

UNIVERSIDAD DE SONORA
DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
PROGRAMA DE MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA SALUD

Análisis del Polimorfismo de los Genes Asociados con la Respuesta Inmune Adquirida (HLA-DQ, HLA-DR) en Pacientes con Amibiasis del Estado de Sonora

TESIS

Que para obtener el grado de

Maestro en Ciencias de la Salud

Presenta

Ulises Juan Carlos Magaña Núñez

Hermosillo, Sonora

Febrero de 2013

Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

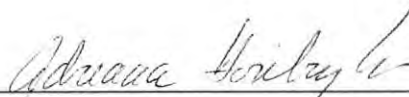
FORMA DE APROBACIÓN

Los miembros del Jurado Calificador designado para revisar el trabajo de Tesis de **Ulises Juan Carlos Magaña Núñez**, lo han encontrado satisfactorio y recomiendan que sea aceptado como requisito parcial para obtener el grado de Maestría en Ciencias de la Salud.



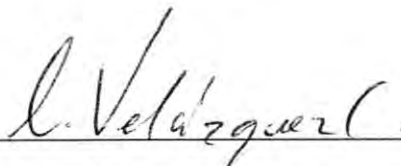
Dra. Olivia Valenzuela Antelo

Director Académico



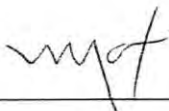
Dr. Adriana Garibay Escobar

Secretario



Dr. Carlos Arturo Velázquez Contreras

Vocal



Dra. María Auxiliadora Islas Osuna

Suplente

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencias y Tecnología (CONACYT) por el apoyo brindado durante dos años por medio de la beca No. 38477.

A la Universidad de Sonora mi *alma mater*, por brindarme la oportunidad de seguir mi formación académica.

Al posgrado Programa de Maestría en Ciencias de la Salud por la confianza otorgada al aceptarme y brindarme la oportunidad de seguirme preparando, a todos los profesores e investigadores por compartir sus conocimientos y el tiempo otorgado, así como al personal administrativo.

A mi Directora de tesis, Dra. Olivia Valenzuela Antelo, por aceptarme como su tesista, por su paciencia, por compartirme sus conocimientos, por su entera disposición, por sus sinceros y sabios consejos, pero sobretodo por enseñarme que la vida debe afrontarse como venga, admiro su entereza Dra. Olivia, muchas gracias por todo.

A los miembros de mi comité de tesis, Dra. Adriana Garibay Escobar, Dra. María Auxiliadora Islas Osuna y Dr. Carlos Arturo Velázquez Contreras, por sus valiosas observaciones y aportaciones al presente trabajo.

A la Dra. Cecilia Ximenez García (Laboratorio de Inmunología de la Unidad de Medicina Experimental de la Facultad de Medicina, UNAM) por permitirme realizar la estancia de investigación en su laboratorio, por su valiosa colaboración en el proyecto y su entera disponibilidad. Así como al grupo de trabajo del Laboratorio de Inmunología de la UME, que hicieron que la estancia en el D.F. fuera más llevadera, agradecido con todos, especialmente a la Dra. Morán, Male, Dr. Enrique, Dr. Oswaldo, Dra. Miriam, Dr. Eric, Alis, Don Toño por aceptarme como uno más de su grupo y su apoyo durante el trabajo de laboratorio.

Al Dr. Julio Granados Arriola por su colaboración en la tipificación al permitirnos utilizar las instalaciones de su laboratorio en el Departamento de Transplantes del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán. Así como a la Dra. Mónica Escamilla por su apoyo y disponibilidad durante la tipificación.

Al Dr. Manuel Cano y Dr. Jorge Isaac Cardoza, así como al personal médico y enfermeras del Hospital Infantil del Estado de Sonora y Hospital General del Estado de Sonora respectivamente, por su valiosa colaboración en la captación de pacientes para el presente estudio. También a la trabajadora social Patricia Camou por su apoyo en localizar a los pacientes.

A los participantes de ambos grupos incluidos en el estudio, sin los cuales nada de esto hubiera sido posible, por su colaboración y completa disposición en otorgarnos las muestras solicitadas.

A la Asociación de Estudiantes Sudcalifornianos en México (AESM) y al Gobierno del estado de B. C. Sur por la beca destinada a la institución antes mencionada, por albergarme durante mi estancia en el D.F., a las cocineras (Lety, Male, Carmen y Ana Paula) por darme alimento durante toda mi estancia, a las señoras de limpieza y a cada uno de los habitantes de la AESM, donde pude lograr buenos amigos que hicieron más amena la estancia en la ciudad, especialmente a mi prima Teresita Magaña y a mi tocayo Daniel Ulises por los buenos momentos que pasamos.

A Dios por permitirme llegar hasta donde hoy me encuentro, por brindarme salud y poner a cada una de las personas que se encuentran hoy en mi vida.

A mi familia, mis padres Elizabeth Núñez y Martín Magaña y a mis hermanos Irving y Martín, este logro es tanto mío como de ustedes ya que han estado a mi lado siempre para apoyarme y alentarme a seguir adelante, por el sacrificio que han hecho durante largo tiempo.

A toda mi familia, mis abuelitos, tíos y primos, por creer en mí y por sus palabras de aliento para seguir adelante, todos sin duda han sido un gran apoyo en todo momento, en especial a mi tío Serafín, que ha sido un gran apoyo en todos los aspectos.

A mi novia Hypathia por permanecer a mi lado a pesar de todo, por tu comprensión y paciencia, por creer en mí, por tu inmenso apoyo y el amor que me brindas día con día.

A la familia Noriega Verdugo (Doña Luisa, Don Darío, Zully, Vanesa y Darío), por que al estar lejos de casa se resiente la ausencia de la calidez de un hogar, y ustedes me han hecho sentir como en casa, por aceptarme como parte de ustedes y brindarme su confianza.

Al Dr. Eric Hernandez (Ericucho) por su apoyo durante la realización de este trabajo, por su tiempo compartido en el laboratorio, pero más que nada por su amistad.

Al Dr. Oswaldo Partida (Oswalberto) por ser un apoyo fundamental en la culminación de esta tesis, por ser más que un compañero de trabajo un gran amigo, por todo el apoyo que recibí de su parte durante mi estancia en el D.F. y por hacer todo ese tiempo mucho más ameno y llevadero, por todos los conocimientos compartidos y cada una de las experiencias vividas, extendiendo este agradecimiento a su esposa Dra. Miriam Nieves por todo el apoyo brindado, así como por abrirme las puertas de su casa y brindarme la calidez de un hogar, sin lugar a dudas de las mejores personas que uno puede encontrar, también a su mamá Doña Pola por la atención recibida de su parte, estaré infinitamente agradecido con ustedes.

A mis compañeros de maestría, por los momentos compartidos y por hacer más llevadero el trayecto, especialmente a Iván, Diego, Sarai y Luisa que fue con quienes compartí mayor tiempo.

A mis amigos, los que se han mantenido con el tiempo y sé que siempre estarán ahí, aunque solo se mantiene relación estrecha con solo algunos, existen muchos que son importantes, especialmente aquellos que siempre han estado al pie del cañón: Edgar, Ramón, Ivanno, Diego, Lino, Marco.

DEDICATORIAS

A mi mamá Elizabeth Núñez por ser por darme el más valioso regalo, la vida, por todas tus atenciones y tu apoyo incondicional, por tu paciencia porque a pesar de las veces que me equivoque siempre estás ahí para mí. Soy tan afortunado por contar contigo siempre. Te Amo Mamá.

A mi papá Martín Magaña, por todas tus lecciones en la vida, por los valores y principios que me has inculcado, porque gracias a tu esfuerzo he llegado hasta aquí y culminado esta etapa, por ser el pilar de nuestra familia y un ejemplo a la dedicación y perseverancia. Te Amo Papá.

A mis hermanos Irving y Martín, por su enorme paciencia y por enseñarme a ser mejor cada día, por los momentos maravillosos que hemos compartido, por su valioso sacrificio para ayudarme a llegar a donde me encuentro hoy en día. Los amo a los dos.

A mis dos grandes familias, Magaña y Núñez, a mis abuelos (Oliva, Petra, Bonifacio y Ángel), a todos mis tíos y mis primos, sin duda tengo algo que agradecer a cada uno, Porque han creído en mí y depositado su confianza. Todos son sin duda una pieza fundamental en mi vida.

A mi tío Serafín, por estar siempre ahí cuando se necesita, por poner las palabras precisas en los momentos adecuados y por el apoyo brindado siempre.

A mi novia Hypathia, por estar siempre a mi lado, por tu enorme paciencia, cariño y apoyo, por tu confianza y por los momentos tan extraordinarios que me has regalado, este logro también es tuyo pues te has mantenido en mi trayecto e impulsado para seguir adelante cuando las cosas no iban bien.

A mis ahijados (mis hijos postizos) Brandón, Juanito y Emma, por permitirme disfrutar de ustedes y llenarme la vida de sonrisas y transportarme al pasado como cuando era niño, por llenar mi vida de felicidad y alentarme a ser un buen ejemplo para ustedes.

A Dios quién me ha guiado por el buen camino, quien me ha dado fuerzas para seguir adelante y no desfallecer en las adversidades.

"La dicha de la vida consiste en tener siempre algo que hacer, alguien a quien amar y alguna cosa que esperar" Thomas Chalmers

CONTENIDO

LISTA DE TABLAS	ix
LISTA DE FIGURAS	x
OBJETIVOS	xi
Objetivo General	xi
Objetivos Particulares	xi
RESUMEN.....	xii
INTRODUCCIÓN	1
ANTECEDENTES.....	4
<i>Entamoeba histolytica</i>	4
Ciclo de Vida.....	5
Virulencia y Patogenia	8
Manifestaciones Clínicas de la Amibiasis.....	9
Amibiasis Asintomática	9
Amibiasis Intestinal.....	10
Amibiasis Hepática	10
Epidemiología de la Amibiasis	11
Respuesta Inmune a la infección por la Amibiasis	13
Respuesta Inmune Innata	13
Respuesta Inmune Adaptativa.....	16
Complejo Principal de Histocompatibilidad	17
Moléculas HLA.....	20
Presentación de Antígenos Extracelulares	21
Polimorfismos en los Genes del HLA.....	22
Métodos de Estudio del Polimorfismo HLA.....	23
Asociación de Polimorfismos con Susceptibilidad a Enfermedades	24
HLA y Amibiasis	25
MATERIALES Y MÉTODOS	27

Diseño del Estudio	27
Sujetos de Estudio.....	27
Material Biológico	28
Determinación de Anticuerpos contra <i>E. histolytica</i>	28
Extracción de DNA.....	29
Tipificación del HLA-DRB1 y HLA-DQB1.....	30
Análisis Estadístico	31
RESULTADOS.....	33
Individuos de Estudio.....	33
Frecuencias Alélicas de HLA-DRB1 y HLA-DQB1 en la Población de Estudio ...	35
Frecuencias Alélicas de <i>HLA-DQB1</i>	35
Frecuencias Alélicas de <i>HLA-DRB1</i>	37
Frecuencias de Haplotipos <i>HLA-DQB1- HLA-DRB1</i>	37
Frecuencia de Genotipos de <i>HLA-DQB1</i>	37
Frecuencia de Genotipos de <i>HLA-DRB1</i>	40
Frecuencia de Combinaciones de Genotipos <i>HLA-DQB1</i> y <i>HLA-DRB1</i>	40
DISCUSIÓN	46
CONCLUSIÓN	49
BIBLIOGRAFÍA	50

LISTA DE TABLAS

Tabla		Página
I	Características de los grupos de estudio.....	34
II	Frecuencia de alelos HLA-DRB1 y HLA-DQB1 en la población estudiada...	35
III	Frecuencias alélicas de HLA-DQB1 en pacientes con AHA de Sonora.....	36
IV	Frecuencias alélicas de HLA-DRB1 en pacientes con AHA de Sonora.....	38
V	Frecuencias haplotípicas <i>DQB1-DRB1</i> en pacientes con AHA de Sonora.....	39
VI	Frecuencias genotípicas de <i>HLA-DQB1</i> en pacientes con AHA de Sonora ...	41
VII	Frecuencias genotípicas de <i>HLA-DRB1</i> en pacientes con AHA de Sonora....	42
VIII	Frecuencias de combinación de genotipos <i>DQB1-DRB1</i> en pacientes con AHA de Sonora	44

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Quiste del complejo <i>E. histolytica</i> / <i>E. dispar</i> y trofozoíto de <i>E. histolytica</i> ...	6
2	Ciclo de vida de <i>E. histolytica</i>	7
3	Esquema de la respuesta inmune del hospedero y la patología durante la infección con <i>E. histolytica</i>	14
4	El complejo principal de histocompatibilidad humano (MHC).....	19

OBJETIVOS

Objetivo General

- Analizar el polimorfismo de los genes *HLA-DQB1* y *HLA-DRB1* en pacientes con absceso hepático amibiano del estado de Sonora.

Objetivos Particulares

- Determinar las frecuencias de los polimorfismos de los genes *HLA-DQB1* y *HLA-DRB1* en pacientes con absceso hepático amibiano.
- Comparar las frecuencias de los polimorfismos de *HLA-DQB1* y *HLA-DRB1* con un grupo control sin diagnóstico ni antecedentes de enfermedad amibiana invasora.

RESUMEN

La amibiasis es una infección común y potencialmente letal, considerada la segunda enfermedad asociada a mortalidad solo después de la malaria en términos de protozoarios. El protozooario parásito intestinal *Entamoeba histolytica* causa colitis amibiana y enfermedad extraintestinal, que incluye al absceso hepático amibiano. (Haque y col., 2003; Stanley, 2003). Los países en vías de desarrollo son los más frecuentemente afectados, como los de América Latina, Asia y África. El estado de Sonora, presenta una alta incidencia de AHA (12.57 / 100000 habitantes). Con el fin de explorar una posible asociación entre el MHC y la susceptibilidad al AHA, se analizaron los genes asociados a la respuesta inmune adquirida *HLA-DQB1* y *HLA-DRB1* en 30 pacientes con AHA del estado de Sonora comparados con 61 individuos de un grupo control. En este trabajo se determinó la presencia del haplotipo heterocigoto DQB1*02-DRB1*03, solamente en el grupo control (9.2%), lo que sustenta de manera preliminar la idea de su posible participación en la resistencia al AHA. El 15.0% de los pacientes con AHA presentan el alelo DQB1*02 en comparación con el 26.7% observado en el grupo control. Otro hallazgo importante en el presente trabajo es el aumento de la frecuencia del genotipo DQB1*03/06 en los pacientes con AHA (16.7%), comparado con lo encontrado en controles (3.3%); lo cual posiblemente estaría relacionado a la susceptibilidad a la amibiasis extraintestinal. Si bien se requiere aumentar el tamaño de muestra para concluir contundentemente el estudio, los resultados obtenidos en el presente trabajo proveen indicios de que existe participación del HLA-DQB1 en la resistencia y predisposición al AHA en población del Estado de Sonora.

MHC. Complejo Mayor de Histocompatibilidad; **AHA.** Absceso Hepático Amibiano.

INTRODUCCIÓN

La amibiasis es una infección cosmopolita y potencialmente letal, considerada por la Organización Mundial de la Salud como la segunda enfermedad asociada a mortalidad solo después de la malaria en términos de protozoarios (OMS, 1997). El protozoo parásito intestinal *Entamoeba histolytica* (*E. histolytica*) causa colitis amibiana y enfermedad extraintestinal, que incluye al absceso hepático amibiano (AHA), la mayoría de las infecciones ocurren en países en vías de desarrollo (Haque y col., 2003; Stanley, 2003). Se considera que 10% de la población mundial está infectada y el 90% son asintomáticos. La prevalencia combinada de la colitis amibiana y el AHA se estima en 40-50 millones de casos anuales en todo el mundo, dando lugar a 40000 a 100000 muertes (Aristizábal y col., 1991; Fotedar y col., 2007). En nuestro país, la amibiasis es considerada uno de los problemas de salud pública más importantes. En el adulto la disentería amibiana es menos frecuente que en los niños; sin embargo, el AHA es la forma de amibiasis extra intestinal más común de los adultos en edad productiva (Ximenez y col., 2002).

Datos oficiales de morbilidad por AHA disponibles hasta el año 2002, cuando dejó de ser una enfermedad de comunicación obligatoria en México, revelan que el estado de Sonora es uno de los cinco estados cuya tasa de incidencia es mayor a 10 casos por cada 100000 habitantes (2002). Durante el año 2005 se realizó una evaluación de la morbilidad AHA en el estado de Sonora a través de un estudio retrospectivo (2000-2005) de los egresos hospitalarios y el cálculo de la incidencia de egresos hospitalarios por AHA, la incidencia de egresos hospitalarios por AHA en Sonora fue de 1.19 casos/1000 egresos entre los años 2000 a 2005, lo cual corresponde a una incidencia poblacional para los años estudiados de 7.14-9.12/100000 (Valenzuela y col., 2007).

Existe la evidencia tanto en nuestro país como en otras áreas endémicas de amibiasis, que sugieren una distribución geográfica azarosa tanto de la especie *E. histolytica* como de *Entamoeba dispar* (*E. dispar*), así como de variantes genéticas que en el caso de *E. histolytica* pudieran tener diferentes grados de virulencia, ya que el

espectro de la infección humana por *E. histolytica* puede ir desde la infección asintomática transitoria autolimitada, hasta la forma de invasión extra intestinal de órganos como el hígado pasando por las infecciones asintomáticas persistentes (> 2 años), la colitis amibiana y la disentería. El estudio de la distribución geográfica de cepas de *E. histolytica* se ha realizado por medio de estudios de epidemiología molecular (Ramos y col., 2005a; Ramos y col., 2005b) en el estado de Morelos y en Sonora con el objeto de definir los patrones polimórficos de *E. histolytica* y *E. dispar* en ambas entidades, ya que la morbilidad de AHA en ambos estados son totalmente diferentes (3.5 casos de AHA/100000 habitantes en Morelos por 12.57/100000 habitantes en Sonora, 2002).

Dado que una de las grandes incógnitas sobre la amibiasis es el por qué sólo una menor parte de las personas infectadas con *E. histolytica* desarrollan enfermedad. Se ha planteado el estudio de la variabilidad genética no del parásito sino del huésped. En otras áreas endémicas de amibiasis particularmente en Bangladesh (Haque y col., 2006a; 2006b; Dugal y col., 2004), han obtenido datos preliminares sobre la existencia de genotipos asociados a la respuesta inmune tanto innata como adquirida que sugieren la existencia de genotipos resistentes y susceptibles a la infección a *E. histolytica* en población de Bangladesh.

Se han realizado estudios encaminados al análisis del polimorfismo de los genes que codifican para las moléculas del complejo principal de histocompatibilidad (MHC) en población mexicana (Barquera y col., 2008). Estos genes constituyen el sistema genético más polimórfico que existen en el humano (Prugnolle y col., 2005) y su análisis es de gran importancia en estudios sobre la evolución de la diversidad humana, su asociación con enfermedad y en la genética de poblaciones.

El complejo HLA ubicado en el brazo corto del cromosoma 6, a lo largo de 3.6Mb contiene 1200 genes que están divididos en tres clases. Los productos de los genes de la clase I y clase II son los responsables de la presentación de antígenos. El alto grado de polimorfismo de los genes HLA de clase I y II puede ser por la presión genética que

resulta en la necesidad de presentar muchos péptidos diferentes al sistema inmune para combatir eficazmente contra varias enfermedades infecciosas diferentes. El HLA de clase II presenta péptidos procedentes de antígenos exógenos, que penetran en la célula a través de la vía endocítica, tales como antígenos de *E. histolytica* a células T CD4+.

El estudio del polimorfismo de estos genes además permite mapear las frecuencias de haplotipos en poblaciones específicas. De hecho, a pesar de que tales frecuencias difieren significativamente en la población humana, estas diferencias se han visto disminuidas debido al flujo genético constante como consecuencia de eventos de mezcla genética dentro de las diferentes poblaciones.

ANTECEDENTES

Entamoeba histolytica

A mediados del siglo XIX, se reconoció un síndrome clínico con manifestación intestinal aunque su etiología se desconocía. Lambal en Praga (1850) sospechó de la etiología parasitaria al describir el primer caso anecdótico, un niño con disentería en cuya materia fecal demostró la presencia de un protozooario que emitía pseudópodos. Pero hasta 1875, Feder Lösch fue el primero en encontrar amibas en las heces de un agricultor, pero no consideró que éstas fueran la causa de la disentería, sino que mantenían el proceso inflamatorio. El médico ruso Fedor A. Lesh, hizo la descripción microscópica de la amiba patógena obtenida de las heces de un paciente con disentería (Tanyuksel y Petri, 2003).

Koch en 1886, estudió casos de disentería encontrando amibas en las úlceras de la submucosa intestinal y demostró la presencia del parásito en lesiones hepáticas: con estos hallazgos, Esteban Kartulis (1886) realizó autopsias de pacientes que habían fallecido por disentería y observó la presencia de úlceras de colon, descritas por Lösch y Koch. Fritz Schaudinn (1903), diferenció entre *E. histolytica* y *Entamoeba coli* (*E. coli*); nombrándola *histolytica* por ser productora de lisis tisular. Diez años después Walker y Sellards en Filipinas obtuvieron evidencias en personas voluntarias, de que *E. histolytica* es la causa de colitis amebiana y que *E. coli* es un comensal del intestino grueso (Pinilla, Lopez y col., 2008).

En el año de 1925, el parasitólogo francés Emile Brumpt, designó *Entamoeba dispar* (*E. dispar*) al tipo de amiba que infectaba a las personas sin causarles ningún daño y la diferenció de *E. histolytica*, agente causal de la disentería amebiana y otros padecimientos extraintestinales (Clark, 1998). Esta fue criticada duramente por la comunidad científica de la época, pero en la década de 1970 se acumularon pruebas a favor de su teoría. Las amibas aisladas de las personas enfermas se diferenciaban de las de individuos sanos por su capacidad de aglutinación con ciertas lectinas, patrones

isoenzimáticos, diferencias antigénicas y diferencias en el DNA. Esto permitió que la comunidad científica adoptara a *E. dispar* como una especie distinta de *E. histolytica*, lo cual se aceptó por la OMS en 1997 (Ximenez y col., 2007).

E. histolytica es un protozoo que presenta dos formas en su ciclo de vida: la forma infecciosa del parásito son los quistes, estructuras redondeadas de 10 a 16 μm , con una cubierta gruesa constituida principalmente por celulosa y estructurada a base de quitina que le confiere la capacidad de resistir la digestión gástrica y que presenta en su interior 1 a 4 núcleos. La forma invasiva son los trofozoitos, los cuales presentan locomoción gracias a su ectoplasma que les permite formar pseudópodos bien definidos, su diámetro varía de 20 a 40 μm , su núcleo esférico mide entre 4 a 7 μm de diámetro, éste presenta un cariosoma compacto central y cromatina (Figura 1). Los trofozoitos cuentan con la capacidad de fagocitar células sanguíneas, así como bacterias de la flora normal o patógenas (Petri, 2002; Tanyuksel y Petri, 2003; Haque y col., 2003).

Ciclo de Vida

El ciclo de vida inicia con la ingestión de quistes de *E. histolytica* contenidos en agua o alimentos contaminados con heces, los cuales una vez en el estómago son reblandecidos por la acción de los jugos gástricos y pancreáticos, esto permite que en el intestino delgado se lleve a cabo el desenquistamiento, del cual surgen cuatro trofozoitos. Los trofozoitos se multiplican por fisión binaria y gracias a su lectina de unión específica a Gal/GalNAc se adhieren e invaden el epitelio del colon. Si el trofozoito continúa avanzando por el colon, inicia su proceso de enquistamiento para posteriormente ser excretado en las heces y de esta manera preservar el ciclo. El epitelio sufre daño debido a la citotoxicidad amibiana y la de los neutrófilos, esto ocasiona que los trofozoitos invadan la mucosa y submucosa del epitelio y puedan diseminarse a través de circulación portal a hígado, generando así el AHA, el cual por cercanía logra invadir pleura pulmonar (Haque y col., 2003) (Figura 2).

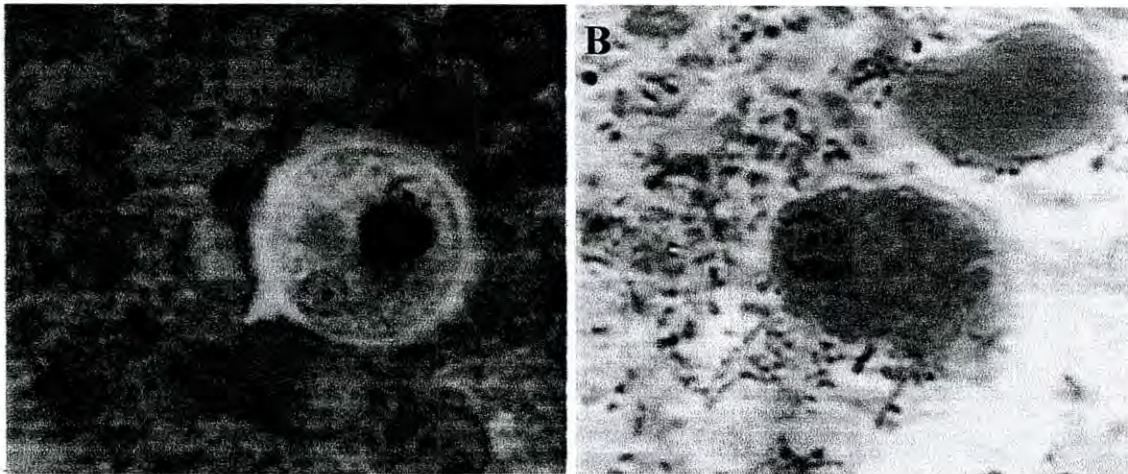


Figura 1. A. Quiste del complejo *E. histolytica*/*E. dispar*, presenta en su interior de 1 a 4 núcleos, cariosoma claramente visible. B. Trofozoito de *E. histolytica* se puede observar su núcleo y cariosoma central.

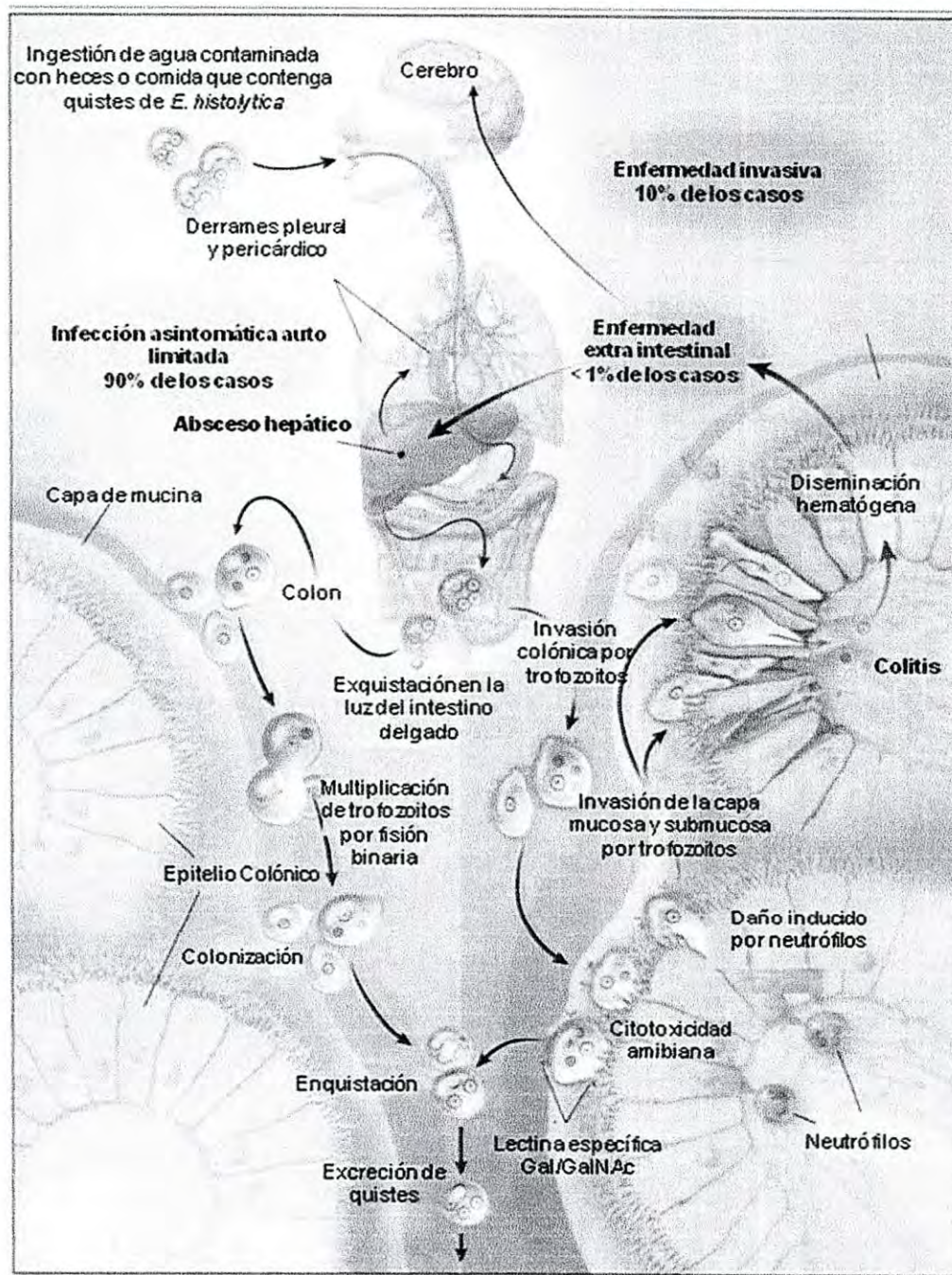


Figura 2. Ciclo de vida de *E. histolytica*. Adaptado de Haque y col., 2003.

Virulencia y Patogenia

La virulencia de *E. histolytica* depende de su capacidad infecciosa e invasiva (Fonte-Galindo, 2000; Gitler y Mirelman, 1986). El parásito se caracteriza por la capacidad que presenta para invadir y destruir los tejidos del hospedero (Willhoeft y col., 1999). Se han descrito diferentes factores de virulencia utilizados por el parásito y la forma en que los trofozoitos invaden con éxito los tejidos del hospedero (Espinoza-Cantellano y col., 2000) mediante una secuencia de eventos en los que participan múltiples factores relacionados tanto con el parásito como con el hospedero (Fonte-Galindo, 2000; Gitler y Mirelman, 1986).

La patogenicidad de los trofozoitos de *E. histolytica* está basada en muchas ocasiones en la capacidad del microorganismo para fagocitar, su resistencia al sistema del complemento y a la expresión de adhesinas, proteasas de cisteínas, amebaporos (proteínas formadoras de poro), colagenasas o fosfolipasas y su actividad citotóxica (Espinoza-Cantellano y col., 2000).

El daño tisular inicia después que el parásito se establece en el lumen del intestino, preferentemente en el íleon terminal. Los trofozoitos migran al intestino grueso, ahí colonizan la mucosa intestinal a través de su mecanismo de adherencia mediado por lectinas, siendo la lectina más extensamente estudiada la específica para determinantes de galactosa y N-acetil galactosamina (Gal/GalNac). Cuando los trofozoitos penetran la mucosa se desarrolla el daño tisular. La invasión de los tejidos epiteliales del hospedero está determinada por la muerte de la célula epitelial, de neutrófilos y linfocitos del hospedero que ocurre después de la adherencia del trofozoito. Además, la secreción de amebaporos contribuye a la muerte celular al producir perforaciones en la membrana celular (Ximenez y col., 2007).

La interacción con la célula hospedera origina una respuesta inflamatoria a través de la activación del factor nuclear κ B (NF κ B) y la secreción de citocinas. Esta respuesta epitelial podría depender de factores de la virulencia de la cepa de *E. histolytica*, como la secreción de proteasas de cisteína que digieren las proteínas de la matriz extracelular.

Este daño no sólo es producido por los productos de secreción amibianos, sino también por los productos liberados por las células inflamatorias, como los leucocitos polimorfonucleares. Los neutrófilos y macrófagos pueden ser protectores cuando son activados por el factor de necrosis tumoral α (TNF- α) o el interferón γ (IFN- γ) que destruye a los trofozoítos (Ximenez y col. 2007).

Manifestaciones Clínicas de la Amibiasis

La amibiasis se define como el desarrollo y reproducción de *E. histolytica* en el hombre. Cuando se habla de infección amibiana se refiere a la presencia del parásito en el hospedero y cuando el parásito provoca lesiones en los tejidos con repercusión clínica (amibiasis invasora), estamos ante la enfermedad amibiana. La amibiasis presenta un amplio espectro de manifestaciones clínicas: el 90% de los casos pueden cursar por un cuadro asintomático; la amebiasis intestinal (alrededor de 10% de los casos), que va desde la colitis amebiana hasta la peritonitis; o las amebiasis extraintestinales, siendo el más común el AHA presente en aproximadamente 1% de los casos (Haque y col., 2003).

La diferencia entre desarrollar o no enfermedad, se debe a la patogenicidad del parásito y a factores del hospedero. Entre estos factores se encuentran la edad, la disentería aguda benigna es más frecuente en niños, mientras que el absceso hepático es más frecuente en adultos entre 20 y 60 años; el absceso hepático se presenta con mayor frecuencia en hombres que en mujeres, manteniéndose una relación 4:1; la desnutrición es otro factor de riesgo para que se presente la amibiasis invasora. Otros factores que pueden favorecer la infección amibiana, son: el origen étnico, el alcoholismo, la infección por otros parásitos y la acción sinérgica de la flora bacteriana intestinal (Sepulveda y col., 1989; Sepulveda, 1996).

Amibiasis Asintomática

Se han propuesto dos hipótesis de por qué la mayoría de las personas infectadas con *E. histolytica* no desarrollan amibiasis invasiva. La primera es que existen cepas

polimórficas del parásito que difieren en su patogenicidad y la segunda que existen factores subyacentes que hacen a un individuo más susceptible a enfermedades (Stanley, 2001). Si bien se ha determinado el polimorfismo de diversos genes que se han analizado de *E. histolytica* y su asociación con virulencia (Haghighi y col., 2002; Haghighi y col., 2003), aún no han sido determinados completamente los factores del hospedero que lo hacen susceptible a la invasión amibiana (Blessmann y col., 2002).

Campos y Jarillo (2005) proponen que la patogenicidad de la amiba depende de la expresión de patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs) que no son debidamente reconocidos por los mecanismos de la inmunidad innata. En concordancia a lo anterior, la resistencia a la infección por *E. histolytica* reside esencialmente en la capacidad de la inmunidad innata del hospedero de reconocer y eliminar al parásito.

Amibiasis Intestinal

La amibiasis intestinal se inicia por una microulceración en las áreas interglandulares, donde hay baja resistencia mecánica, posteriormente la lesión se extiende a la submucosa. Las lesiones pueden confluir originando úlceras de mayor tamaño con necrosis extensa y hemorragia de la mucosa. El infiltrado inflamatorio es prominente y puede ocurrir invasión bacteriana con formación de microabscesos (Nicholls y Alvarez, 2005). Existen 4 tipos de amibiasis intestinal que pueden diferenciarse clínico-patológicamente: la amibiasis aguda disentérica, la colitis fulminante, la apendicitis amibiana y el ameboma.

Amibiasis Hepática

El absceso hepático ocurre por la diseminación a través de la vena porta, a partir de un foco intestinal, sin que en un alto porcentaje de casos, hayan existido antecedentes de disentería amibiana o en el examen coprológico se encontraran parásitos (Nicholls y

Alvarez, 2005). Alrededor de 80% de los pacientes con absceso hepático amibiano tienen síntomas después de dos a cuatro semanas de la infección (Ximenez y col. 2007).

El absceso inicia con infiltrado de neutrófilos que son lisados por los trofozoítos y destruyen a los hepatocitos. Posteriormente disminuye el infiltrado de neutrófilos, aumentan macrófagos y células epiteliales, los que también son lisados por los trofozoítos aumentando la necrosis de hepatocitos. El absceso es una cavidad de varios centímetros, contiene líquido circunscrito por hepatocitos muertos, rodeado por un anillo de tejido conjuntivo, algunas células inflamatorias y trofozoítos (Nicholls y Alvarez, 2005).

La mayoría de los pacientes tienen fiebre y dolor en el hipocondrio derecho, que puede ser sordo o similar a los de origen pleurítico, con irradiación al hombro. Hay dolor en el hipocondrio izquierdo en 5% de los casos y puede ser indicativo de absceso del lóbulo izquierdo. Es frecuente el dolor a la palpación del hígado. El derrame pleural y la ictericia son raros. Si bien el sitio primario de la infección es el colon, menos de un tercio de los pacientes con absceso hepático tiene diarrea activa (Ximenez y col., 2007). Los métodos imagenológicos como la tomografía, ecografía y resonancia magnética, tienen gran utilidad en el diagnóstico de absceso hepático.

Epidemiología de la Amibiasis

La infección por *E. histolytica* tiene una distribución mundial; sin embargo, los países en vías de desarrollo son los más frecuentemente afectados, como los de América Latina, Asia y África. Las zonas con mayor endemia son los países tropicales y subtropicales. La transmisión es por vía fecal-oral, siendo la forma más frecuente la ingestión de los quistes a través de bebidas o alimentos contaminados, siendo el hombre el único hospedero conocido (Ximenez y col. 2007).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que la amibiasis resulta en 100000 muertes/año considerándose como la segunda enfermedad asociada a mortalidad

solo después de la malaria en términos de protozoarios (OMS, 1997). Se considera que 10% de la población mundial está infectada y el 90% son asintomáticos. La prevalencia combinada de la colitis amibiana y el AHA se estima en 40-50 millones de casos anuales en todo el mundo, dando lugar a 40000 a 100000 muertes (Aristizábal y col., 1991; Fotedar y col., 2007). En nuestro país la amibiasis es considerada uno de los problemas de salud pública más importantes. Un estudio seroepidemiológico reportó que 8.41% de la población presenta anticuerpos anti-amibianos, lo que demuestra la elevada frecuencia de infección por este parásito (Caballero y col. 1994).

Durante los años de 1995 al 2006 se estimó en México una tasa de morbilidad de amibiasis intestinal entre 1000 y 5000 casos por cada 100000 habitantes, con pocas variaciones anuales en la distribución por edad y género. Siendo los menores de 15 años de edad los más afectados, principalmente los niños menores de cinco años (Secretaría de Salud, 2000; Ximenez, 2000).

Los datos oficiales de morbilidad por AHA están disponibles hasta el año 2002, cuando dejó de ser una enfermedad de comunicación obligatoria en México. El estado de Sonora es uno de los cinco estados (Colima, Chiapas, Nayarit, Sinaloa y Sonora) cuya tasa de incidencia es mayor a 10 casos por cada 100000 habitantes (2002) (Sonora=12.57 casos/100000 habitantes). Cabe señalar que la incidencia total nacional acumulada para ese mismo año fue de 3.66 casos/100000 habitantes.

Durante el año 2005 se realizó una evaluación de la morbilidad por AHA en el estado de Sonora a través de un estudio retrospectivo (2000-2005) de los egresos hospitalarios y el cálculo de la incidencia de egresos hospitalarios por AHA. La investigación se llevó a cabo en los cuatro principales hospitales generales e infantiles de la entidad. Los resultados obtenidos señalan que la incidencia de egresos hospitalarios por AHA en Sonora fue de 1.19 casos/1000 egresos entre los años 2000 a 2005, lo cual corresponde a una incidencia poblacional para los años estudiados de 7.14-9.12/100000 habitantes. El 75% de los casos correspondieron a habitantes de 5 municipios: Santa Ana, Hermosillo, Ures, Bacanora y Empalme (Valenzuela y col., 2007).

Respuesta Inmune a la Infección por la Amibiasis

Tanto la respuesta inmune innata como adaptativa participan en la respuesta contra *E. histolytica*. La invasión se inicia cuando la amiba destruye la capa de moco e invade el epitelio del colon. Una vez que pasan a través de la barrera de la mucosa, las amibas pueden entrar en circulación portal y llegar a sitios extraintestinales donde pueden causar lesiones (abscesos).

Al detectar la invasión intestinal, el hospedero monta una rápida respuesta inflamatoria. Los neutrófilos son los primeros en llegar y son fundamentales para contener la infección, sin embargo también ocasionan daño al tejido epitelial. En la mayoría de los casos una respuesta inflamatoria es suficiente para controlar al parásito, y la amibiasis no progresa más allá de un cuadro de disentería o diarrea. En los pacientes con colitis amibiana y absceso hepático amibiano el parásito emplea múltiples estrategias que le permiten sobrevivir a la respuesta inmune y establecer una infección crónica. En estos casos, el hospedero desarrolla una respuesta de adaptación defectuosa incapaz de eliminar al parásito (Mortimer y Chadee, 2010) (Figura 3).

Respuesta Inmune Innata

La inmunidad innata se refiere a la primera línea de defensa del hospedero que limita la infección en las primeras horas después de la exposición al microorganismo (Hoffman y col., 1999). Aunque los mecanismos de la inmunidad innata que participan en la eliminación de *E. histolytica* son poco conocidos, algunos resultados muestran que la

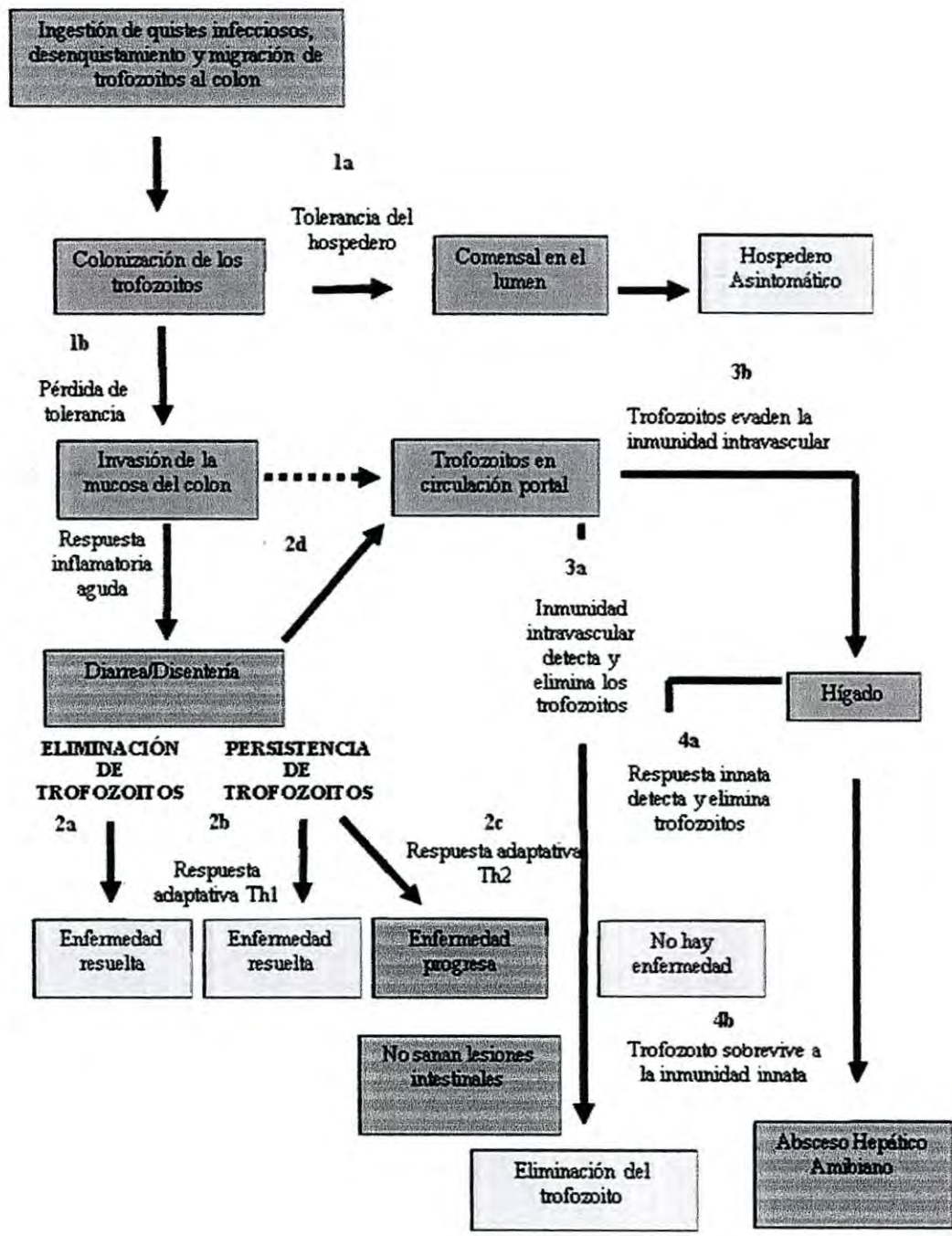


Figura 3. Esquema de la respuesta inmune del hospedero y la patología durante la infección con *E. histolytica*. Adaptado de Mortimer y Chadee, 2010. El esquema muestra la respuesta inmune del hospedero y la patología que puede presentarse durante una infección con *E. histolytica*.

inmunidad innata es suficiente para esto (Campos y Jarillo, 2005). Los mecanismos del sistema inmune innato como el moco y sustancias antimicrobianas pueden proteger de la invasión por el parásito.

Los receptores tipo Toll (TLRs) tienen un papel esencial en el reconocimiento innato de PAMPs y en la activación de la inmunidad innata y adaptativa. Estos receptores activan vías de transcripción de señales que inducen la expresión de una variedad de genes de respuesta inmune que promueven la respuesta inflamatoria, así como el reclutamiento y la activación de los macrófagos, células dendríticas y los linfocitos antígeno-específicos (Medzhitov y Janeway, 2000; Underhill y Ozinsky, 2002; Akira, 2003).

Las moléculas de *E. histolytica* lipofosfoglicano y lipofosfopeptidoglicano vinculados a glicosilfosfatidilinositol pueden comportarse como PAMPs que son reconocidos por TLR2 (Maldonado y col., 2000). Este reconocimiento podría iniciar respuestas innatas/inflamatorias que contribuyen a la invasión y daño al hígado (Quintanar y col., 2004; Olivos y col., 2004; Kammanadiminti y col., 2004) o bien pueden eliminar al parásito (Shibayama y col., 2000), principalmente a través de la activación de macrófagos y la producción de óxido nítrico (Thoma y col., 2001; Means y col., 2001). Las diferencias en el repertorio de TLRs en individuos susceptibles y resistentes pueden provocar diferentes respuestas inmune inflamatoria y adaptativa, lo cual se podría explicar que *E. histolytica* induce la expresión de diferentes receptores tipo Toll en individuos con diferente susceptibilidad (Campos y Jarillo, 2005).

Además, en el sistema inmune innato es de gran importancia el sistema del complemento, que constituye un mecanismo potencialmente importante contra la invasión de *E. histolytica*. Los trofozoitos para invadir con éxito deben de eludir la acción de las proteínas del complemento activado. Las cepas patógenas de *E. histolytica* activan la vía alternativa del complemento, pero parecen ser resistentes a la muerte por el C5b-9 complejo de ataque a la membrana (CAM) (Reed y col., 1986; Reed y Gigli, 1990).

Existen varios mecanismos posibles por los que *E. histolytica* resiste el ataque del complemento y evade la acción de los componentes terminales de la cascada: (a) una lectina que tiene reactividad cruzada con el CD59, una molécula de superficie que protege a las células del ataque de complemento (Braga *col.*, 1992); (b) síntesis de una molécula tipo CD59 (Flores y *col.*, 1994); y (c) la incorporación de proteínas reguladoras del complemento en sus membranas (Gutiérrez y *col.*, 1997).

Por otra parte, la lectina de unión a manosa (MLB) puede unirse a la superficie de la ameba, activar el sistema del complemento y, potencialmente eliminar al parásito. Sin embargo, lipofosfoglicanos y proteofosfoglicanos son abundantes en las cepas patógenas y probablemente forman una capa protectora en la superficie que evita la lisis por las vías alternativas y MLB del complemento durante la invasión de los tejidos, y por lo tanto pueden jugar un papel importante en la patogénesis (Bhattacharya y *col.*, 2000; Moody y *col.*, 1997; Moody y *col.*, 2000).

Respuesta Inmune Adaptativa

El reconocimiento de los microorganismos es fundamental tanto para la iniciación como la regulación de la respuesta inmune antimicrobiana. A través de la secreción de citoquinas, quimiocinas y péptidos antimicrobianos que orquestan la inmunidad innata y adaptativa.

El lipopeptidofosfoglicano (LPPG), una macromolécula compleja de la superficie de los trofozoítos de *E. histolytica* es un PAMP reconocido por los receptores innatos, TLR2 y TLR4 (Maldonado y *col.*, 2005). El LPPG también es reconocido por la respuesta inmune adaptativa. Se han detectado anticuerpos IgG anti-LPPG en ratones y en seres humanos con abscesos hepáticos amebianos (Campos y *col.*, 1986; Prasad y *col.*, 1992) y anticuerpos IgA anti-LPPG en el calostro humano (Acosta y *col.*, 1986). Se ha reportado que los anticuerpos anti-LPPG impidieron el desarrollo del absceso hepático amebiano en un modelo murino (Marinets y *col.*, 1997).

Los macrófagos y células dendríticas, células del sistema inmune innato juegan un papel central en el control de la inflamación (Steinman y col., 2005); sin embargo, estas células también procesan y presentan antígenos a los linfocitos y, por tanto, son necesarias para la iniciación de la respuesta inmune adaptativa (Akira y col., 2001). Las células dendríticas son las células presentadoras de antígeno más eficientes, normalmente se encuentran en los tejidos periféricos, pero durante la inflamación se activan y migran a órganos linfoides secundarios, donde presentan los antígenos a moléculas MHC de clase I o clase II, que, a su vez, activan las células T específicas (Banchereau y Steinman 1998; Banchereau y col., 2000).

Vivanco y col., (2007) demostraron que LPPG induce la producción de citocinas como TNF- α , IL-8 e IL-12 de macrófagos y células dendríticas en humanos. citocinas involucradas en la respuesta inflamatoria que participan en la eliminación del parásito y en el daño tisular que se produce durante el desarrollo del absceso hepático amibiano. TNF- α activa neutrófilos, monocitos, macrófagos y células dendríticas, además incrementa el reclutamiento de estas células al sitio de la inflamación. IL-8 es un agente quimiotáctico de neutrófilos y la IL-12 activa las células NK y NKT, fuentes importantes de IFN- γ una citoquina activadora de macrófagos.

El LPPG puede ser internalizado por los macrófagos y células dendríticas, localizándose en endosomas tardíos. En estos compartimentos intracelulares, la porción de péptido de LPPG podría ser cargado en las moléculas del Complejo Principal de Histocompatibilidad (MHC) que participan en la presentación de antígenos (Vivanco y col., 2007). Estos datos sugieren que el LPPG de *E. histolytica* es responsable de la inducción de la respuesta celular específica contra este parásito.

Complejo Principal de Histocompatibilidad (MHC)

El Complejo principal de histocompatibilidad (MHC), en particular en humanos antígenos leucocitarios (HLA) desempeña un papel central en el reconocimiento y la presentación de antígenos al sistema inmune y representa la agrupación de genes más

polimórficos en el genoma humano (Prugnotte y col., 2005). Localizado en el brazo corto del cromosoma 6 en la región p21.3. Se extiende a lo largo de 3.6 Mb donde se localizan seis genes HLA clásicos y muchos otros con funciones importantes en la regulación del sistema inmunológico y otros procesos celulares fundamentales. El MHC comprende 239 *loci* en total, de los cuales 130 son genes expresados, 17 son genes potenciales, 4 son genes no codificantes y 88 son pseudogenes (Shiina y col., 2004). El MHC en su organización de centrómero a telómero se divide en tres regiones Clase II, Clase III y Clase I.

La región de clase II se extiende en aproximadamente 0.9 Mb y contiene los genes clásicos de clase II, cadenas α y β de *HLA-DP*, *HLA-DQ* y *HLA-DR*, que son expresados principalmente en la superficie de las células presentadoras de antígenos. En la región de clase III, a lo largo de 0.9 Mb, no se han encontrado genes parecidos a los genes HLA clase I ni II, pero contiene genes para factores del complemento *C2*, *C4* y *Bf*, de citocinas *TNF- α* , *LTA* y *LTB*, de proteínas de choque térmico *HSP70-1*, *-2*, *-HOM*, y otros genes sin una función inmunológica obvia. La región de clase I comprende 1.8 Mb y alberga a los genes clásicos de clase I, cadenas α de *HLA-A*, *HLA-B* y *HLA-C*, expresados en la membrana de células nucleadas (Shiina y col., 2004) (Figura 4).

Existen 55 *loci* identificados dentro de la región de clase II con 31 genes expresados, tres posibles genes, un gene no expresado y 20 pseudogenes. Diecinueve de los *loci* son secuencias tipo HLA clase II, incluyendo 15 *loci* HLA clase II clásicos y 4 *loci* HLA clase II no clásicos (Shiina y col., 2004). La región de clase III contiene 62 *loci* con 58 genes expresados, dos posibles genes y dos pseudogenes, esta es una región con una densidad genética muy alta con aproximadamente un gene por cada 14,516 pb. En la región de clase I se encuentran 122 *loci* con 41 genes expresados, 12 posibles genes, 3 genes no codificantes y 66 pseudogenes. Entre éstos, al menos 18 genes son genes tipo HLA clase I, que incluyen tres *loci* HLA clase I clásicos, tres *loci* HLA clase I no clásicos y 12 genes no codificantes o que son pseudogenes (Shiina y col., 2004).

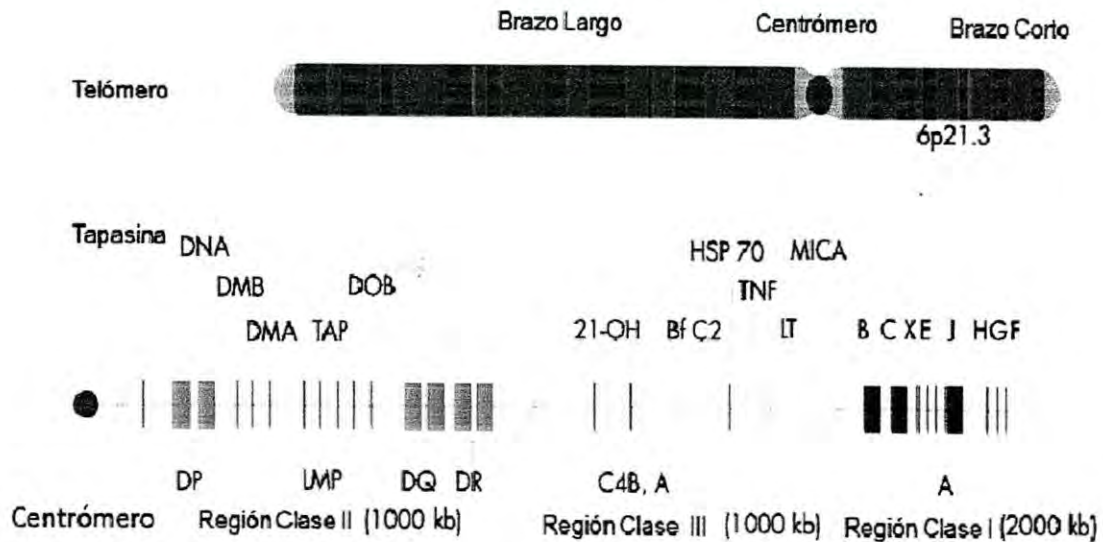


Figura 4. El complejo principal de histocompatibilidad humano (MHC) (Adaptado de Verity y col., 2003). En el brazo corto del cromosoma 6, a lo largo de 3.6Mb, se localizan 239 loci que componen las regiones de MHC clase I, clase III y clase II. Los productos de los genes de HLA clase I y II se encargan de la presentación de antígenos peptídicos a linfocitos T CD8+ y CD4+ respectivamente. También existen genes no HLA encargados de funciones inmunológicas e inflamatorias.

También se encuentran siete genes parecidos a HLA clase I, conocidos como *MHC class I chain related genes (MIC)* implicados en la respuesta inmune innata (Bahram, 2001).

Existen cuatro categorías funcionales de los genes localizados en el MHC: i) procesamiento y presentación de antígenos mediante HLA clase I y II, LMPs y TAP; ii) inmunidad innata, inflamación y regulación de la respuesta inmunológica mediante genes de clase III, iii) interacciones intercelulares a través de receptores de MHC y sus ligandos y, iv) funciones no relacionadas a la inmunidad (Bart, 1998, Kulski y col., 2002).

Moléculas HLA

Las moléculas HLA clase I son heterodímeros compuestos por una glucoproteína transmembranal de 44 kDa codificada en el MHC conocida como cadena pesada o cadena α y una proteína no polimórfica de 12 kDa conocida como β 2-microglobulina codificada en el cromosoma 15, que se une no covalentemente con la porción extracelular de la cadena pesada. Estas moléculas se expresan en prácticamente todas las células nucleadas y restringen el reconocimiento de péptidos antigénicos por las células T CD8+ (Karr, 1998).

Los productos de HLA clase II son heterodímeros compuestos por una cadena α de ~32 kDa y una cadena β de ~28 kDa codificadas en el MHC y forman parte de la superfamilia de las inmunoglobulinas. Estas glucoproteínas transmembranales se encuentran en células presentadoras de antígenos (células dendríticas, macrófagos, linfocitos B) y restringen el reconocimiento de péptidos antigénicos principalmente extracelulares a linfocitos T CD4+ (Karr, 1998).

Presentación de Antígenos Extracelulares

La principal función de las moléculas HLA es facilitar la interacción de fragmentos únicos moleculares en la superficie de las células para su reconocimiento por efectores inmunes como los linfocitos T. Las moléculas HLA clases I y II son glicoproteínas de superficie celular que realizan la unión y reconocimiento, mientras que otros genes que se asignan a estas regiones pueden contribuir a las funciones de procesamiento de antígeno y la presentación en otras formas distintas. La molécula lleva a cabo su importante papel en el reconocimiento inmunológico mediante la unión molecular de los péptidos y la interacción con las células T, a través del receptor de células T (TCR).

Los dímeros de las cadenas $\alpha\beta$ de HLA de clase II se ensamblan en el retículo endoplásmico (RE) como un complejo nonamérico con la cadena invariante (*Ii*), que evita la unión con péptidos endógenos al ocupar el sitio de unión de antígeno en la HLA clase II en compartimentos pre-lisomales. Este complejo viaja a través del complejo de Golgi hasta llegar a la vesícula del compartimento de MHC clase II (MIIC), donde *Ii* es sometida a proteólisis. El producto final de escisión, es un péptido conocido como péptido *Ii* asociado a clase II (CLIP) que ocupa la ranura de unión de péptido y el cual es liberado antes de cargar péptidos de alta afinidad, una reacción de intercambio que es catalizada por la molécula chaperona HLA-DM facilitando la entrada del péptido antigénico para ser presentado por la molécula de HLA de clase II. HLA-DO, que se expresa por las células B, células epiteliales del timo y ciertos subconjuntos de células dendríticas, puede unirse a HLA-DM e inhibir el intercambio de péptido. El gen que codifica la proteína HLA-DM se encuentra ubicado en la región II del MHC. Una vez que el péptido se ha unido a la molécula de clase II ésta se estabiliza y puede ser presentada en la membrana celular. Finalmente en la membrana los complejos peptido-HLA clase II son presentados a los linfocitos T CD4+ (Sita, 2003).

Polimorfismos en los Genes del HLA

La importancia del HLA en la respuesta inmune se refleja también en su polimorfismo genético, que es la existencia de múltiples variantes alélicas de un gen, provocando la presencia de variantes genéticas diferentes en una población. Por el alto grado de polimorfismo dentro del complejo y por el gran número de genes dentro de él, el HLA es el complejo más poligénico polimórfico que se conoce (Prugnolle y col., 2005).

El análisis del polimorfismo de HLA muestra que los exones que codifican el dominio α -3 de la clase I y los dominios α -2 y β -2 de las moléculas de la clase II parecen sufrir una selección fuerte contra los cambios de codones, manteniendo estas partes de las moléculas relativamente constantes. Por el contrario, los exones que codifican los dominios α -1 y α -2 de la clase I y los dominios α -1 y β -1 de las moléculas de clase II contienen un grado excepcionalmente alto de cambios de codón que se concentran precisamente en las zonas que codifican los aminoácidos que interaccionan directamente con el péptido y/o el TCR (Hughes y Yeager, 1998; Yeager y Hughes, 1999). Estos aminoácidos determinan la estereoquímica de las estructuras en el sitio de unión de péptido conocidas como “*pockets*”, así como de las regiones de contacto TCR-HLA.

Son diversos los efectos de aquellos polimorfismos que dan lugar a un nuevo alelo de HLA: (i) se puede alterar directamente el contacto con el TCR, (ii) puede unir un nuevo espectro de péptidos, (iii) puede unir el mismo péptido pero en conformación diferente. Una diferencia en la naturaleza y conformación de los péptidos enlazados o en el acoplamiento al TCR afectará el repertorio de células T (Grande y Bevan, 1992; Nikolic' y Bevan, 1990; Dyll y col., 1996; Dyll y col., 2000).

Los genes que codifican las moléculas HLA clase I y II son altamente polimórficos. Hasta Junio de 2012 se reportan un total de 7,527 alelos HLA, de los cuales 5580 son HLA clase I subdividiéndose de la siguiente manera: 1884 *HLA-A*, 2490 *HLA-B*, 1384 *HLA-C*, 11 *HLA-E*, 22 *HLA-F*, 49 *HLA-G*, además, 40 pseudogenes, para HLA de clase II se han reportado 1647 alelos, 7 *HLA-DRA*, 1194 *HLA-DRB*, 47 *HLA-DQA1*, 165 *HLA-DQB1*, 34 *HLA-DPA1*, 155 *HLA-DPBI*, 7 *HLA-DMA*, 13 *HLA-DMB*, 12 *HLA-*

DOA y 13 *HLA-DOB*. También se han reportado otros alelos no HLA, entre los que se encuentran 84 alelos *MICA*, 35 *MICB*, 12 *TPA1* y 12 *TAP2* (Anthony Nolan, 2012; <http://www.ebi.ac.uk/imgt/hla/stats.html>).

Métodos de Estudio del polimorfismo de HLA

La tipificación de los alelos HLA consiste en determinar cuáles de todas las variantes conocidas para un locus están presentes en un individuo. Hasta hace algunos años la tipificación se realizaba con técnicas serológicas, en las que se detectan los antígenos presentes en la membrana de los linfocitos, como son la microlinfotoxicidad celular mediada por anticuerpos a través de la reacción de un antisuero contra las moléculas presentes en la superficie celular (Terasaki y col., 1964), o por medio de cultivo mixto de linfocitos, en el cual las especificidades HLA se definen por las células con un fenotipo conocido. Los linfocitos T se utilizan para la tipificación de antígenos HLA-A, HLA-B y HLA-C y los linfocitos B se utilizan para antígenos HLA-DR y HLA-DQ. No hay antisueros específicos para tipificar antígenos HLA-DP por este método (Fernandes y col., 2003).

En la actualidad la tipificación se realiza mediante técnicas de biología molecular, estudiando los genes de los individuos. Estos métodos son mucho más específicos que los serológicos y permite diferenciar alelos que serológicamente no se podían distinguir. La tipificación por biología molecular de los genes HLA puede realizarse tanto con baja resolución de manera que se puedan diferenciar los mismos alelos que a nivel serológico, como con alta resolución, donde se define a nivel alélico cada *loci* estudiado.

Después de extraer el DNA de las células, se amplifica por medio de reacción en cadena de la polimerasa. De esta manera, la tipificación de los alelos HLA puede realizarse principalmente por SSP (Primers de Secuencia Específica) donde se utilizan iniciadores con secuencias específicas, capaces de detectar un alelo o un grupo de alelos. O bien por SSOP (Sondas con Oligonucleótidos de Secuencia Específica) que utiliza sondas de oligonucleótidos con secuencias específicas, destinadas para el

reconocimiento de uno o algunos de los alelos de un cierto grupo (Donadi, 2000; Fernandes y col., 2003).

Asociación de Polimorfismos con Susceptibilidad a Enfermedades

Se considera que hay una asociación con una enfermedad o una infección si la frecuencia de uno o más alelos está incrementada (asociación positiva) o disminuida (asociación negativa) de forma significativa cuando se compara un grupo de pacientes contra un grupo de control apropiado. Existen evidencias de que el polimorfismo en HLA se mantiene por selección positiva relacionada a su función inmunológica. Esta selección puede mantener linajes alélicos por periodos de tiempo más largos de lo que se espera y ciertas variedades pueden asociarse a enfermedades (Partida, 2011).

El agente infeccioso mismo puede ser capaz de causar diferentes respuestas inmunes en diferentes individuos infectados. El sistema HLA es uno de los principales mecanismos responsable de las variadas formas clínicas de algunas enfermedades infecciosas (Marcos y col., 2000). Lo anterior se debe al polimorfismo de las moléculas HLA que participan en la respuesta inmune, jugando un papel importante en la resistencia o susceptibilidad a enfermedades infecciosas (Singh y col., 1997).

La susceptibilidad a una enfermedad infecciosa puede deberse a imperfecciones del sistema HLA. Una persona que tiene una cierta combinación de alelos HLA que no unen de manera adecuada el péptido, o sus complejos HLA-péptido no provocan una respuesta adecuada por parte de los linfocitos, serán más susceptibles a la invasión del agente infeccioso que una persona que no tiene estas deficiencias (Klein y Sato, 2000). En pacientes en los que el HLA brinda resistencia, estos genes probablemente, seleccionan y estimulan a las células T que se multiplican y eliminan al agente invasor, a través de la producción de citocinas inflamatorias o por la destrucción de las células infectadas (Mack y col., 1999).

Los alelos del sistema HLA varían en poblaciones étnicamente diferentes. Algunos estudios sugieren que los alelos que confieren resistencia a ciertos agentes patógenos son frecuentes en las zonas donde se producen las enfermedades endémicas (Alves y col., 2006). Además, se produce mayor resistencia a las enfermedades infecciosas en individuos heterocigotos para los alelos HLA específicos, dado que cuentan con un espectro más amplio de péptidos a presentar a los linfocitos T (Klein y Sato, 2000; Carrington y col., 2000). Estos alelos también varían de una a otra enfermedad, debido a las diferencias en su patogénesis (Singh y col., 1997).

Los genes de HLA de clase I y clase II han sido previamente asociados con más de 100 enfermedades (Dawkins y col., 1999; Tiwari y Terasaki, 1985; Thorsby, 1997; Lechler y Warrens, 2000; Hall y Bowness, 1996). Sin embargo, los mecanismos moleculares para la mayoría de las asociaciones de enfermedades son poco conocidos o desconocidos, a pesar de que se han propuesto y examinado una serie de hipótesis para diversas enfermedades (Lechler y Warrens 2000; Hall y Bowness, 1996; Polansky, 2003). Las clases de enfermedades asociadas con la región HLA son las inmunológicas, cardiovasculares, neurodegenerativas, psiquiátricas, metabólicas, enfermedades infecciosas, dermatológicas y oncológicas (Shiina y col., 2004).

HLA y Amibiasis

La asociación entre las enfermedades parasitarias y el sistema HLA no ha sido ampliamente estudiada, una de las grandes incógnitas sobre la amibiasis es el por qué sólo una menor parte de las personas infectadas con *E. histolytica* desarrollan enfermedad. Haque y col., (2006a; 2006b) establecieron la hipótesis de que los alelos HLA clase II podrían influir en la susceptibilidad a la amibiasis intestinal, ya que encontraron asociación de las respuestas de anticuerpos sistémicos y de las mucosas con infección y la enfermedad amibiana en una cohorte de niños infectados con *E. histolytica*. Las diferencias entre la infección asintomática y la enfermedad sugería la participación de factores de riesgo del huésped que podrían ser influenciados por el

HLA. Es posible que la presencia o ausencia de un determinado alelo o haplotipo de HLA de clase II podrían alterar la respuesta a una infección por cambiar el repertorio de proteínas se presentan a células T CD4+, traduciendo en diversos efectos como: (i) alterar directamente el contacto con el TCR, (ii) unir un nuevo espectro de péptidos, (iii) unir el mismo péptido pero en conformación diferente. Una diferencia en la naturaleza y conformación de los péptidos enlazados o en el acoplamiento al TCR afectará el repertorio de células T (Grande y Bevan, 1992; Nikolic' y Bevan, 1990; Dyal y col., 1996; Dyal y col., 2000).

Arellano y col., en 1987 en un estudio preliminar que incluyó 31 pacientes con AHA, encontró un aumento significativo de HLA-B16 y HLA-DR3 en adultos mestizos mexicanos con absceso amebiano del hígado en comparación con los controles sanos de la misma etnia. Como el número de muestra era pequeño, Arellano y col., (1991) decidieron ampliar el estudio a 110 adultos mestizos mexicanos con AHA. En este nuevo trabajo, el aumento de HLA-B16 no se mantuvo, pero si el aumento significativo de HLA-DR3 incluyendo su haplotipo A2-DR3. Por lo tanto, el alelo HLA-DR3, al menos en mestizos mexicanos del centro del país, podía codificar un factor de riesgo del huésped para el desarrollo de AHA. La participación del alelo HLA-DR3 como factor predisponente para contraer AHA fue comprobada al presentarse en aumento en niños mestizos mexicanos de ambos sexos con AHA, en comparación con la población control sana de los mismos antecedentes étnicos y socioeconómicos. Por lo tanto, HLA-DR3 puede constituir factores de riesgo primarios para el absceso hepático amebiano, independientemente de la edad o el sexo (Arellano y col., 1996).

En otras áreas endémicas de amibiasis particularmente en Bangladesh, Duggal y col., (2004), analizaron mediante técnicas moleculares variantes en los genes que codifican para moléculas de clase II del HLA (DQB1 y DRB1), obteniendo datos preliminares sobre la existencia de alelos asociados a la respuesta inmune adquirida, estableciendo una asociación protectora entre el alelo DQB1-0601 y la infección por *E. histolytica*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño del Estudio

El diseño del presente trabajo consistió en un estudio transversal descriptivo, en el cual se analizaron los alelos y haplotipos del HLA-DQB1, HLA-DRB1 de pacientes que ingresaron al Hospital General del Estado de Sonora Dr. Ernesto Ramos Bours y al Hospital Infantil del Estado de Sonora, con síntomas característicos al absceso hepático amibiano y de personas sanas (controles). El muestreo en el presente trabajo, fue no probabilístico por conveniencia.

Sujetos de estudio

Para analizar los polimorfismos de los genes asociados a la respuesta inmune adquirida (*HLA-DQB1* y *HLA-DRB1*) y establecer su asociación con susceptibilidad o resistencia al AHA, los sujetos de estudio se reclutaron a partir de pacientes que acudían a la consulta externa y urgencias del Hospital General del Estado de Sonora, Dr. Ernesto Ramos Bours y del Hospital Infantil del Estado de Sonora. La participación de los pacientes fue voluntaria, para ello se les informó el propósito del estudio, el tipo de muestras requeridas, la frecuencia de la toma y los posibles riesgos de cada procedimiento. Cada voluntario que accedió a participar debió firmar la carta de consentimiento informado en el caso de adultos. Cuando se trató de menores de edad, la decisión de participar fue de los padres, tutores o responsables legales del menor.

Los criterios de inclusión fueron los siguientes: 1) individuos adultos o niños con diagnóstico clínico de absceso hepático amibiano confirmado por sonografía o tomografía abdominal coincidente con la presencia de niveles altos de anticuerpos séricos antiamebianos detectados por la técnica de ELISA ($DO > 0.525$) (Morán y col., 2007), 2) ser nativos del estado al menos durante las dos generaciones anteriores y 3) firmar la carta de consentimiento informado.

Los criterios de exclusión fueron: 1) pacientes con absceso hepático piógeno, cáncer hepático primario o metastático. 2) pacientes cuyo ELISA para detección de anticuerpos anti-amibianos muestre niveles de anticuerpos por debajo de la línea de corte ($DO < 0.525$) validada en población mexicana (Morán y col., 2007) y 3) relación de parentesco con algún participante previo.

Los pacientes fueron contrastados con un grupo control que consistió en individuos no parasitados, con al menos dos generaciones anteriores nacidas en el estado de Sonora, sin infección por *E. histolytica* ni síntomas de enfermedades amibianas, con títulos de anticuerpos IgG por debajo de la línea de corte ($DO < 0.525$) y sin relación de parentesco entre sí. Los individuos fueron voluntarios y se reclutaron en la Universidad de Sonora.

Material Biológico

De cada individuo se obtuvieron de 3 a 5 mL de sangre periférica en presencia de EDTA como anticoagulante y sin anticoagulante. Mediante centrifugación se separó el paquete leucocitario para la extracción del DNA por medio de una técnica de *salting out* (Miller y col., 1988) y a partir del suero se llevó a cabo la determinación de anticuerpos IgG contra *E. histolytica* por medio de la técnica de ELISA (Morán y col., 2007).

Determinación de anticuerpos contra *E. histolytica*

La determinación de anticuerpos IgG contra *E. histolytica* se realizó mediante una técnica de ELISA validada en población mexicana (Morán y col., 2007). El procedimiento del ELISA consta de un antígeno rico en membranas, preparado a partir de trofozoitos de *E. histolytica* HM1:IMSS, con el cual se sensibilizan placas de microtitulación de 96 pozos (Costar, Cambridge, MA) (100 ng de antígeno en 50 μ L de "buffer" de carbonato 0.01 M, a pH 9.6 por pozo). Las placas se secan a temperatura ambiente hasta su uso para la detección de anticuerpos. Para ello, se hidratan las placas

con "buffer" salino de fosfatos 0.2 M a pH 7.2 que contiene 0.5% de Tween 20 (Sigma Chemical Co., St Louis, Mo.) y 0.5% de albúmina sérica bovina (PBS-BSA-Tw). Los pozos fueron bloqueados con PBS que contenía albúmina de suero bovino al 3%. Se incubaron a 4°C una hora, tras lo cual los pozos se lavaron una vez con PBS-BSA-Tw, dos veces con PBS-Tw y luego se incubaron con 50 µL del suero muestra en una dilución 1:1000. Las placas se incubaron durante cuarenta y cinco minutos a temperatura ambiente con agitación suave y se lavaron como se describe arriba. La reacción antígeno anticuerpo se detectó mediante la incubación en presencia de anti-IgG humana (cadena γ) conjugada con peroxidasa (Zymed Laboratories, San Francisco, CA) diluida 1:1000 en PBS-BSA-Tw. Se añadieron 50 µL/pozo y se incubaron durante cuarenta y cinco minutos a temperatura ambiente. Posteriormente las placas fueron lavadas como se describió anteriormente. Para llevar a cabo el revelado de la reacción, se añadieron 50 µL de solución de sustrato [10 ml de "buffer" de citrato 0.1 M pH 4.5 con 10 µg *o*-fenilendiamina (Sigma Chemical Co., St Louis, MO) y 4 µL de H₂O₂ al 30%. A cada pozo se le agregaron 200 µL de solución de H₂SO₄ 1M para detener la reacción después de 3 minutos de incubación. Las placas se leyeron a 490 nm en un lector de micro-ELISA (Biokinetic Reader-Biotek Instruments). Se incluyeron controles seronegativos y seropositivos en cada placa y los valores mayores a 0.525 de densidad óptica (DO) en el ELISA fueron considerados como seropositivos de acuerdo a Morán y col., (2007).

Extracción de DNA

A partir del anillo leucocitario se extrajo el DNA utilizando una técnica de *salting out* (Miller y col., 1988). En breve: para lisar los eritrocitos, el anillo leucocitario se resuspendió en una solución amortiguadora con sacarosa 0.3 M, Tris-HCl 10mM, MgCl₂ 5 mM y Triton 100x 1.0 %. Mientras que los leucocitos se lisaron con un buffer de NaCl 0.075M y EDTA 0.024M. El DNA se separó de las proteínas con SDS 20%, NaClO₄ 5M y NaCl 5M. Se precipitó con isopropanol a - 20°C. Después de 12 horas a - 20°C fue lavado con etanol al 70% a la misma temperatura y se disolvió el DNA en agua

bidestilada. El DNA fue cuantificado por espectrofotometría y se evaluó su integridad mediante electroforesis en gel de agarosa al 1%, con TBE.

Tipificación del *HLA-DQB1* y *HLA-DRB1*

La tipificación del HLA de clase II de los participantes se realizó en los laboratorios de las instalaciones del Departamento de Transplantes del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, y del Departamento de Medicina Experimental, Facultad de Medicina, UNAM.

La tipificación del *HLA-DQB1* y *HLA-DRB1* se realizó usando los iniciadores específicos para tales secuencias, mediante la técnica de PCR-SSO (Bugawan y Herlich 1991; Scharf y col., 1991) por medio de tipificación LIFECODES HLA-SSO para ser utilizado con el equipo Luminex Instrument.

El procedimiento de tipificación de LIFECODES HLA-SSO se basa en la hibridación con sondas SSO del DNA monocatenario marcado obtenido por PCR. En la amplificación del DNA por PCR se emplean cantidades equimolares del cebador directo y del inverso para generar un DNA bicatenario, pero si un cebador es más abundante que el otro, además de producto bicatenario, la reacción genera algo de DNA monocatenario. Durante los ciclos iniciales de la etapa de amplificación con LIFECODES se genera DNA bicatenario. Una vez agotado el cebador limitante, el cebador restante utiliza el producto bicatenario como molde para generar DNA monocatenario. Este método genera tanto productos bicatenarios como monocatenarios que, una vez desnaturalizados, participarán en la reacción de hibridación.

Cada una de las distintas sondas puede ser homóloga de una secuencia del DNA amplificado exclusiva de un alelo o grupo de alelos. Dicho de otro modo, estas sondas se han creado para que cada una de ellas hibride preferentemente con una región complementaria que puede estar presente o no en el DNA amplificado. Además, el DNA amplificado hibrida también con una o más sondas de consenso homólogas a secuencias

presentes en todos los alelos de un locus. La tipificación con SSO puede verse afectada por el tipo de material biológico, el método de purificación y la cantidad e integridad del DNA genómico. Por consiguiente, la señal obtenida con la(s) sonda(s) de consenso puede servir de indicador del éxito de la amplificación e hibridación. Puede utilizarse, asimismo, para normalizar la señal de las sondas alelo específicas y efectuar los ajustes necesarios según las variaciones de la cantidad de producto amplificado en la reacción de hibridación. El análisis de los resultados de la tipificación con SSO puede aplicarse para determinar la presencia o ausencia de secuencias concretas de DNA en el producto amplificado y para identificar los posibles alelos en la muestra.

En la tipificación por el procedimiento LIFECODES HLA-SSO se unen las sondas a microesferas Luminex ideadas para utilizarse con el Luminex Instrument. Se pueden mezclar hasta 100 poblaciones diferentes de microesferas Luminex y analizarlas en el Luminex Instrument porque cada una de ellas se distingue por su firma o color de fluorescencia característico. A cada microesfera de color puede unirse una sonda SSO distinta. Por consiguiente, en una mezcla compuesta por varias sondas es posible distinguir unas de otras por su unión a microesferas de un color determinado. El Luminex Instrument también mide las cantidades relativas de producto de PCR marcado que hibrida con cada microesfera Luminex. Por consiguiente, al igual que ocurre con otros métodos SSOP, la señal relativa obtenida con las sondas SSO en el ensayo LIFECODES puede utilizarse para asignar a las sondas una reactividad positiva o negativa con la muestra de ADN amplificado. Esto, a su vez, ofrece la información necesaria para determinar el genotipo HLA de la muestra.

Análisis Estadístico

Para el análisis estadístico, se compararon las frecuencias alélicas, haplotípicas y genotípicas de la población en estudio con el grupo control. Las diferencias fueron evaluadas estadísticamente mediante la prueba de χ^2 y la prueba exacta de Fisher (Matthews y Farewell, 1985) con tablas de contingencia de 2x2 usando el programa

estadístico Epi Info (TM) 3.5.3 [Centers for Disease Control and Prevention (CDC)] tomando en cuenta un índice de confianza del 95% para estimar el riesgo (Matthews y Farewell, 1985). De esta manera se determinó el valor de la (p), y se consideró como significativo un valor de $p \leq 0.05$. La magnitud de la asociación se calculó usando la razón de momios (RM) y los intervalos de confianza del 95% fueron calculados. En las celdas con valor de cero, las razones de momios fueron estimadas con la prueba de Haldane. Finalmente, se calcularon las razones de momios para cada genotipo usando el genotipo homocigoto más frecuente de cada polimorfismo como referencia.

RESULTADOS

Individuos de Estudio

Se estudiaron 30 individuos (60 alelos) con diagnóstico clínico de AHA coincidente con la presencia de niveles altos de anticuerpos séricos anti-amibianos detectados por la técnica de ELISA ($DO > 0.525$), el grupo se conformó de 22 hombres y 8 mujeres comprendidos con edades entre 3 a 33.63 años (DS: 15.28), 25 de ellos procedentes del Hospital General del Estado de Sonora y 5 del Hospital Infantil del Estado de Sonora. Las frecuencias de los polimorfismos de *HLA-DQB1* y *HLA-DRB1* de los pacientes fueron comparadas con las obtenidas en un grupo control de 61 individuos (122 alelos), 31 hombres y 30 mujeres con edad entre 21.85 años (DS: 0.83) clínicamente sanos, sin infección por *E. histolytica* ni síntomas de enfermedades amebianas, y sin relación de parentesco entre sí (Tabla I).

Frecuencia Alélicas de *HLA-DRB1* y *HLA-DQB1* en la Población Estudiada

Al analizar los grupos de estudio como una sola población se encontró que al tipificar los alelos de los *loci* DRB1 el alelo más representado en la población estudiada era el DRB1*04 con un 18.6%, en el *loci* DQB1 el alelo que represento una mayor frecuencia alelo fue el DQB1*03 (41.7%) (Tabla II).

Frecuencias Alélicas de *HLA-DQB1*

Al tipificar los alelos del *loci* DQB1 se obtuvieron 5 variantes, resultando el alelo DQB1*03 (46.7%) el más representado en el grupo de pacientes de AHA (Tabla III). Las frecuencias alélicas encontradas en el grupo de AHA se contrastaron estadísticamente con las del grupo de controles. Se observó una reducción de la frecuencia del alelo DQB1*02 en los pacientes con AHA (15.0%), con respecto al control (26.7%) ($p=0.078$). El resto de los alelos fueron similares entre ambos grupos.

Tabla I. Características de los grupos de estudio.

Grupo de estudio	Pacientes estudiados n	Edad promedio años (DS)	Género M/F	Serología anticuerpos <i>IgG</i>	Procedencia
Controles	61	21.85 (0.83)	31/30	DO <0.525	UNISON
AHA	30	33.63 (15.28)	22/8	DO >0.525	25 HGES / 5 HIES

AHA. Absceso hepático amibiano; HGES. Hospital General del Estado de Sonora; HIES. Hospital Infantil del Estado de Sonora; DS. Desviación estándar.

Tabla II. Frecuencia de alelos HLA-DRB1 y HLA-DQB1 en la población estudiada.

ALELO	N = 182 %	ALELO	N= 182 %
DRB1*04	18.6	DQB1*03	41.7
DRB1*07	12.0	DQB1*02	22.5
DRB1*01	11.5	DQB1*04	10.9
DRB1*08	11.5	DQB1*06	10.9
DRB1*14	8.8	DQB1*05	12.6
DRB1*11	8.2		
DRB1*13	8.2		
DRB1*15	7.7		
DRB1*03	6.0		
DRB1*16	4.9		
DRB1*10	1.1		
DRB1*12	1.1		

Tabla III. Frecuencias alélicas de *HLA-DQB1* en pacientes con AHA de Sonora.

ALELO	AHA n = 60 n (%)	Control n = 122 n (%)	<i>p</i>	RM (IC95%)
DQB1*03	28 (46.7)	48 (40.0)	0.393	1.31 (0.67 - 2.57)
DQB1*02	9 (15.0)	32 (26.7)	0.078	0.49 (0.20 - 1.17)
DQB1*04	8 (13.3)	12 (10.0)	0.502	1.38 (0.48 - 3.92)
DQB1*06	8 (13.3)	12 (10.0)	0.502	1.38 (0.48 - 3.92)
DQB1*05	7 (11.7)	16 (13.3)	0.752	0.86 (0.30 - 2.40)

AHA. Absceso hepático amibiano; **n.** número de alelos; (%). frecuencia alélica expresada en porcentaje; **p.** significancia estadística; **RM.** razón de momios; IC95%. Índice de confianza del 95%

Frecuencias Alélicas de *HLA-DRB1*

El *loci HLA-DRB1* muestra un mayor grado de polimorfismo. Al realizar la tipificación de las variantes alélicas de *HLA-DRB1* se observaron 12 diferentes alelos (Tabla IV). Se calcularon las frecuencias alélicas y se observó que los alelos DRB1*04 (23.3%), DRB1*01 (15.0%) y DRB1*08 (13.3%) se presentan con mayor frecuencia en el grupo de AHA. Cuando se compararon las frecuencias alélicas de los pacientes con AHA respecto al grupo control, los resultados no revelan diferencias con significancia estadística.

Frecuencias de Haplotipos *HLA-DQB1 – HLA-DRB1*

Los haplotipos conformados por los alelos de *HLA-DQB1* y *HLA-DRB1* fueron inferidos con base en las frecuencias haplotípicas reportadas en poblaciones mexicanas (Vargas-Alarcón y col., 2010) (Tabla V). Los haplotipos más comunes en pacientes con AHA fueron el 03-04 (20.0%), el 02-07 y el 04-08 (ambos con 10.0%). Cuando se compararon las frecuencias haplotípicas entre el grupo de AHA y el control, se observó la ausencia del haplotipo 02-03 en el grupo de pacientes, mientras que en los controles está representado con un 9.2%. Al analizarlo estadísticamente, el valor de p estuvo muy cerca de la significancia ($p=0.06$). En el resto de haplotipos no se encontraron diferencias en sus frecuencias.

Frecuencia de Genotipos de *HLA-DQB1*

Se analizó el polimorfismo de HLA de clase II con fundamento en los genotipos. Cada individuo tiene dos copias del gene, las cuales pueden ser de un mismo alelo (genotipo homocigoto) o cada una de un alelo diferente (genotipo heterocigoto). De tal forma, se estimaron las frecuencias de cada genotipo encontrado. En el caso de *HLA-DQB1* se observaron 15 genotipos diferentes, resultando ser los genotipos DQB1*03/03 (23.3%).

Tabla IV. Frecuencias alélicas de *HLA-DRB1* en pacientes con AHA de Sonora.

ALELO	AHA n = 60 n (%)	Control n = 122 n (%)	<i>p</i>	RM (IC95%)
DRB1*04	14 (23.3)	20 (16.4)	0.258	1.55 (0.67 – 3.56)
DRB1*01	9 (15.0)	12 (9.8)	0.305	1.16 (0.58 – 4.45)
DRB1*08	8 (13.3)	13 (10.6)	0.595	1.29 (0.46 – 3.60)
DRB1*14	7 (11.7)	9 (7.4)	0.336	1.66 (0.52 – 5.20)
DRB1*07	6 (10.0)	16 (13.1)	0.544	0.74 (0.24 – 2.15)
DRB1*11	5 (8.3)	10 (8.2)	1.000	1.02 (0.29 – 3.45)
DRB1*15	5 (8.3)	9 (7.4)	0.776	1.11 (0.31 – 3.97)
DRB1*13	4 (6.7)	11 (9.0)	0.776	0.72 (0.18 – 2.60)
DRB1*16	2 (3.3)	7 (5.7)	0.719	0.57 (0.08 – 3.11)
DRB1*03	0 (0.0)	11 (9.0)	0.107	0.17 (0.01 – 1.33)
DRB1*10	0 (0.0)	2 (1.6)	1.000	0.00 (0.00 – 8.38)
DRB1*12	0 (0.0)	2 (1.6)	1.000	0.00 (0.00 – 8.38)

AHA. Absceso hepático amibiano; **n.** número de alelos; **(%)**, frecuencia alélica expresada en porcentaje; ***p***, significancia estadística; **RM**, razón de momios; **IC95%**, Índice de confianza del 95%

Tabla V. Frecuencias haplotípicas *DQB1-DRB1* en pacientes con AHA de Sonora.

HAPLOTIPO DQB1-DRB1	AHA n = 60	Control n = 120	<i>p</i>	RM (IC95%)
	n (%)	n (%)		
02-01	1 (1.7)	1 (0.8)	1.00	2.02 (0.0-75.57)
02-03	0 (0.0)	11 (9.2)	0.06	*0.17 (0.01-1.31)
02-07	6 (10.0)	16 (13.3)	0.51	0.72 (0.24-2.12)
02-11	0 (0.00)	1 (0.8)	1.00	0.00 (0.00-35.10)
02-13	2 (3.3)	3 (2.5)	1.00	1.34 (0.15-10.25)
03-01	3 (5.0)	3 (2.5)	0.40	2.05 (0.32-13.24)
03-04	12 (20.0)	19 (15.8)	0.48	1.33 (0.55-3.17)
03-08	2 (3.3)	2 (1.7)	0.60	2.03 (0.20-20.84)
03-11	4 (6.7)	9 (7.5)	1.00	0.88 (0.22-3.32)
03-12	0 (0.0)	2 (1.7)	0.55	0.00 (0.00-8.24)
03-13	0 (0.0)	2 (1.7)	0.55	0.00 (0.00-8.24)
03-14	5 (8.3)	6 (5.0)	0.51	1.73 (0.43-6.76)
03-16	2 (3.3)	5 (4.2)	1.00	0.79 (0.10-4.81)
04-04	2 (3.3)	1 (0.8)	0.25	4.10 (0.28-116.83)
04-08	6 (10.0)	11 (9.2)	0.13	1.98 (0.72-5.43)
05-01	5 (8.3)	8 (6.7)	0.76	1.27 (0.34-4.56)
05-10	0 (0.0)	2 (1.7)	0.55	0.00 (0.00-8.24)
05-13	0 (0.0)	1 (0.8)	1.00	0.00 (0.00-35.10)
05-14	1 (1.7)	3 (2.5)	1.00	0.66 (0.03-7.35)
05-15	1 (1.7)	0 (0.0)	1.00	*2.02 (0.00-75.27)
05-16	0 (0.0)	2 (1.7)	0.55	0.00 (0.00-8.24)
06-11	1 (1.7)	0 (0.0)	1.00	2.02 (0.00-75.27)
06-13	2 (3.3)	3 (2.5)	1.00	1.34 (0.15-10.25)
06-14	1 (1.7)	0 (0.0)	1.00	2.02 (0.00-75.27)
06-15	4 (6.7)	9 (7.5)	1.00	0.88 (0.22-3.32)

AHA. Absceso hepático amibiano; **n.** número de alelos; (%). frecuencia de los haplotipos expresada en porcentaje; **p.** significancia estadística; **RM.** razón de momios; IC95%. Índice de confianza del 95%; *valores obtenidos mediante la prueba de Haldane.

DQB1*02/03 (16.7%), DQB1*03/06 (16.7%) y DQB1*04/05 (10.0%) los más representados en el grupo de AHA (Tabla VI).

Cuando se compararon sus frecuencias genóticas con las observadas en los controles, se presentó un aumento de la frecuencia del genotipo DQB1*03/06 (16.7%) comparado con lo encontrado en controles (3.3%). Las frecuencias del resto de los genotipos de *HLA-DQB1* fueron semejantes entre AHA y los controles.

Frecuencia de Genotipos de *HLA-DRB1*

Los genotipos observados de *HLA-DRB1* fueron 47 (Tabla VII). El más frecuente en el grupo de AHA fue el genotipo DRB1*04/08 (10.0%), el resto de los genotipos presentaron frecuencias menores a 10.0%. Cuando se compararon con las frecuencias del grupo control, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas.

Frecuencia de Combinaciones de Genotipos *HLA-DQB1* y *HLA-DRB1*

Se analizaron las combinaciones de genotipos *DQB1 / DQB1 - DRB1 / DRB1* en cada paciente. Se observaron 55 combinaciones diferentes y se determinaron las frecuencias de dichas combinaciones. Las frecuencias obtenidas se muestran en la Tabla VIII. No se encontraron diferencias en las frecuencias de las combinaciones de genotipos en los pacientes con AHA en comparación con los controles.

Tabla VI. Frecuencias genotípicas de *HLA-DQB1* en pacientes con AHA de Sonora.

GENOTIPO	AHA n = 30	Control n = 60	p	RM (IC95%)
	n (%)	n (%)		
DQB1*03/03	7 (23.3)	12 (20.0)	0.714	1.22 (0.37 - 3.92)
DQB1*02/03	5 (16.7)	15 (25.0)	0.370	0.60 (0.17 - 2.06)
DQB1*03/06	5 (16.7)	2 (3.3)	0.060	5.80 (0.90 - 46.73)
DQB1*04/05	3 (10.0)	3 (5.0)	0.396	2.11 (0.31 - 14.31)
DQB1*03/05	2 (6.7)	4 (6.7)	1.00	1.00 (0.12 - 6.95)
DQB1*03/04	2 (6.7)	3 (5.0)	1.00	1.36 (0.15 - 10.84)
DQB1*02/02	1 (3.3)	5 (8.3)	0.659	0.38 (0.02 - 3.64)
DQB1*02/04	1 (3.3)	3 (5.0)	1.00	0.66 (0.03 - 7.61)
DQB1*02/06	1 (3.3)	3 (5.0)	1.00	0.66 (0.03 - 7.61)
DQB1*05/05	1 (3.3)	3 (5.0)	1.00	0.66 (0.03 - 7.61)
DQB1*06/06	1 (3.3)	2 (3.3)	1.00	1.00 (0.00 - 14.99)
DQB1*04/04	1 (3.3)	1 (1.7)	1.00	2.03 (0.00 - 77.76)
DQB1*05/06	0 (0.0)	2 (3.3)	*1.00	*1.00 (0.00 - 14.99)
DQB1*02/05	0 (0.0)	1 (1.7)	*1.00	*2.03 (0.00 - 77.76)
DQB1*04/06	0 (0.0)	1 (1.7)	*1.00	*2.03 (0.00 - 77.76)

AHA. Absceso hepático amibiano; n. número de alelos; (%). frecuencia genotípica expresada en porcentaje; p. significancia estadística; RM. razón de momios; IC95%. Índice de confianza del 95%; *valores obtenidos mediante la prueba de Haldane.

Tabla VII. Frecuencias genotípicas de *HLA-DRB1* en pacientes con AHA de Sonora.

GENOTIPO	AHA	Control	<i>p</i>	RM (IC95%)
	n = 30	n = 61		
	n (%)	n (%)		
DRB1*04/08	3 (10.0)	4 (6.5)	0.680	1.58 (0.26 - 9.23)
DRB1*01/01	2 (6.7)	2 (3.3)	0.596	2.11 (0.20 - 22.42)
DRB1*04/11	2 (6.7)	2 (3.3)	0.596	2.11 (0.20 - 22.42)
DRB1*04/14	2 (6.7)	1 (1.6)	0.251	4.29 (0.29 - 125.04)
DRB1*07/14	2 (6.7)	1 (1.6)	0.251	4.29 (0.29 - 125.04)
DRB1*04/07	1 (3.3)	3 (4.9)	1.00	0.67 (0.03 - 7.74)
DRB1*11/13	1 (3.3)	3 (4.9)	1.00	0.67 (0.03 - 7.74)
DRB1*01/04	1 (3.3)	2 (3.3)	1.00	1.02 (0.00 - 15.25)
DRB1*01/08	1 (3.3)	2 (3.3)	1.00	1.02 (0.00 - 15.25)
DRB1*04/04	1 (3.3)	2 (3.3)	1.00	1.02 (0.00 - 15.25)
DRB1*13/15	1 (3.3)	2 (3.3)	1.00	1.02 (0.00 - 15.25)
DRB1*04/16	1 (3.3)	1 (1.6)	1.00	2.07 (0.0 - 79.06)
DRB1*08/08	1 (3.3)	1 (1.6)	1.00	2.07 (0.0 - 79.06)
DRB1*08/13	1 (3.3)	1 (1.6)	1.00	2.07 (0.0 - 79.06)
DRB1*11/14	1 (3.3)	1 (1.6)	1.00	2.07 (0.0 - 79.06)
DRB1*14/15	1 (3.3)	1 (1.6)	1.00	2.07 (0.0 - 79.06)
DRB1*01/07	1 (3.3)	0 (0.0)	*1.00	*2.07 (0.0 - 79.06)
DRB1*01/11	1 (3.3)	0 (0.0)	*1.00	*2.07 (0.0 - 79.06)
DRB1*01/15	1 (3.3)	0 (0.0)	*1.00	*2.07 (0.0 - 79.06)
DRB1*04/13	1 (3.3)	0 (0.0)	*1.00	*2.07 (0.0 - 79.06)
DRB1*04/15	1 (3.3)	0 (0.0)	*1.00	*2.07 (0.0 - 79.06)
DRB1*07/15	1 (3.3)	0 (0.0)	*1.00	*2.07 (0.0 - 79.06)
DRB1*07/16	1 (3.3)	0 (0.0)	*1.00	*2.07 (0.0 - 79.06)
DRB1*08/14	1 (3.3)	0 (0.0)	*1.00	*2.07 (0.0 - 79.06)
DRB1*03/04	0 (0.0)	3 (4.9)	*1.00	*0.67 (0.03 - 7.74)
DRB1*07/07	0 (0.0)	3 (4.9)	*1.00	*0.67 (0.03 - 7.74)
DRB1*07/08	0 (0.0)	3 (4.9)	*1.00	*0.67 (0.03 - 7.74)
DRB1*01/16	0 (0.0)	2 (3.3)	*1.00	*1.02 (0.00 - 15.25)
DRB1*15/15	0 (0.0)	2 (3.3)	*1.00	*1.02 (0.00 - 15.25)
DRB1*03/13	0 (0.0)	2 (3.3)	*1.00	*1.02 (0.00 - 15.25)
DRB1*01/03	0 (0.0)	1 (1.6)	*1.00	*2.07 (0.0 - 79.06)
DRB1*01/14	0 (0.0)	1 (1.6)	*1.00	*2.07 (0.0 - 79.06)

Tabla VII. Continuación.

DRB1*03/07	0 (0.0)	1 (1.6)	*1.00	*2.07 (0.0 - 79.06)
DRB1*03/11	0 (0.0)	1 (1.6)	*1.00	*2.07 (0.0 - 79.06)
DRB1*03/12	0 (0.0)	1 (1.6)	*1.00	*2.07 (0.0 - 79.06)
DRB1*03/14	0 (0.0)	1 (1.6)	*1.00	*2.07 (0.0 - 79.06)
DRB1*03/15	0 (0.0)	1 (1.6)	*1.00	*2.07 (0.0 - 79.06)
DRB1*07/11	0 (0.0)	1 (1.6)	*1.00	*2.07 (0.0 - 79.06)
DRB1*07/13	0 (0.0)	1 (1.6)	*1.00	*2.07 (0.0 - 79.06)
DRB1*08/16	0 (0.0)	1 (1.6)	*1.00	*2.07 (0.0 - 79.06)
DRB1*10/12	0 (0.0)	1 (1.6)	*1.00	*2.07 (0.0 - 79.06)
DRB1*10/13	0 (0.0)	1 (1.6)	*1.00	*2.07 (0.0 - 79.06)
DRB1*11/15	0 (0.0)	1 (1.6)	*1.00	*2.07 (0.0 - 79.06)
DRB1*11/16	0 (0.0)	1 (1.6)	*1.00	*2.07 (0.0 - 79.06)
DRB1*13/16	0 (0.0)	1 (1.6)	*1.00	*2.07 (0.0 - 79.06)
DRB1*14/14	0 (0.0)	1 (1.6)	*1.00	*2.07 (0.0 - 79.06)
DRB1*14/16	0 (0.0)	1 (1.6)	*1.00	*2.07 (0.0 - 79.06)

AHA. Absceso hepático amibiano; **n**. número de alelos; **(%)**. frecuencia genotípica expresada en porcentaje; **p**. significancia estadística; **RM**. razón de momios; **IC95%**. Índice de confianza del 95%; *valores obtenidos mediante la prueba de Haldane.

Tabla VIII. Frecuencias de combinación de genotipos DQB1 - DRB1 en pacientes con AHA de Sonora.

COMBINACIÓN DE GENOTIPO DQB1/DRB1	AHA n = 60	Control n = 120	<i>p</i>	RM (IC95%)
	n (%)	n (%)		
02*02/01*03	0 (0.0)	1 (1.7)	*1.00	*2.00 (0.00-76.46)
02*02/01*07	1 (3.3)	0 (0.0)	*1.00	*2.00 (0.00-76.46)
02*02/03*07	0 (0.0)	1 (1.7)	*1.00	*2.00 (0.00-76.46)
02*02/04*07	1 (3.3)	0 (0.0)	*1.00	*2.00 (0.00-76.46)
02*02/07*07	0 (0.0)	3 (5.1)	*1.00	*0.64 (0.02-7.48)
02*03/03*04	0 (0.0)	3 (5.1)	*1.00	*0.64 (0.02-7.48)
02*03/03*11	0 (0.0)	1 (1.7)	*1.00	*2.00 (0.00-76.46)
02*03/03*12	0 (0.0)	1 (1.7)	*1.00	*2.00 (0.00-76.46)
02*03/03*13	0 (0.0)	1 (1.7)	*1.00	*2.00 (0.00-76.46)
02*03/03*14	0 (0.0)	1 (1.7)	*1.00	*2.00 (0.00-76.46)
02*03/04*07	0 (0.0)	3 (5.1)	*1.00	*0.64 (0.02-7.48)
02*03/07*11	0 (0.0)	1 (1.7)	*1.00	*2.00 (0.00-76.46)
02*03/07*13	0 (0.0)	1 (1.7)	*1.00	*2.00 (0.00-76.46)
02*03/07*14	2 (6.7)	0 (0.0)	*0.26	*4.14 (0.28-120.93)
02*03/07*16	1 (3.3)	0 (0.0)	*1.00	*2.00 (0.00-76.46)
02*03/11*13	1 (3.3)	2 (3.4)	1.00	0.98 (0.00-14.74)
02*03/13*16	0 (0.0)	1 (1.7)	*1.00	*2.00 (0.00-76.46)
02*04/07*08	0 (0.0)	3 (5.1)	*1.00	*0.64 (0.02-7.48)
02*04/08*13	1 (3.3)	0 (0.0)	*1.00	*2.00 (0.00-76.46)
02*05/07*14	0 (0.0)	1 (1.7)	*1.00	*2.00 (0.00-76.46)
02*06/03*13	0 (0.0)	1 (1.7)	*1.00	*2.00 (0.00-76.46)
02*06/03*15	0 (0.0)	1 (1.7)	*1.00	*2.00 (0.00-76.46)
02*06/07*15	1 (3.3)	0 (0.0)	*1.00	*2.00 (0.00-76.46)
03*03/01*01	0 (0.0)	1 (1.7)	*1.00	*2.00 (0.00-76.46)
03*03/01*11	1 (3.3)	0 (0.0)	*1.00	*2.00 (0.00-76.46)
03*03/01*14	0 (0.0)	1 (1.7)	*1.00	*2.00 (0.00-76.46)
03*03/04*04	1 (3.3)	2 (3.4)	1.00	0.98 (0.00-14.74)
03*03/04*08	2 (6.7)	2 (3.4)	0.60	2.04 (0.19-21.68)
03*03/04*11	1 (3.3)	2 (3.4)	1.00	0.98 (0.00-14.74)
03*03/04*14	1 (3.3)	1 (1.7)	1.00	2.00 (0.00-76.46)
03*03/04*16	1 (3.3)	1 (1.7)	1.00	2.00 (0.00-76.46)
03*03/11*16	0 (0.0)	1 (1.7)	*1.00	*2.00 (0.00-76.46)
03*03/14*16	0 (0.0)	1 (1.7)	*1.00	*2.00 (0.00-76.46)
03*04/04*08	1 (3.3)	2 (3.4)	1.00	0.98 (0.00-14.74)

Tabla VIII. Continuación.

03*04/08*14	1 (3.3)	0 (0.0)	*1.00	*2.00 (0.00-76.46)
03*04/08*16	0 (0.0)	1 (1.7)	*1.00	*2.00 (0.00-76.46)
03*05/01*01	2 (6.7)	0 (0.0)	*0.26	*4.14 (0.28-120.93)
03*05/01*04	0 (0.0)	1 (1.7)	*1.00	*2.00 (0.00-76.46)
03*05/10*12	0 (0.0)	1 (1.7)	*1.00	*2.00 (0.00-76.46)
03*05/11*14	0 (0.0)	1 (1.7)	*1.00	*2.00 (0.00-76.46)
03*05/14*14	0 (0.0)	1 (1.7)	*1.00	*2.00 (0.00-76.46)
03*06/04*11	1 (3.3)	0 (0.0)	*1.00	*2.00 (0.00-76.46)
03*06/04*13	1 (3.3)	0 (0.0)	*1.00	*2.00 (0.00-76.46)
03*06/04*15	1 (3.3)	0 (0.0)	*1.00	*2.00 (0.00-76.46)
03*06/11*14	1 (3.3)	0 (0.0)	*1.00	*2.00 (0.00-76.46)
03*06/11*15	0 (0.0)	1 (1.7)	*1.00	*2.00 (0.00-76.46)
03*06/14*15	1 (3.3)	1 (1.7)	1.00	2.00 (0.00-76.46)
04*04/08*08	1 (3.3)	1 (1.7)	1.00	2.00 (0.00-76.46)
04*05/01*04	1 (3.3)	1 (1.7)	1.00	2.00 (0.00-76.46)
04*05/01*08	1 (3.3)	2 (3.4)	1.00	0.98 (0.00-14.74)
04*05/04*14	1 (3.3)	0 (0.0)	*1.00	*2.00 (0.00-76.46)
04*06/08*13	0 (0.0)	1 (1.7)	*1.00	*2.00 (0.00-76.46)
05*05/01*01	0 (0.0)	1 (1.7)	*1.00	*2.00 (0.00-76.46)
05*05/01*15	1 (3.3)	0 (0.0)	*1.00	*2.00 (0.00-76.46)
05*05/01*16	0 (0.0)	2 (3.4)	*1.00	*0.98 (0.00-14.74)
05*06/10*13	0 (0.0)	1 (1.7)	*1.00	*2.00 (0.00-76.46)
05*06/13*15	0 (0.0)	1 (1.7)	*1.00	*2.00 (0.00-76.46)
06*06/13*15	1 (3.3)	0 (0.0)	*1.00	*2.00 (0.00-76.46)
06*06/15*15	0 (0.0)	2 (3.4)	*1.00	*0.98 (0.00-14.74)

AHA. Absceso hepático amibiano; **n.** número de alelos; **(%)**, frecuencia de la combinación de genotipos expresada en porcentaje; **p.** significancia estadística; **RM.** razón de momios; **IC95%.** Índice de confianza del 95%; *valores obtenidos mediante la prueba de Haldane.

DISCUSIÓN

Los resultados del presente trabajo mostraron que el alelo DQB1*02 se encuentra en un menor porcentaje en el grupo de AHA (15.0%) en comparación con el 26.66% observado en el grupo control; considerando esto una asociación negativa a la susceptibilidad de AHA; sin embargo, la aparición de un resultado como el del alelo DQB1*02 es un indicio de que es muy probable que existan asociaciones del polimorfismo de *HLA-DQB1* con la resistencia al AHA. Otro hallazgo es la ausencia del haplotipo heterocigoto DQB1*02-DRB1*03 en el grupo de pacientes con AHA, mientras que se presentó en 9.16% del grupo control. Al analizarlo estadísticamente, el valor de *p* estuvo muy cerca de la significancia ($p=0.06$); sin embargo, representa un resultado interesante, ya que de nuevo está presente el alelo DQB1*02 en este haplotipo, lo que refuerza la idea de su posible participación en la resistencia al AHA.

Otro dato importante obtenido en el presente trabajo es el aumento de la frecuencia del genotipo DQB1*03/06 (16.66%) comparado con lo encontrado en controles (3.33%). Este resultado vuelve a sugerir una participación del polimorfismo de *HLA-DQB1* en el padecimiento de AHA, aunque esta vez con el genotipo DQB1*03/06 como factor de susceptibilidad, ya que la razón de momios fue de 5.80 (IC95% 0.90 – 46.73).

En relación a como se vería afectada la presentación de antígeno, es posible que la presencia o ausencia de un determinado alelo o haplotipo de *HLA* de clase II pueda alterar la respuesta a una infección por cambiar el repertorio de proteínas que se presentan a células T CD4+, traducándose en diversos efectos como: (i) alterar directamente el contacto con el TCR, (ii) unir un nuevo espectro de péptidos, (iii) unir el mismo péptido pero en conformación diferente, ya que una diferencia en la naturaleza y conformación de los péptidos enlazados o en el acoplamiento al TCR afectará el repertorio de células T. Las variaciones anteriores en la presentación de antígeno por MHC y la selección del repertorio de células T, afectan el potencial de la respuesta inmune del individuo, y por lo tanto, la susceptibilidad o resistencia a los patógenos

(Grande y Bevan, 1992; Nikolic' y Bevan, 1990; Dyall y col., 1996; Dyall y col., 2000).

En el caso del polimorfismo de HLA-DRB1 no se encontraron diferencias significativas en alelos ni haplotipos. Esto contrasta con la asociación con DR3 mencionada en los reportes de Arellano y col., (1987; 1991). Las diferencias entre los resultados pueden deberse a la diversidad que existe entre la población mexicana, teniendo en cuenta las diferencias entre la población sonorense y la población de mestizos mexicanos del centro del país, ya que diversas estimaciones de mestizaje arrojan contribuciones desiguales por todo el territorio nacional, con una tendencia a presentar mayor componente africano hacia las costas del sureste y algunas regiones del centro del país, y una proporción más elevada de alelos de ancestría europea hacia el norte del territorio, con gradientes de contribución nativa americana desde el centro hacia las regiones antes citadas, lo que arroja porcentajes de contribución estimados en rangos que van del 25.6 al 94.5% (nativa americana), del 4.2 al 70.8% (europea) y del 0.9 al 40.5% (africana) (Barquera, 2012).

Es importante señalar, que mediante la técnica de microlinfocitotoxicidad utilizada por Arellano y col., (1991) el alto grado de polimorfismo del HLA no puede ser completamente analizado, en el presente estudio analizamos los polimorfismos de los alelos de población sonorense mediante técnicas moleculares utilizando una nueva metodología recientemente incorporada que combina análisis múltiples (Multiplex) con la sensibilidad de la citometría de flujo. El cual nos permite estudiar simultáneamente el HLA de hasta 96 individuos con 100 diferentes sondas SSO (Oligonucleótidos de Secuencia Específica) marcadas para cada locus, obteniendo así tipificaciones de mejor resolución en menos tiempo y para mayor número de muestras. No se puede pasar por alto la falta de poder estadístico de los resultados del presente estudio debido al número de muestras analizadas hasta el momento, sobre todo en el caso del HLA-DRB1 cuyo polimorfismo es mayor que el de HLA-DQB1, por lo que se requiere de un tamaño de muestra mayor.

Con respecto a lo reportado por Duggal y col. (2004), los estudios realizados en México con el propósito de evaluar la frecuencia de haplotipos HLA obtenidos por el análisis del pedigrí en mestizos mexicanos de diferentes regiones en México, han permitido calcular la mezcla genética con ancestros Amerindios, Europeos, poblaciones Africanas y Asiáticas encontrando que nuestras poblaciones en particular la mestiza, está genéticamente relacionada con ancestros Amerindios y muy alejada en términos de distancia genética con población asiática como sería el caso de Bangladesh.

Es importante tener en cuenta que a pesar de que el riesgo influenciado por *HLA* (Walsh y Warren, 1979; Tiwari y Tarasapk, 1985) puede representar un factor de predisposición o resistencia, existen otro tipo de factores del huésped a considerar tales como edad, sexo y estado nutricional (Muñoz, 1986), por otra parte pudieran estar asociados factores dependientes del parásito (Ravdin, 1989) así como factores ambientales que logran constituir del AHA una enfermedad multifactorial, sin olvidar la influencia que tiene la microbiota intestinal en el resultado entre la interacción de la amiba y el sistema inmune del hospedero (Maynard y col., 2012).

Si bien se requiere aumentar el tamaño de muestra para concluir contundentemente el estudio, los resultados obtenidos en el presente trabajo proveen indicios de que existe participación del HLA-DQB1 en la resistencia y predisposición al AHA en población del estado de Sonora, los cuales deben ser confirmados terminando de coleccionar y analizar los individuos que restan para llegar a un tamaño de muestra que permita tener un adecuado poder estadístico.

CONCLUSIÓN

El hallazgo del alelo DQB1*02 en mayor porcentaje en el grupo control (26.7%), representa un indicio de que es muy probable que existan asociaciones del polimorfismo de HLA-DQB1 con la resistencia al AHA.

La ausencia del haplotipo heterocigoto DQB1*02-DRB1*03 en el grupo de pacientes refuerza la idea de un posible efecto de protección a contraer AHA ya que de nuevo se presenta el alelo DQB1*02.

Se sugiere la participación del polimorfismo HLA-DQB1 como factor de susceptibilidad al encontrar el genotipo DQB1*03/06 en un mayor porcentaje (16.7%) en el grupo de pacientes con AHA.

En el caso del polimorfismo de HLA-DRB1 no se encontraron diferencias significativas en alelos ni haplotipos.

Se requiere aumentar el tamaño de muestra para concluir contundentemente el estudio, los resultados obtenidos en el presente trabajo proveen indicios de que existe participación del HLA-DQB1 en la resistencia y predisposición al AHA en población del estado de Sonora.

BIBLIOGRAFÍA

- Acosta-Altamirano, G., Torres-Sanchez, E., Meraz, E., Isibasi-Araujo, A., Kumate-Rodríguez, J. 1986. Detection of class IgA antibodies directed against a lipopeptidophosphoglycan of *E. histolytica* in samples of human colostrum. *Arch Invest Med (Mex)*. 17 (Suppl. 1): 291- 295.
- Alves, C., Souza, T., Meyer, I., Toralles, P.M.B., Brites, C. 2006. Immunogenetics and Infectious Diseases:Special Reference to the Mayor Histocompatibility Complex. *Braz J Infect Dis*. 10(2):122-131.
- Arellano, J., Granados, J., Pérez, E., Félix, C., Kretschmer, R. 1991. Increased frequency of HLA-DR3 and complotype SCO1 in Mexican mestizo patients with amoebic abscess of the liver. *Parasite Immunol*. 13, 23-29.
- Arellano, J., Isibasi A., Miranda, R., Higuera, F., Granados, J., Kretschmer, R. 1987. HLA antigens associated to amoebic abscess of the liver in Mexican mestizos. *Parasite Immunol*. 9,757.
- Arellano, J., Pérez-Rodríguez, M., López-Osuna, M., Velázquez, J.R., Granados, J., Justiniani, N., Santos, J.I., Madrazo, A., Muñoz, L., Kretschmer, R. 1996. Increased frequency of HLA-DR3 and complotype SCO1 in Mexican mestizo children with amoebic abscess of the liver. *Parasite Immunol*. (10):491-8.
- Aristizábal, H., Acevedo, J., Botero, M. 1991. Fulminant amebic colitis. *World J Surg*. 15(2):216-21.
- Akira, S. 2003. Mammalian Toll-like receptors. *Curr Opin Immunol*. 15; 5- 11.
- Akira, S., Takeda, K., Kaisho, T. 2001. Toll-like receptors: critical proteins linking innate and acquired immunity. *Nat Immunol*. 2: 675 -680.
- Barquera, R., Zúñiga, J., Hernández-Díaz, R., Acuña-Alonso, V., Montoya-Gama, K., Moscoso, J., Torres-García, D., García-Salas, C., Silva, B., Cruz-Robles, D., Arnáiz-Villena, A., Vargas-Alarcón, G., Granados, J. 2008. HLA class I and class II

- haplotypes in admixed families from several regions of Mexico. *Mol Immunol.* 45: 1171-1178.
- Bart, S. 1998. What sharks can tell us about the evolution of the MHC genes. *Immunol Rev.* 166:317.
- Banchereau, J., Steinman R.M. 1998. Dendritic cells and the control of immunity. *Nature* 392: 245-252.
- Banchereau, J., Briere, F., Caux, C. 2000. Immunobiology of dendritic cells. *Annu Rev Immunol.* 18: 767-811.
- Bahram, S. 2001. *MIC* genes: from genetics to biology. *Adv Immunol.* 76:1-60.
- Bhattacharya, A., Arya, R., Clark, C.G., Ackers, J.P. 2000. Absence of lipophosphoglycan-like glycoconjugates in *Entamoeba dispar*. *Parasitol.* 120: 31-35.
- Blessmann, J., Van Linh, P., Nu, P.A. 2002. Epidemiology of amebiasis in a region of high incidence of amebic liver abscess in central Vietnam. *Am J Trop Med Hyg* 66: 578-583.
- Braga, L., Ninomiya H., McCoy J.J. 1992. Inhibition of the complement membrane attack complex by the galactose-specific adhesin of *Entamoeba histolytica*. *J Clin Invest.* 90: 1131-1137.
- Caballero-Salcedo, A., Viveron-Rogel, M., Salvatierra, B., Tapia-Conyer, R., Sepúlveda-Amor, J., Gutierrez, G., Ortíz-Ortíz, L. 1994. Seroepidemiology of amebiasis in Mexico. *Am J Trop Med Hyg.* 50:412-19.
- Campos-Rodriguez, R., Barranco-Tovar, C., Isibasi-Araujo, A., Kumate-Rodriguez, J. 1986. Anti-amebic plasma cells in peripheral blood of patients with amebic liver abscess. *Arch Invest Med (Mex)* 17: 303-306.
- Campos, R.R., Jarillo, L.A. 2005. The pathogenicity of *Entamoeba histolytica* is related to the capacity of evading innate immunity. *Parasite Immunol.* 27. 1-8.

- Carrington, M., Nelson, G.W., Martin, M.P. 1999. HLA and HIV-1: Heterozygote advantage and *B*35-Cw*04* disadvantage. *Science* 283:1748-52.
- Clark, C.G. 1998. Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene meeting at Manson House. London, 19 February 1998. Amoebic disease. *Entamoeba dispar*, an organism reborn. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 92(4): 361-364.
- Dawkins, R., Leelayuwat, C., Gaudieri, S. 1999. Genomics of the major histocompatibility complex: haplotypes, duplication, retroviruses and disease. *Immunol Rev.* 167: 275–304.
- Donadi, E. A. 2000. Como entender a nomenclatura e os mecanismos de associação entre os antígenos e os alelos de histocompatibilidade com as doenças. *Med Rih Preto.* 33:7-18.
- Duggal, P., Haque, R., Roy, S., Mondal, D., Sack, R.B., Farr, B.M., 2004. Influence of human leukocyte antigen class II alleles on susceptibility to *Entamoeba histolytica* infection in Bangladeshi children. *J Infect Dis.* 189:520-6.
- Dyall, R., Fremont, D.H., Jameson, S.C., Nikolic'-Žugic', J. 1996. T cell receptor (TCR) recognition of MHC class I variants: intermolecular second-site reversion provides evidence for peptide/MHC conformational variation. *J Exp Med.* 184:253–258.
- Dyall, R., Messaoudi, I., Janetzki, S., Nikolic'-Žugic', J., 2000. MHC polymorphism can enrich the T cell repertoire of the species by shifts in intrathymic selection. *J Immunol.* 164: 1695–1698.
- Espinosa-Cantellano, M.E., Martinez-Palomo, A.M. 2000. Pathogenesis of intestinal amebiasis: from molecules to disease. *Clin Microbiol Rev.* 13:318-31.
- Fernandes, A., Maciel, L., Foss, M., Donadi, E.A. 2003. Como entender a associação entre o sistema HLA e as doenças auto-imunes endócrinas. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 47(5):601-11.

- Flores-Romo, L., Tsutsumi, V., Estrada-Garcia, T. 1994. CD59 (protectin) molecule, resistance to complement, and virulence of *Entamoeba histolytica*. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 88: 116–117.
- Fonte-Galindo, L. 2000. Amebiasis: enfoques actuales sobre su diagnóstico, tratamiento y control.: Editorial Elfos Scientae. La Habana
- Fotedar, R., Stark D., Beebe, N. 2007. Laboratory diagnostic techniques for *Entamoeba* species. *Clin Microbiol Rev.* 20(3):511-32.
- Gitler, C., Mirelman, D. 1986. Factors contributing to the pathogenic behavior of *Entamoeba histolytica*. *Annu Rev Microbiol.* 40:237-61
- Grande, III A.G., Bevan, M.J. 1992. Single-residue changes in class I major histocompatibility complex molecules stimulate responses to self peptides. *Proc Natl Acad Sci.* 89:2794–2798.
- Gutierrez-Kobeh, L., Cabrera, N., Perez-Montfort, R. 1997. A mechanism of acquired resistance to complement-mediated lysis by *Entamoeba histolytica*. *J Parasitol.* 83: 234–241.
- Haghighi, A., Kobayashi, S., Takeuchi, T., Masuda, G., Nozaki, T. 2002. Remarkable genetic polymorphism among *Entamoeba histolytica* isolates from a limited geographic area. *J Clin Microbiol.* 40: 4081–4090.
- Haghighi, A., Kobayashi, S., Takeuchi, T., Thammapalerd, N., Nozaki, T. 2003. Geographic diversity among genotypes of *Entamoeba histolytica* field isolates. *J Clin Microbiol.* 41: 3748–3756.
- Hall, F.C., Bowness, P. 1996. HLA and disease: From molecular function to disease association? In HLA and MHC: Genes, molecules and function. Eds. M.J. Browning and A.J. McMichael. pp. 353–381. BIOS Scientific Publishers Ltd, Oxford.
- Haque, R., Huston, C.D., Hughes, M., Houpt, E., Petri, W.A. Jr. 2003. Amebiasis. *N Engl J Med.* 348:1565-73.

- Haque, R., Mondal, D., Duggal, P., Kabir, M., Roy, S., Farr, B.M., Sack, R.B., Petri, W.A. Jr. 2006a. *Entamoeba histolytica* infection in children and protection from subsequent amebiasis. *Infect Immun*; 74:904-909.
- Haque, R., Mondal, D., Roy, S., Kabir, M., Davis, A.N, Petri, W.A. Jr. 2006b. INF-gama production by peripheral blood mononuclear cells is associated with childhood resistance to amebiasis. *Am J Trop Med Hyg*.
- Hoffmann, J.A., Kafatos, F.C., Janeway, C.A., Ezekowitz, R.A. 1999. Phylogenetic perspectives in innate immunity. *Science*; 284: 1313–1318.
- Hughes, A.L., Yeager, M. 1998. Natural selection at major histocompatibility complex loci of vertebrates. *Annu Rev Genet*. 32:415–435.
- Kammanadiminti, S.J., Mann, B.J., Dutil, L., Chadee, K. 2004. Regulation of Toll-like receptor-2 expression by the Gal-lectin of *Entamoeba histolytica*. *FASEB J*. 18(1): 155–157.
- Klein, J., Sato, A. 2000. The HLA System: Second of Two Parts. *N Engl J Med*. 343(11):782-6.
- Kulski, J.K., Shiina, T., Anzai, T., Kohara, S., Inoko, H. 2002. Comparative genomic analysis of the MHC: the evolution of class I duplication blocks, diversity and complexity from shark to man. *Immunol Rev*.190:95-122.
- Lechler, R., Warrens, A. 2000. HLA in Health and Disease. 2nd Edn. *Academic Press* San Diego. 139–46.
- Mack, D.G., Johnson, J.J., Roberts, F. 1999. HLA-class II genes modify outcome of *Toxoplasma gondii* infection. *Int J Parasitol*. 29:1351–8.
- Maldonado, C., Trejo, W., Ramirez, A. 2000. Lipophosphopeptidoglycan of *Entamoeba histolytica* induces an anti-inflammatory innate immune response and downregulation of toll-like receptor 2 (TLR-2) gene expression in human monocytes. *Arch Med Res*. 31 (4): S71–S73.

- Maldonado-Bernal, C., Kirschning, C.J., Rosenstein, Y. 2005. The innate immune response to *Entamoeba histolytica* lipopeptidophosphoglycan is mediated by toll-like receptors 2 and 4. *Parasite Immunol.* 27: 127–137.
- Marcos, E.V.C., Souza, F.C., Ura, S., Opromolla, D.V.A. 2000. Estudo de associação entre antígenos HLA e reação hansênica tipo 1 ulcerada. *An Bras Dermatol.* 75(3):283-90.
- Marinets, A., Zhang, T., Guillen, N. 1997. Protection against invasive amebiasis by a single monoclonal antibody directed against a lipophosphoglycan antigen localized on the surface of *Entamoeba histolytica*. *J Exp Med.* 186: 1557–1565.
- Maynard, C., Elson, C.O., Hatton, R.D., Weaver, C.T. 2012. Reciprocal interactions of the intestinal microbiota and immune system. *Nature* 489: 231–241
- Means, T.K., Jones, B.W., Schromm, A.B. 2001. Differential effects of a Toll-like receptor antagonist on *Mycobacterium tuberculosis* induced macrophage responses. *J Immunol.* 166: 4074–4082.
- Medzhitov, R. Janeway, C.A. Jr. 2000. Innate immunity. *N Engl J Med.* 343: 338–344.
- Moody, S., Becker, S., Nuchamowitz, Y., Mirelman, D. 1997. Virulent and avirulent *Entamoeba histolytica* and *E. dispar* differ in their cell surface phosphorylated glycolipids. *Parasitol.* 114: 95–104.
- Moody-Haupt, S., Patterson, J.H., Mirelman, D., McConville, M.J. 2000. The major surface antigens of *Entamoeba histolytica* trophozoites are GPI-anchored proteophosphoglycans. *J Mol Biol.* 297: 409–420.
- Mortimer, L., Chadee, K. 2010. The immunopathogenesis of *Entamoeba histolytica*. *Exp Parasitol.* 126(3):366-380.
- Muñoz, O. 1986. Epidemiology of amebiasis. In Amebiasis. Ed. Martinez-Palomo A. p. 213. Elsevier, Amsterdam.

- Martínez-Palomo, A. 1986. Biology of *Entamoeba histolytica*. En: Amebiasis. Ed. Martínez-Palomo A. Elsevier, Amsterdam, pp. 11-43.
- Nicholls, S.R., Alvarez, A.C., 2005. Amibiasis. Tratado de Medicina Interna. 4ta Edición. Editorial Médica Celus. Colombia: 1452-1459.
- Nikolic'-Žugic', J., Bevan, M.J. 1990. Role of self-peptides in positively selecting the T-cell repertoire, *Nature* 344 65-67.
- Olivos-García, A., Nequiz-Avendano, M., Tello, E. 2004. Inflammation, complement, ischemia and amoebic survival in acute experimental amoebic liver abscesses in hamsters. *Exp Mol Pathol.* 77: 66-71.
- Partida, R.O. 2010. Polimorfismo de los genes *MICA*, *TNF- α* , *TNF- β* , *HSP70-1*, *HSP70-2* y *HSP70-HOM* en Pacientes Mestizos Mexicanos con Lesiones Gástricas asociadas a *Helicobacter pylori*. Posgrado en Ciencias Biológica. Facultad de Medicina. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Petri, W.A. Jr. 2002. Pathogenesis of amebiasis. *Curr Opin Microbiol.* 5:443-7.
- Pinilla, E., López, C., Viasus, D. 2008. History of the *Entamoeba histolytica* protozoan. *Rev Med Chile.* 136: 118-124.
- Polansky, H. 2003. Microcompetition with Foreign DNA and the Origin of Chronic Disease. New York. CBCD Publishing.
- Prasad, R., Tola, M., Bhattacharya, S., Sharma, M.P., Bhattacharya, A. 1992. Recognition of *Entamoeba histolytica* lipophosphoglycan by a strain-specific monoclonal antibody and human immune sera. *Mol Biochem Parasitol.* 56: 279-287.
- Prugnotte, F., Manica, A., Charpentier, M., Guégan, JF, Guernier, V, Balloux, F. 2005. Pathogen-drive selection and worldwide HLA class I diversity. *Curr Biol.* 15. 1022-1027.

- Quintanar-Quintanar, M.E., Jarillo-Luna, A., Rivera-Aguilar, V. 2004. Immunosuppressive treatment inhibits the development of amebic liver abscesses in hamsters. *Medical Sci Monit.* 10: 317-324.
- Ramos, F., Morán, P., González, E., García, G., Ramiro, M., Gómez, A., García de León, M.C., Melendro, E.I., Valadez, A., Ximénez, C. 2005a. *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar*: Prevalence infection in a rural mexican community. *Exp Parasitol.* 110:327-330.
- Ramos, F., García, G., Valadez, A., Morán, P., González, E., Melendro, E.I., Valenzuela, O., Ximénez, C. 2005b. *E. dispar* strain: analysis of polymorphism as a tool for studying geographic distribution. *Mol Biochem Parasitol.* 141:175-177.
- Ravdin, J.I. 1989. *Entamoeba histolytica*: from adherence to enteropathy. *J Infect Dis.* 159(3):420-9.
- Reed, S.L., Curd, J.G., Gigli, I., Gillin, F.D., Braude, A.I. 1986. Activation of complement by pathogenic and nonpathogenic *Entamoeba histolytica*. *J Immunol.* 136: 2265-2270.
- Reed, S.L., Gigli, I. 1990. Lysis of complement-sensitive *Entamoeba histolytica* by activated terminal complement components. Initiation of complement activation by an extracellular neutral cysteine proteinase. *J Clin Invest.* 86: 1815-1822.
- Schreuder, G.M.T., Strominger, J.L., Svejgaard, A., Terasaki, P.I., Trowsdale, J. 2005. Nomenclature for factors of the HLA system, 2004. *Tis Ant.* 65:301.
- Secretaría de Salud. Epidemiología. 2000. Información epidemiológica de morbilidad. Secretaría de Salud, México DF. pp:15-32.
- Sepúlveda, B., Treviño-García, M.N., 1989. Cuadro clínico y diagnóstico de la amibiasis. Amibiasis. *Ed Med Pan.* México DF.:134-146.
- Sepúlveda, B. 1996. La Amibiasis Invasora por *Entamoeba histolytica*. Contribuciones Mexicanas al Estudio de la Amibiasis. El Colegio de México. México DF.: 131-193.

- Shibayama, M., Campos-Rodriguez, R., Ramirez, C., Pacheco- Yopez, J., Tsutsumi, V. 2000. Studies on the natural immunity in hamsters using the intraperitoneal model of amebic liver abscess. *Arch Med Res.* 31 (4 Suppl.): S78–S80.
- Shiina, T., Inoko, H., Kulski, J.K. 2004. An update of the HLA genomic region, locus information and disease associations. *Tis Ant.* 64:631.
- Singh, N., Agrawal, S., Rastogi, A.K. 1997. Infectious diseases and immunity: special reference to major histocompatibility complex. *Emerg Infect Dis.* 3(1):41-9.
- Sita, N. 2003. The Human HLA System. *Immunol Rheumatol. J Ind Rheumatol Assoc.* 11: 79-83.
- Stanley, S.L. Jr. 2001. Protective immunity to amebiasis: new insights and new challenges. *J Infect Dis;* 184: 504–506.
- Stanley, S.L., Jr. 2003. Amoebiasis. *Lancet;* 361:1025-1034
- Steinman, R.M., Bonifaz, L., Fujii, S. 2005. The innate functions of dendritic cells in peripheral lymphoid tissues. *Adv Exp Med Biol;* 560: 83–97.
- Tanyuksel, M., Petri, W.A. Jr. 2003. Laboratory diagnosis of amebiasis. *Clin Microbiol Rev.* 16:713-29.
- Terasaki, P.I., McClelland, J.D. 1964. Microdroplet assay of human serum cytotoxins. *Nature.* 204:998-1000.
- Thoma-Uszynski, S., Stenger, S., Takeuchi, O. 2001. Induction of direct antimicrobial activity through mammalian Toll-like receptors. *Science.* 291: 1544–1547.
- Thorsby, E. 1997. Invited anniversary review: HLA associated diseases. *Hum Immunol.* 53:1–11.
- Tiwari, J.L., Tarasaki, P.I. 1985. HLA and Disease Associations. *Springer-Verlag, NewYork.* p. 28
- Tiwari, J.L., Terasaki, P.I. 1985. HLA antigens associated with diseases. In: Anonymous HLA and Disease Associations. *New York Springer* 42–8.

- Underhill, D.M., Ozinsky, A. 2002. Toll-like receptors: key mediators of microbe detection. *Curr Opin Immunol*; 14: 103–110.
- Valenzuela, O., Morán, P., Gómez, A., Cordova, K., Corrales, N., Cardoza, J., Gómez, N., Cano, M., Ximénez, C. 2007. Epidemiology of amoebic liver abscess in Mexico: the case of Sonora. *Ann Trop Med & Parasitol*. 101, 6:533-538.
- Vargas-Alarcón, G., Granados, J., Rodríguez-Pérez, J.M., Parga, C., Pérez-Hernandez, N., Rey, D., Zuñiga, J., Amaiz-Villena, A. 2010. Distribution of HLA class II alleles and haplotypes in Mexican Mestizo population: comparasion with other populations. *Immunol Invest*. 39 (3):268-83.
- Verity, D.H., Wallace, G.R., Vaughan, R.W., Stanford, M.R. 2003. Behçet's disease: from Hippocrates to the third millennium. *Br J Ophthalmol*; 87:1175-1183.
- Vivanco-Cid, H., Alpuche-Aranda, C., Wong-Baeza, I., Rocha-Ramirez, L.M., Rios-Sarabia, N., Estrada-García, I., Villasis-Keever, M.A., López-Macias, C., Isibasi, A. 2007. Lipopeptidephosphoglycan from *Entamoeba histolytica* activates human macrophages and dendritic cells and reaches their late endosomas. *Parasite Immunol*. 29: 467–474.
- Walsh, J.A., Warren, K.S. 1979. Selective primary health. An interim strategy for disease control in developing countries. *New Eng J Med*. 301:967.
- Willhoeft, U., Hamann, L., Tannich, E. 1999. A DNA Sequence corresponding to the gene encoding cysteine proteinase 5 in *Entamoeba histolytica* is present and positionally conserved but highly degenerated in *Entamoeba dispar*. *Infect Immun*. 67:5925-9.
- World Health Organization. 1997. Amoebiasis. *Wkly Epidemiol Rec*. 72:97–100.
- Ximénez, C., 2000. Parasitosis intestinales en México. México: Fundación Mexicana para la Salud. Cuadernos FunSalud (34)
- Ximénez, C., Gómez, A., Melendro, E.I., Rangel, F., Ramiro, M., Ramos, F., Morán, P. 2002. Las parasitosis intestinales en México. Fundación mexicana para la salud.

- A.C. Institución Privada al Servicio de la Comunidad. Cuadernos FunSalud No. 36 p.80.
- Ximénez, C., Morán, P., Ramos, F., Ramiro, M. 2007. Amibiasis intestinal: estado actual del conocimiento. *Med Int Mex.* 23(5):398-407.
- Yeager, M., Hughes, A.L., Evolution of the mammalian MHC: natural selection, recombination, and convergent evolution, *Immunol Rev.* 167 (1999) 45-58.

LISTA DE ABREVIATURAS

AHA. Absceso hepático amibiano

DNA. Ácido desoxirribonucleico

EDTA. Ácido etilendiaminotetraacético

HLA. Antígenos leucocitarios humanos

IFN- γ . Interferón gamma

IL-8. Interleucina 8

IL-12. Interleucina 12

LPPG. Lipopeptidofosfoglicano

MHC. Complejo principal de histocompatibilidad

NF κ B. Factor nuclear κ B

PAMP. Patrones moleculares asociados a patógenos

SDS. Dodecilsulfato sódico

TBE. Tris borato EDTA

TLR. Receptor tipo Toll

TNF- α . Factor de necrosis tumoral alfa