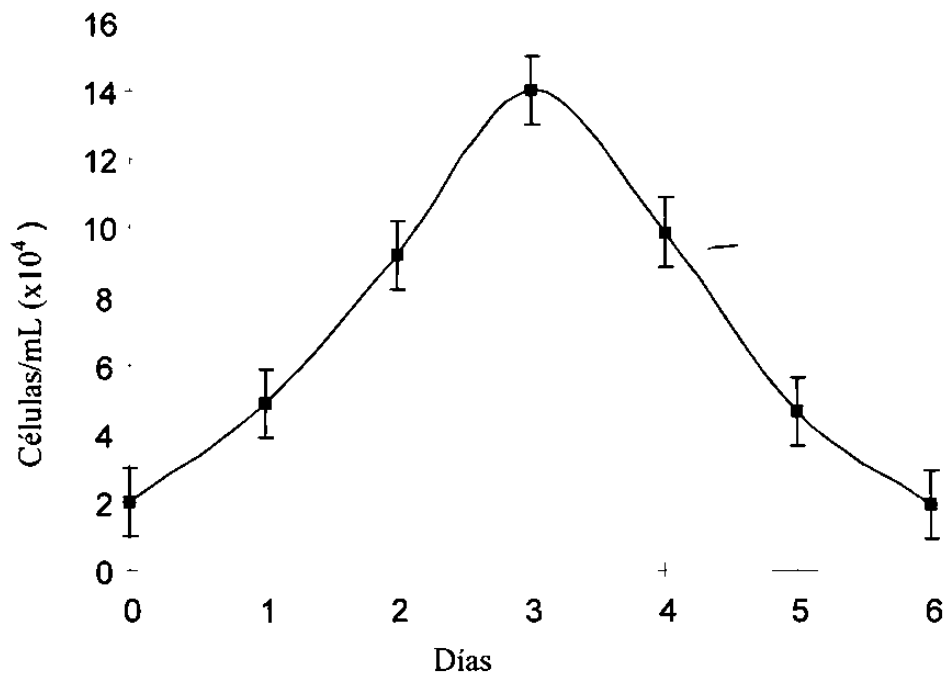


## 7. RESULTADOS

### 7.1 CINÉTICA DE CRECIMIENTO DE *Entamoeba histolytica* IN VITRO

En la cinética de crecimiento de *E. histolytica*, empleando el medio de cultivo TYI-S-33 (Fig.10), se observa que durante las primeras 24 h presenta una ligera fase de adaptación, posteriormente se observa la fase logarítmica, alcanzando su rendimiento máximo a las 72 h, con un rendimiento de aproximadamente 138,000 cél/mL y posteriormente se observa un decaimiento paulatino en el número de células.



**Figura 10.** Cinética de crecimiento axénico de *E. histolytica* in vitro. Esta cinética fue realizada empleando el medio TYI-S-33, los resultados obtenidos son el resultado de tres eventos independientes triplicado, graficados como medias  $\pm$  DS.

## 7.2 RENDIMIENTO DE ESTRUCTURAS SEMEJANTES A QUISTES DE *E. histolytica* OBTENIDAS BAJO CONDICIONES AXÉNICAS *IN VITRO*

De los diversos bioensayos realizados para inducir el enquistamiento axénico de *E. histolytica in vitro*, en la Tabla IX se muestra el rendimiento obtenido en cada uno de los bioensayos (ver Tabla VI y Fig. 6).

**Tabla IX**

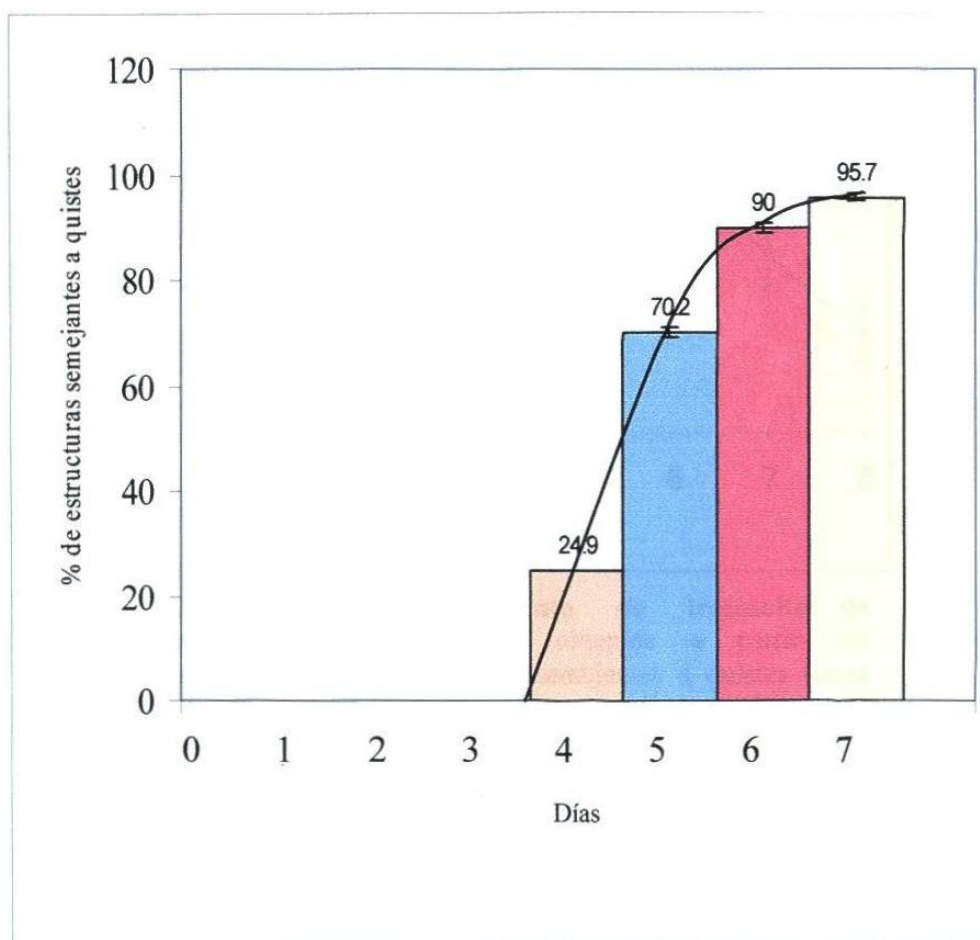
Rendimiento de estructuras semejantes a quistes de *E. histolytica* obtenido en los diversos bioensayos

| Número de bioensayo | Rendimiento de ESQ (%) |
|---------------------|------------------------|
| 1                   | 68                     |
| 2                   | 73                     |
| 3                   | 56                     |
| 4                   | 63                     |
| 5                   | 86                     |
| 6                   | 93                     |
| 7                   | 52                     |
| 8                   | 74                     |
| 9                   | 86                     |
| 10                  | 74                     |
| 11                  | 83                     |
| 12                  | 90                     |
| 13                  | 34                     |
| 14                  | 70                     |
| 15                  | 90                     |
| 16                  | 95                     |
| 17                  | 66                     |
| 18                  | 47                     |
| 19                  | 87                     |

El bioensayo 16 resultó ser el más efectivo para inducir estructuras semejantes a quistes de *E. histolytica*. Además fue el único con el que se obtuvieron estructuras semejantes a quistes que pudieron desenquistar (ver sección 7.5 y figura 13).

### 7.3 CINÉTICA DE INDUCCIÓN DE ESTRUCTURAS SEMEJANTES A QUISTES DE *Entamoeba histolytica* IN VITRO BAJO CONDICIONES AXÉNICAS

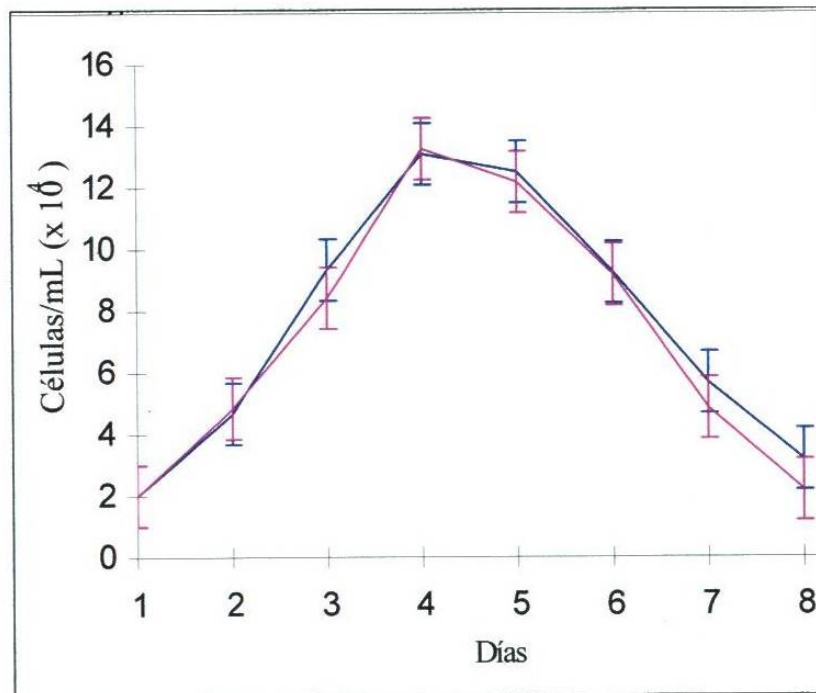
Se llevó a cabo la inducción de estructuras semejantes a quistes de *E. histolytica* *in vitro* bajo condiciones axénicas de acuerdo al bioensayo 16 de la Tabla VI y se realizaron lecturas cada 24 h por 7 días, los resultados se presentan en la figura 11. En estos resultados se observa la ausencia de estructuras semejantes a quistes durante los primeros 3 días de incubación a 37°C; sin embargo a partir del día 4 de incubación a las condiciones descritas, se obtuvo 24.9% de estructuras semejantes a quistes resistentes al detergente tritón X-100 [0.15%]/10 min, a temperatura ambiente, al día 5 de incubación se obtuvo un 70.2% de estructuras semejantes a quistes, al día 6 se obtuvo 90% y al día 7 se obtuvo 95.7% de estructuras semejantes a quistes de *E. histolytica* resistentes al detergente antes especificado; los resultados obtenidos al día 6 y 7 muestran diferencia significativa entre sí, pero con respecto al rendimiento obtenido al día 4 y 5 se aprecia diferencia significativa muy marcada (ANOVA  $p < 0.05$ ).



**Figura 11. Cinética de inducción de estructuras semejantes a quistes de *E. histolytica* *in vitro*.** Esta cinética es el resultado de tres eventos independientes por triplicado, graficados como medias  $\pm$  DS.

#### 7.4 DESENUSTAMIENTO AXÉNICO *IN VITRO* DE LAS ESTRUCTURAS SEMEJANTES A QUISTES DE *Entamoeba histolytica*

A partir de las estructuras semejantes a quistes de *E. histolytica* que se obtuvieron bajo condiciones axénicas *in vitro* se indujo el desenquistamiento empleando el medio TYI-S-33, los trofozoítos desenquistados presentaron un aspecto morfológico normal, una vez que se obtuvieron cultivos confluentes se realizó una cinética de crecimiento bajo condiciones normales. La cinética de crecimiento de los trofozoítos desenquistados (Fig.12, línea rosa) es el resultado de tres eventos independientes al igual que la cinética control es decir la cinética de crecimiento de los trofozoítos cultivados bajo condiciones normales (Fig.12, línea azul); en los resultados obtenidos se observa que durante los primeros 4 días de incubación a 37°C, tanto en la cinética control así como en la cinética de crecimiento de trofozoítos obtenidos a partir de las formas quísticas se observa un comportamiento similar, no presentando diferencia significativa en el rendimiento de células por mililitro (ANOVA  $p < 0.05$ ).

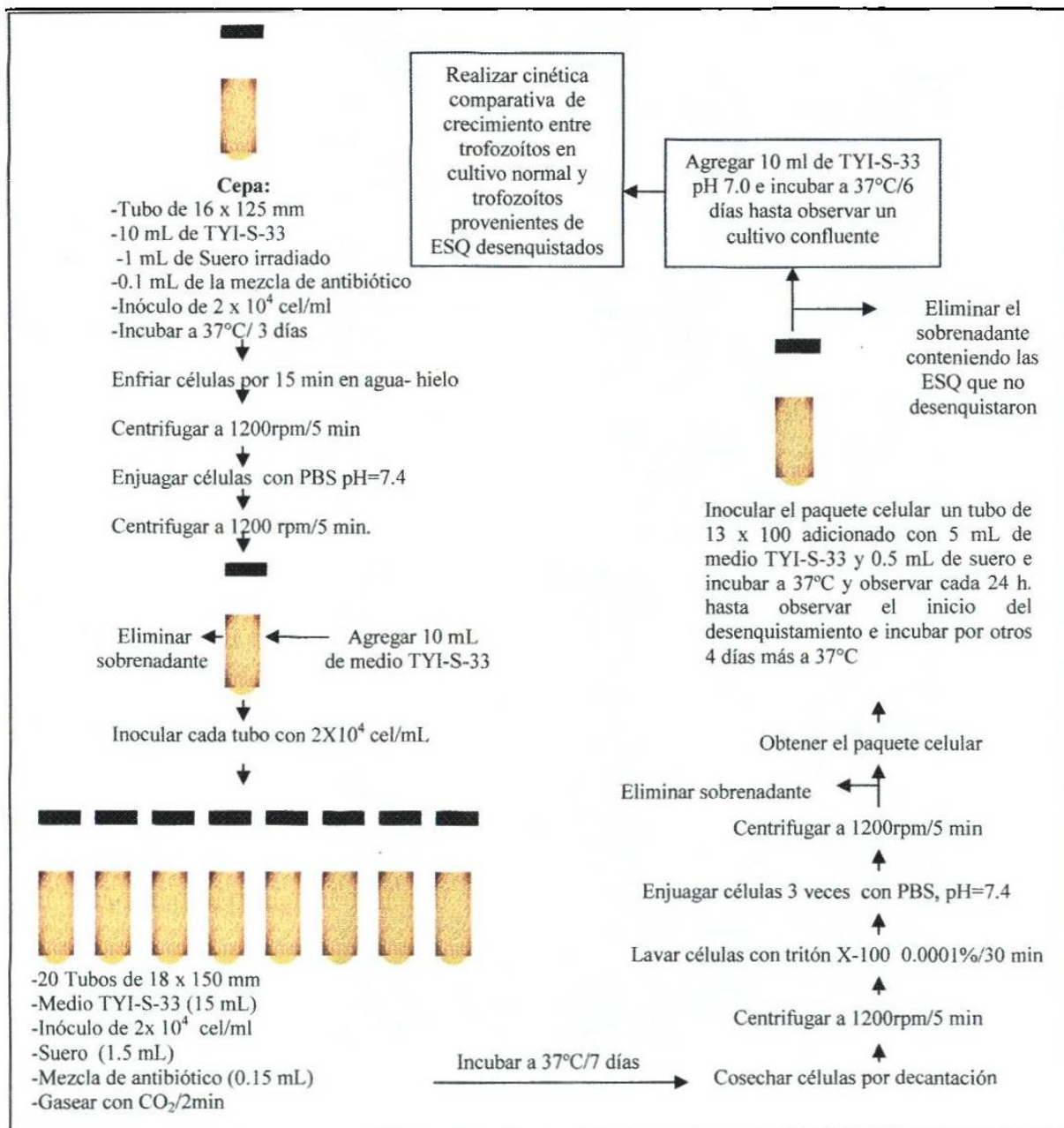


**Figura 12. Cinética de crecimiento de trofozoítos de *E. histolytica*.** La cinética fue obtenida a partir del desenquistamiento de las estructuras semejantes a quistes (línea rosa), en comparación con el control (línea azul) de la cinética de crecimiento normal. La gráfica muestra la media y la DS de tres experimentos independientes de las células desenquistadas.

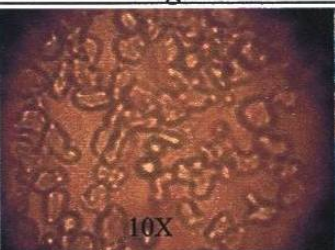

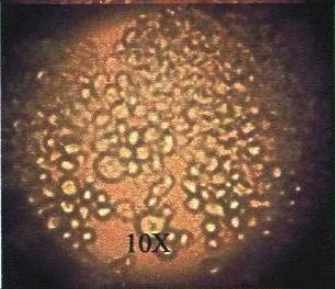
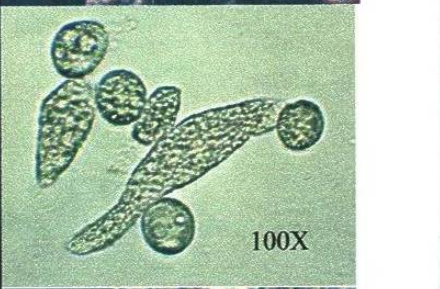
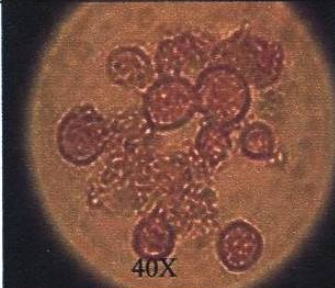
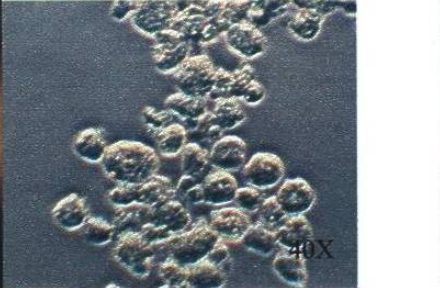
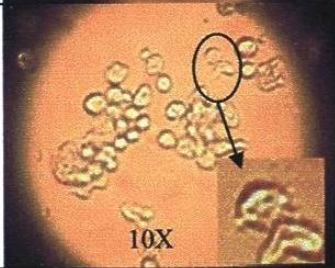
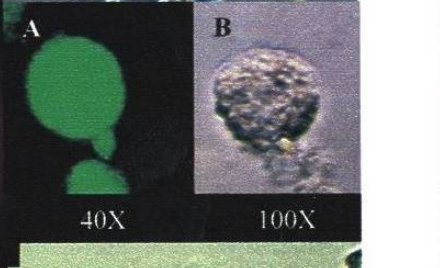
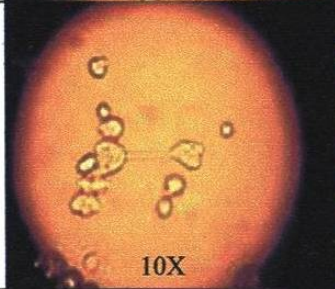





## 7.5 INDUCCIÓN DEL CICLO DE VIDA AXÉNICO DE *Entamoeba histolytica* IN VITRO

A partir de las estructuras semejantes a quistes de *E. histolytica* obtenidas del ensayo 16 de la Tabla VI, se logró reproducir el ciclo de vida axénico de *Entamoeba histolytica in vitro*, a esta metodología se le denominó "Método TGC7" (Fig. 13). Empleando esta metodología, se realizaron por triplicado ensayos para inducir el ciclo de vida axénico de *E. histolytica in vitro*, los resultados obtenidos se muestran en las figuras 14a, 14b y 14c y en la Tabla X. En estos resultados se muestran y se describen los diferentes estadios que presenta *E. histolytica* durante los estadios principales de su ciclo de vida como son el trofozoíto, prequiste, quiste y metaquiste, cabe recalcar que en esta descripción a las estructuras semejantes a quistes obtenidas *in vitro*, las referimos como quistes de *E. histolytica*.



**Figura 13. Método TGC7.** Método desarrollado bajo condiciones axénicas para inducir el ciclo de vida de *Entamoeba histolytica in vitro*.

| Estadio  | Imagen A   | Imagen B   |
|--|--|--|
| Trofozoítos  |  <p>10X</p>   |  <p>40X</p>                |
| Prequistes   |  <p>10X</p>   |  <p>100X</p>               |
| Quistes  |  <p>40X</p>  |  <p>40X</p>               |
| Quistes en proceso de desenquistamiento                                  |  <p>10X</p> |  <p>A 40X<br/>B 100X</p> |
| Metaquistes<br>Trofozoítos metaquisticos en proceso de división celular. |  <p>10X</p> |  <p>100X</p>             |
| Trofozoítos  |             |  <p>40X</p>              |

**Figura 14a.** Ciclo de vida axénico *in vitro* de *Entamoeba histolytica*. En esta figura se muestran los principales estadios del ciclo de vida axénico de *E. histolytica* *in vitro*: trofozoíto, prequiste, quiste y metaquiste.



**Tabla X**

Descripción de los estadios del ciclo de vida de *Entamoeba histolytica* obtenidos *in vitro*

| Estadio    | Detalles de la imagen y equipo empleado | Imagen A   | Imagen B  |
|------------|---|--|---|
| Trofozoíto | Descripción                             | Se observan trofozoítos en muy buen estado y de aspecto pleomórfico los cuales se encuentran adheridos a la base del tubo de vidrio. (10x)   | Se observan trofozoítos en muy buen estado y de aspecto pleomórfico. Esta imagen se obtuvo a través de microscopio de contraste de fase (40x)   |
|            | Detalles de cultivo                     | Se incubaron por 3 días en TY1-S-33 completo   | Se incubaron por 3 días en TY1-S-33 completo, se fijaron con glutaraldehído   |
|            | Fotodocumentación                       | Microscopio Invetido, Zeiss<br>Cámara Sony Cyber Shot 3 Mp.  | Microscopio de contraste de fase, Zeiss Fase pH-2, filtro azul.<br>Canon EOS RebelG, Rollo Kodak, Asa 100.  |
| Prequiste  | Descripción                             | Se observa en el fondo de la base del tubo de vidrio, tanto trofozoítos prequísticos aún con su aspecto pleomórfico así como también se observan algunos prequistes de aspecto redondeado y refringente. (10X) | En este estadio conviven en el mismo tubo tanto trofozoítos prequísticos como prequistes de aspecto redondeado y refringente, en dos de ellos se observa la presencia de 2 núcleos característicos con su cariosoma central, entre estos prequistes se observa un trofozoito, entre ellos es evidente la diferencia de sus dimensiones. (40X) |
|            | Detalles del metodo                     | Se aplicó a los trofozoítos el método de alta tension de CO <sub>2</sub> y se incubaron por cuatro días.   | Se aplicó a los trofozoítos el método TGC7, se incubaron por cuatro días y se fijó la muestra con glutaraldehído  |
|            | Fotodocumentación                       | Microscopio Invetido, Zeiss<br>Cámara Sony Cyber Shot 3 Mp.  | Microscopio de contraste de fase, Zeiss Fase pH-3, filtro azul.<br>Canon EOS RebelG, Rollo Kodak, Asa 100.  |
| Quiste     | Descripción                             | Se observa un grupo de quistes. presentan aspecto esférico y bordes regulares, dos de ellos parecen estar unidos por la misma cubierta y los ocho se encuentran agrupados por una especie de malla. 100X.      | Se observa un grupo de estructuras quísticas, cada una estas estructuras presenta su típica morfología esférica y refringentes al microscopio de luz (40X)  |
|            | Detalles del método                     | Se aplicó a los trofozoítos al método TGC7 y se incubaron por siete días, se retaron con detergente y se fijaron con glutaraldehído  |   |
|            | Fotodocumentación                       | Microscopio Invetido, Zeiss<br>Cámara Sony Cyber Shot 3 Mp.  | Microscopio de Contraste de fase, Zeiss Fase pH-2, filtro azul.<br>Canon EOS Rebel G, Rollo Kodak, Asa 100.   |

NOTA: Las imágenes A y B son referidas de la figura 14a.

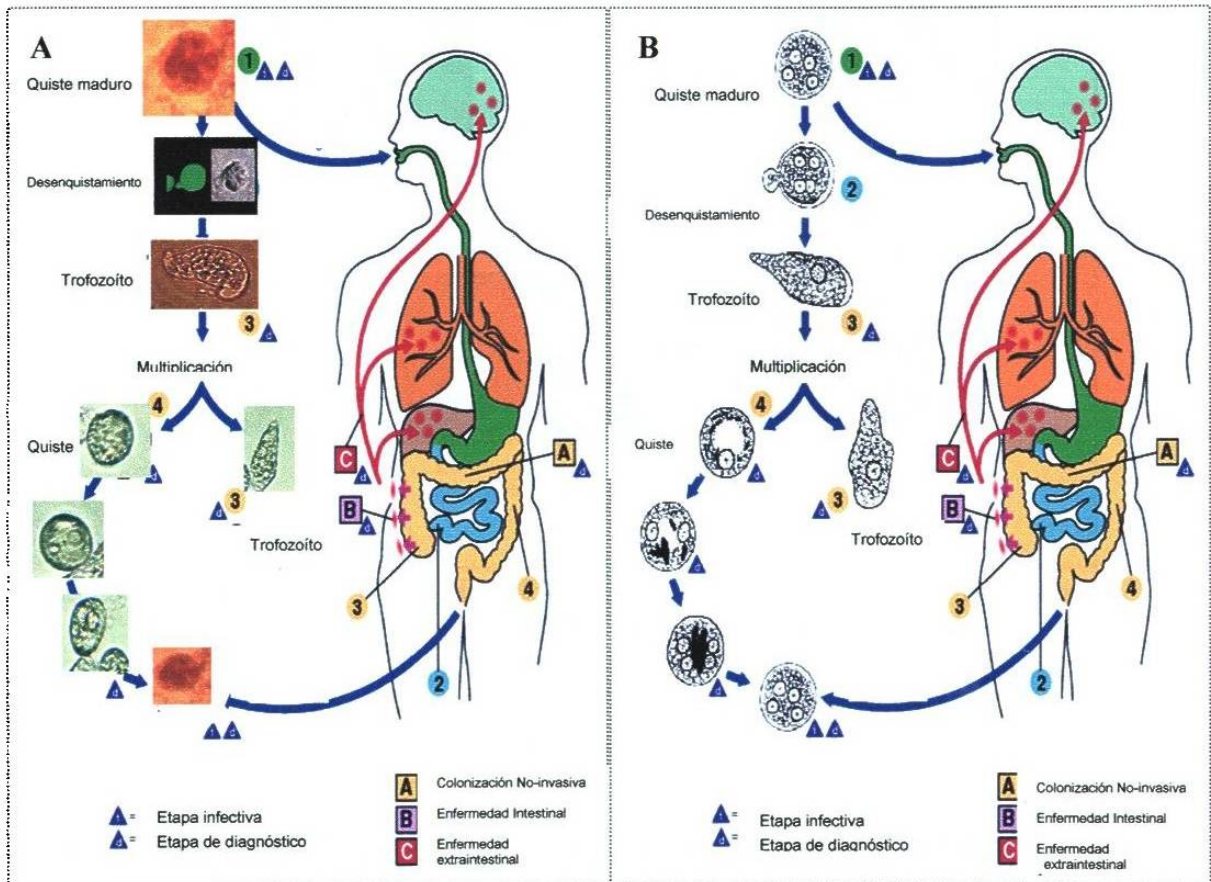
160693

Continuación de la Tabla X

|   |                             |  |   |
|---|-----------------------------|--|---|
| <p><b>Quiste</b><br/>en proceso de<br/>desenquistamiento</p>                                      | <p>Descripción</p>          | <p>Se observan algunas estructuras quísticas de aspecto esférico y refringentes a la luz, en el círculo se resalta una estructura quística de la cual lentamente emerge un pseudópodo por uno de sus extremos, posiblemente por el opérculo, también se observan algunos trofozoítos de aspecto típico, el inicio de este proceso inicia a los 12 días de incubación. En esta imagen es evidente que el desenquistamiento <i>in vitro</i> de <i>E. histolytica</i> es asincrónico. (10X)</p> | <p>A) Se observan una estructuras quística fluorescente, de aspecto esférico de la cual emerge un pseudópodo por uno de sus extremos el cual también fluoresce, (40X)</p> <p>B) Se observan una estructuras quísticas de aspecto esférico de la cual emerge un pseudópodo por uno de sus extremos, posiblemente por el opérculo, en la imagen se aprecia la diferencia entre la superficie de la cubierta del quiste y del pseudópodo. (100X)</p> |
|   | <p>Detalles del método</p>  | <p>Se cosecharon las estructuras quísticas y se sembraron en medio completo TYI-S-33 por 12 días.</p>  | <p>Se cosecharon las estructuras quísticas, se sembraron en medio completo TYI-S-33 por 12 días y se fijaron con glutaraldehído</p>   |
|   | <p>Fotodocumentación</p>    | <p>Microscopio Invetido, Zeiss<br/>Cámara Sony Cyber Shot 3 Mp.</p>  | <p>A) Microscopio de fluorescencia<br/>Cámara Sony Cyber Shot 3 Mp.<br/>B) Microscopio de contraste de fase, Zeiss, Campo oscuro, filtro azul. Canon EOS RebelG, Rollo Kodak, Asa 100.</p>  |
| <p><b>Metaquiste</b><br/>Trofozoítos<br/>metaquísticos en<br/>proceso de división<br/>celular</p> | <p>Descripción</p>          | <p>Se observa un trofozoito metaquístico en proceso de división celular por fisión binaria lo cual dará origen a dos trofozoítos independientes, también se observan algunas estructuras esféricas y refringentes a la luz, el proceso es asincrónico (10X).</p>   | <p>Se observa un trofozoito metaquístico en proceso de división celular por fisión binaria, se observan dos núcleos al interior de uno de los extremos del trofozoito metaquístico. (100X)</p>  |
|   | <p>Detalle del método</p>   | <p>Mismo proceso de desenquistamiento e incubadas por 13 días.</p>   | <p>Mismo proceso de desenquistamiento, incubadas por 13 días y fijadas con glutaraldehído.</p>  |
|   | <p>Fotodocumentación</p>    | <p>Microscopio Invetido, Zeiss<br/>Cámara Sony Cyber Shot 3 Mp.</p>  | <p>Microscopio de contraste de fase, Zeiss Fase pH-3, filtro azul. Canon EOS RebelG, Rollo Kodak, Asa 100.</p>  |
| <p><b>Trofozoito</b></p>  | <p>Descripción</p>          | <p>Se observan trofozoítos en muy buen estado y de aspecto pleomórfico los cuales se encuentran adheridos a la base del tubo de vidrio. (10X)</p>  | <p>Se observan trofozoítos de morfología pleomórfica típica de aspecto normal., esta imagen se obtuvo por microscopía de contraste de fase. (40X)</p>   |
|   | <p>Detalles del cultivo</p> | <p>Se eliminaron por decantación las estructuras quísticas que no desenquistaron, a los trofozoítos metaquísticos se les agregó medio de cultivo TYI-S-33 completo y se incubaron por otros 6 días para obtener un cultivo confluyente.</p>  | <p>Los trofozoítos que desenquistaron se incubaron por 3 días en TYI-S-33 completo y se fijaron con glutaraldehído.</p>   |
|   | <p>Fotodocumentación</p>    | <p>Microscopio Invetido, Zeiss<br/>Cámara Sony Cyber Shot 3 Mp.</p>  | <p>Microscopio de contraste de fase, Zeiss Fase pH-2, filtro azul. Canon EOS RebelG, Rollo Kodak, Asa 100.</p>  |

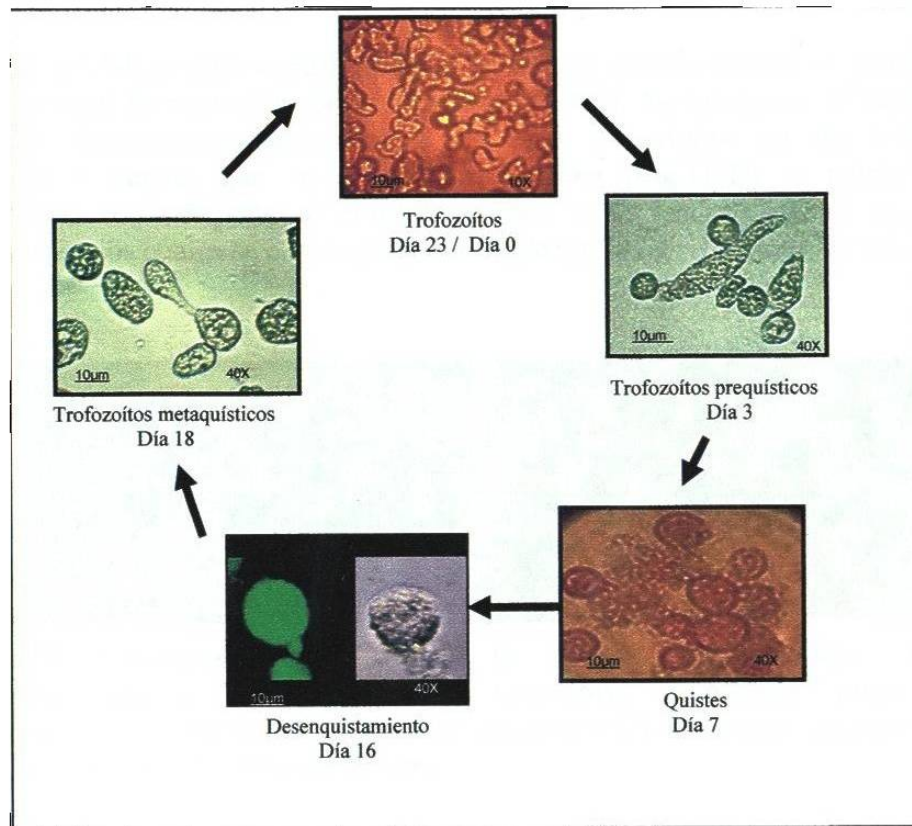


En la figura 14b se observa una comparativa de los estadios del ciclo de vida de *E. histolytica*, en A se observan los estadios desarrollados bajo condiciones axénicas *in vitro* empleando el método TGC7 y en B se observan los estadios del ciclo de vida *in vitro* de *E. histolytica* reportados por el Control Diseases Center ([www.cdc.com](http://www.cdc.com)).



**Figura 14b. Estadios del ciclo de vida de *Entamoeba histolytica*.** A) estadios desarrollados bajo condiciones axénicas *in vitro*, B) estadios *in vivo* del ciclo de vida de *E. histolytica* reportado por la CDC (Control Diseases Center).

Bajo la metodología aquí empleada, *Entamoeba histolytica* tarda en promedio 23 días en reproducir su ciclo de vida axénico *in vitro* (Fig. 14c), por otra parte cabe mencionar que el proceso es asincrónico y solamente una fracción del total de estructuras semejantes a quistes de *E. histolytica* cumplen esta descripción y el resto no desenquista.



**Figura 14c. Ciclo de vida axénico de *E. histolytica* in vitro.** Empleando el método TGC7 desarrollamos el ciclo de vida de *E. histolytica*, bajo condiciones axénicas in vitro a *E. histolytica* le toma en promedio un total de 23 días para completar su ciclo de vida y formar nuevamente un cultivo confluyente

## 7.6 MORFOLOGÍA DE LOS TROFOZOÍTOS, QUISTES Y ESTRUCTURAS SEMEJANTES A QUISTES DE *E. histolytica*

### 7.6.1 Tinciones

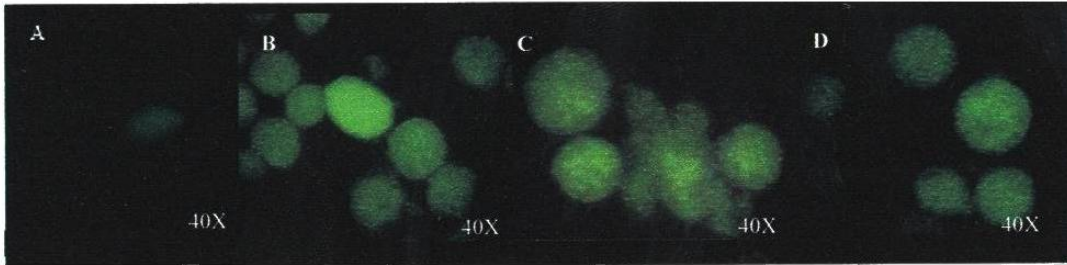
Las diversas tinciones especiales realizadas nos permiten evidenciar algunas características morfológicas y de composición de las estructuras semejantes a quistes de *E. histolytica* y compararlas con trofozoítos y quistes de este protozoario.

#### 7.6.1.1 Fluorescencia

Las estructuras quísticas de *Entamoeba histolytica* obtenidas de acuerdo al método TGC7, se tiñeron con calcoflúor M2r para observar fluorescencia de la pared quística ya que este colorante tiene afinidad por quitina, la cual es un polímero con enlace de N-acetil-glucosamina que se encuentra como constituyente principal de la pared quística. Como control negativo se tiñeron trofozoítos provenientes de cultivos a la mitad de la fase log de crecimiento (Fig. 15-A), como testigo empleamos quistes de *Entamoeba invadens* obtenidos



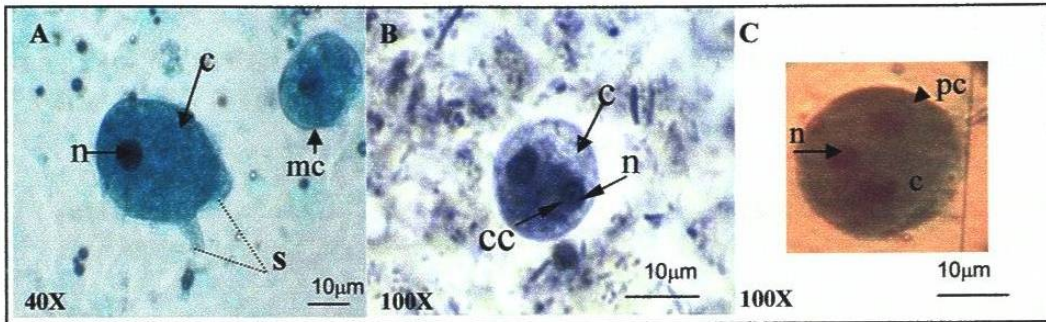
*in vitro* (Fig.15-B), como control positivo se tiñeron quistes aislados a partir de heces diarreicas de pacientes con amibiasis (Fig.15-C), en los cuales se observa la intensa fluorescencia característica de estas estructuras; en las formas semejantes a quistes que se obtuvieron *in vitro* (Fig.11-D) el patrón de fluorescencia es semejante al control positivo y al testigo, no así en los trofozoítos en los cuales se observa una débil fluorescencia en algunos de ellos.



**Figura 15. Comparación del patrón de tinción con calcoflúor M2r:** A) control negativo, trofozoítos de *E. histolytica*, B) testigo, quistes de *E. invadens*, C) control positivo, quiste de paciente y C) estructuras semejantes a quistes de *E. histolytica* obtenida *in vitro*.

#### 7.6.1.2 Tinción Tricrómica

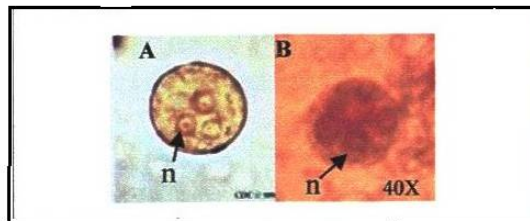
Los resultados de la tinción con el colorante tricrómico de Gomori se muestran en la figura 16. En la imagen A de esta figura se aprecian trofozoítos de aproximadamente 40 $\mu$ m de diámetro, observados a microscopio de luz y fotodocumentados con cámara automática y rollo kodak asa 100, se aprecia de aspecto pleomórfico, delimitados por una membrana celular (mc), en su interior se observan un núcleo (n) el cual se observa teñido intensamente y el citoplasma (c) se observa de una tonalidad verde-violácea característica de esta tinción, además es posible apreciar dos pseudópodos (s) de aspecto hialino; en la imagen B correspondiente a un quiste de aproximadamente 20 $\mu$ m, obtenido de muestra de paciente, observado a microscopio de luz y fotodocumentados con cámara automática y rollo kodak asa 100, se aprecia una estructura esférica y en su interior se observan dos núcleos (n) con su típico cariosoma central (cc) teñidos intensamente y el citoplasma (c) se observa de una tonalidad violácea, en la imagen C correspondiente a una estructura quística obtenida *in vitro* y fotodocumentada a través de cámara digital SONY cyber-shot se observan una estructura esférica de aproximadamente 20 $\mu$ m claramente delimitada por una pared celular (pc), en su interior se observan múltiples núcleos (n) teñidos intensamente y el citoplasma se aprecia de una tonalidad verde-violácea, siendo todas estas características de un quiste maduro de *Entamoeba histolytica* como se aprecia en la imagen B de la misma figura 16.



**Figura 16. Comparación del patrón de la tinción tricrómica.** Tinción tricrómica realizada en: A) en trofozoítos de *E. histolytica* cultivada *in vitro*, el cual está delimitado por la membrana celular (mc), al interior del citoplasma (c) se observa un núcleo(n), además se observan dos pequeños pseudópodos (s). B) quiste de *E. histolytica* obtenido de paciente que presenta al interior del citoplasma (c) dos núcleos (n) con el cariosoma central (cc). C) estructura quística obtenida *in vitro* en la que al igual al quiste de paciente, también se aprecian multinucleación a diferencia de la imagen A, en la cual se aprecia un sólo núcleo y de aspecto pleomórfico.

### 7.6.1.3 Tinción con yodo-lugol

Las estructuras semejantes a quistes de *E. histolytica* obtenidas *in vitro* fueron teñidas con la técnica tradicional de yodo-lugol, ya que dicho colorante tiene afinidad por los polímeros de N-acetil-glucosamina y además tiñe al núcleo, permitiendo una fácil y rápida identificación de estos, como se observa en la Fig. 17, en A se observa un quiste de *E. histolytica* obtenido de un paciente con amibiasis (según Center Diseases Control) y en B el patrón de tinción de una estructura semejante a quiste de *E. histolytica* obtenida *in vitro* bajo condiciones axénicas, esta imagen fue fotodocumentada a través de una cámara SONY cyber-shot 3.0, el patrón de tinción es semejante, permitiendo observar multinucleación en ambas imágenes.



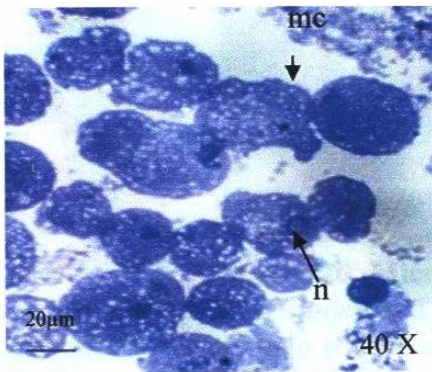
**Figura 17. Comparación del patrón de tinción con yodo-lugol.** A) quiste de *E. histolytica* obtenido de un paciente con amibiasis y B) estructura semejante a quiste de *E. histolytica* obtenida *in vitro* en el cual se observa multinucleación (aumento original 40X).



## 7.7 ANÁLISIS MORFOLÓGICO Y TOPOGRÁFICO DE LAS ESTRUCTURAS SEMEJANTES A QUISTES DE *Entamoeba histolytica*

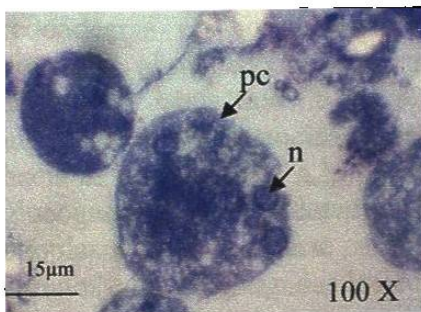
### 7.7.1 Análisis morfológico de las estructuras semejantes a quistes de *E. histolytica* mediante Microscopía Electrónica de Transmisión (MET)

Se realizaron cortes semifinos tanto de trofozoítos como de estructuras semejantes a quistes obtenidos mediante el método TGC7, en la figura 18 se observa un corte semifino de un grupo de trofozoítos cultivados en el medio TYI-S-33 bajo condiciones normales, en esta imagen se observa que los trofozoítos presentan el aspecto típico pleomórfico. En esta imagen es posible observar que están delimitadas por la membrana celular (mc), en varias de ellas la presencia de un núcleo (n) el cual se tiñe intensamente de azul-violáceo, y al interior se observan vacuolas distribuidas uniformemente en el citoplasma.



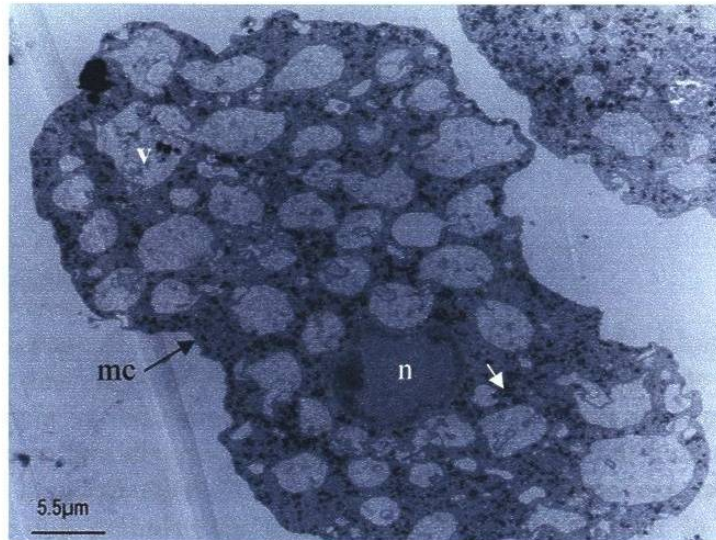
**Figura 18. Corte semifino de un trofozoíto de *E. histolytica*.** Imagen correspondiente al corte semifino de un grupo de trofozoítos cultivados en el medio TYI-S-33, bajo condiciones normales, los cuales presentan el típico aspecto pleomórfico, están delimitados por la membrana celular (mc) y presentan un sólo núcleo (n) teñido intensamente. (aumento original 40X)

En la figura 19 observamos la imagen correspondiente a una estructura semejante a quiste de *E. histolytica* obtenida de acuerdo al bioensayo 16 (Tabla VI), en esta imagen se observa que esta estructura está delimitada por lo que puede corresponder a una delgada pared celular (pc), al interior se observa la presencia de tres núcleos (n) con la cromatina adosada en la periferia interna de la membrana nuclear, en dos de estos núcleos se observa claramente un cariosoma central, dicha descripción concuerda con la reportada para quistes maduros de *E. histolytica*.



**Figura 19. Corte semifino de una estructura semejante a quiste de *E. histolytica*.** Imagen correspondiente al corte semifino de una estructura semejante a quiste de *E. histolytica* teñida con azul de toluidina, la cual se observa delimitada por la pared celular (pc), también se observan 4 núcleos (n) con la cromatina condensada en la periferia y un cariosoma central, dicha descripción corresponde a los núcleos de un quiste maduro de *E. histolytica*. (aumento original 100 X)

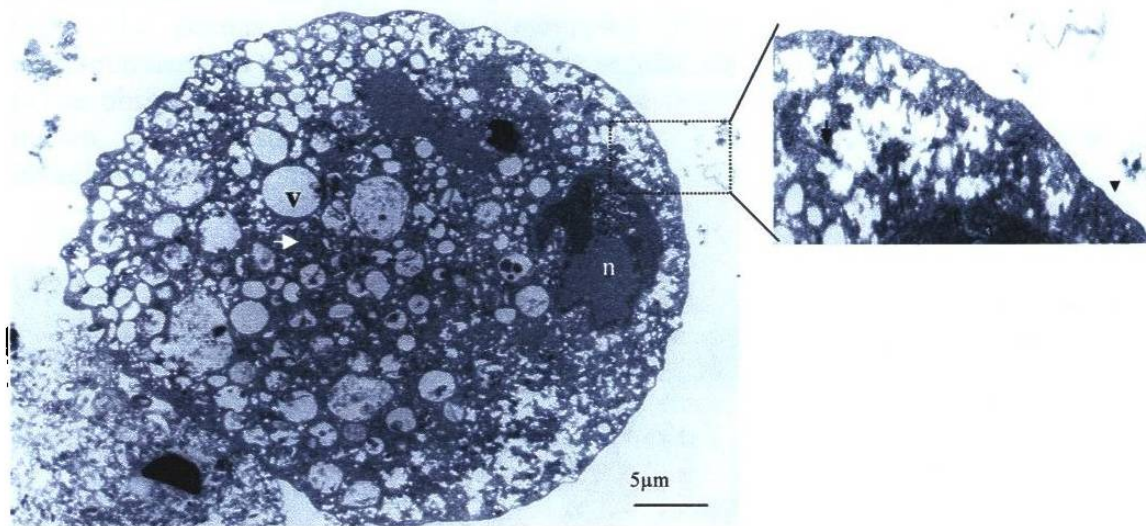
Por otra parte se hicieron cortes finos para microscopía electrónica de transmisión. En la figura 20 se observa la imagen de un trofozoíto de *E. histolytica* cultivado bajo condiciones normales e incubados por 3 días, el cual está delimitado por la membrana celular (mc) y presenta su aspecto pleomórfico típico, el núcleo (n) presenta la cromatina condensada en la periferia de la cara interna de la membrana nuclear, en el citoplasma se encuentran dispersas de forma uniforme vacuolas (v), también es evidente la presencia de gránulos posiblemente de glucógeno.



**Figura 20. Micrografía electrónica de un trofozoíto de *E. histolytica*.** Trofozoíto cultivado por 3 días en TYI-S-33 bajo condiciones normales. El trofozoíto muestra estar delimitado por la membrana celular (mc), nótese su aspecto pleomórfico y el núcleo (n) con la cromatina condensada en la periferia de la cara interna de la membrana nuclear, en esta imagen es evidente la gran cantidad de vacuolas (v) y de gránulos de glucógeno distribuidos abundantemente en el citoplasma (flecha blanca). 2000X

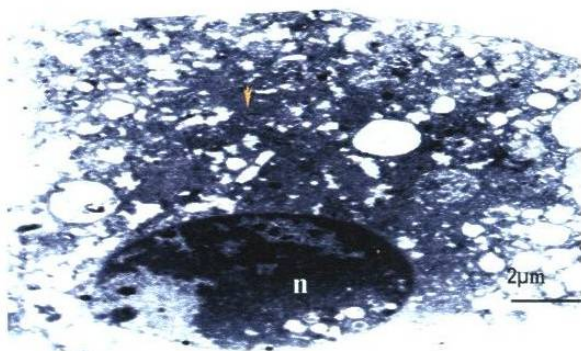
En la micrografía electrónica de la figura 21 se observa la imagen correspondiente a un trofozoíto de *E. histolytica* cultivado por 3 días en TYI-S-33 bajo condiciones de alta tensión de CO<sub>2</sub>, en el cual se observa la tendencia a redondearse en comparación con los trofozoítos cultivados bajo condiciones normales, el núcleo (n) no presenta su aspecto esférico y la cromatina se encuentra disgregada hacia uno de los extremos del núcleo, lo cual podría representar una inminente división nuclear, por otra parte las vacuolas se encuentran distribuidas hacia el polo opuesto a la ubicación del núcleo en el citoplasma y los gránulos de glucógeno (gg) se encuentran distribuidos principalmente en la parte central del citoplasma, por otra parte en la sección ampliada de esta misma imagen se observan algunos cuerpos alargados los cuales corresponden a hélices de ribonucleoproteínas.





**Figura 21. Micrografía electrónica de un trofozoíto de *E. histolytica*.** Trofozoíto cultivado por 3 días en TYI-S-33 bajo condiciones de alta tensión de CO<sub>2</sub>, el trofozoíto presenta tendencia a redondearse, el núcleo (n) no presenta su aspecto esférico y la cromatina se encuentra disgregada, lo cual podría corresponder a un estado de división nuclear, nótese la distribución de las vacuolas hacia el extremo opuesto del núcleo y la distribución de los gránulos de glucógeno (flecha blanca) en la parte central del citoplasma. 6,200X. En la imagen ampliada de la sección señalada en el recuadro derecho se observan escasas barras posiblemente de hélices de ribonucleoproteínas (flecha negra). Aumento original 12.400X

En la micrografía de la figura 22 se observa la fracción de un trofozoíto cultivado bajo condiciones de alta tensión de CO<sub>2</sub>, en esta imagen el núcleo (n) se observa ovalado y con la cromatina disgregada, en el citoplasma se observan estructuras alargadas que corresponden a hélices de ribonucleoproteínas (cabeza de flecha).



**Figura 22. Micrografía electrónica de una porción de un trofozoíto de *E. histolytica*.** Trofozoíto cultivado por 3 días en TYI-S-33 bajo condiciones de alta tensión de CO<sub>2</sub>. En el núcleo (n) la cromatina se encuentra disgregada y en el citoplasma se observan estructuras alargadas características de hélices de ribonucleoproteínas (cabeza de flecha) 12,400 X.