

Importancia de las prostaglandinas en la amibiasis hepática

Blanca Sánchez-Ramírez, Dra en C,⁽¹⁾ Patricia Talamás-Rohana, Dra en C.⁽²⁾

Sánchez-Ramírez B, Talamás-Rohana P.
Importancia de las prostaglandinas en la amibiasis hepática.
Salud Publica Mex 2002;44:247-257.
El texto completo en inglés de este artículo está disponible en: <http://www.insp.mx/salud/index.html>

Sánchez-Ramírez B, Talamás-Rohana P.
The importance of prostaglandins in hepatic amebiasis.
Salud Publica Mex 2002;44:247-257.
The English version of this paper is available at: <http://www.insp.mx/salud/index.html>

Resumen

Las prostaglandinas son importantes mediadores inflamatorios, pero también desempeñan un papel importante como reguladoras de las funciones de los linfocitos y los macrófagos. La inoculación por vía intrahepática o intraportal de trofozoitos viables de *Entamoeba histolytica* en hámsteres se caracteriza por una rápida respuesta inflamatoria aguda, en la cual los trofozoitos amibianos se ven rodeados sucesivamente por leucocitos polimorfonucleares, linfocitos y macrófagos. La incapacidad de estas células para contrarrestar la invasión amibiana ha sido demostrada en varios estudios. La prostaglandina E₂ (PGE₂) tiene potentes efectos sobre las células de la respuesta inmune; su participación durante la formación del absceso hepático se reportó recientemente. En este artículo hacemos una revisión de los hallazgos de los últimos años en relación con el estudio de los mediadores bioquímicos de la inflamación durante la infección con *E. histolytica*, y su posible participación en el establecimiento de la respuesta inmune en el huésped. El texto completo en inglés de este artículo está disponible en: <http://www.insp.mx/salud/index.html>

Palabras clave: *Entamoeba histolytica*; prostaglandinas; prostaglandina-endoperoxido sintasa; citocinas; inflamación

Abstract

Prostaglandins are important mediators of inflammation; they also play a role in the regulation of both lymphocyte and macrophage functions. Hamster's liver lesions resulting from intraportal or intrahepatic inoculation of living *Entamoeba histolytica* trophozoites are characterized by an acute inflammatory response, where trophozoites are successively surrounded by polymorphonuclear leukocytes, lymphocytes, and macrophages. Incapability of these cells to counteract amebic invasion has been demonstrated in some studies. Prostaglandin E₂ (PGE₂) has potent effects on immune cells; its participation in amebic liver abscess has been reported recently. This paper presents a review of recent discoveries on biochemical mediators produced during inflammation due to *Entamoeba histolytica* infection, and their possible role in establishing the host's immune response. The English version of this paper is available at: <http://www.insp.mx/salud/index.html>

Key words: *Entamoeba histolytica*; prostaglandins; prostaglandin-endoperoxide synthase; cytokines; inflammation

La inflamación comprende una serie de eventos complejos que surgen como respuesta del tejido a una agresión local o sistémica (figura 1). La respuesta local resulta en el reclutamiento de células fagocíticas que se encargan de eliminar el material endógeno

o exógeno causante del daño. La respuesta sistémica puede alterar el micromedio ambiente para facilitar que este proceso se lleve a cabo. Debido a la cantidad de mediadores bioquímicos que participan en este proceso y la cantidad de células sobre las cuales influyen, se

(1) Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Chihuahua, Chihuahua, México.

(2) Departamento de Patología Experimental, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados-Instituto Politécnico Nacional. México, D.F., México.

Fecha de recibido: 15 de junio de 2001 • Fecha de aprobado: 17 de noviembre de 2001

Solicitud de sobretiros: Dra. Patricia Talamás-Rohana, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados (Cinvestav)-Instituto Politécnico Nacional (IPN).

Departamento de Patología Experimental, Avenida Instituto Politécnico Nacional # 2508, colonia San Pedro Zacatenco 07360 México, D.F., México.

Correo electrónico: ptr@mail.cinvestav.mx

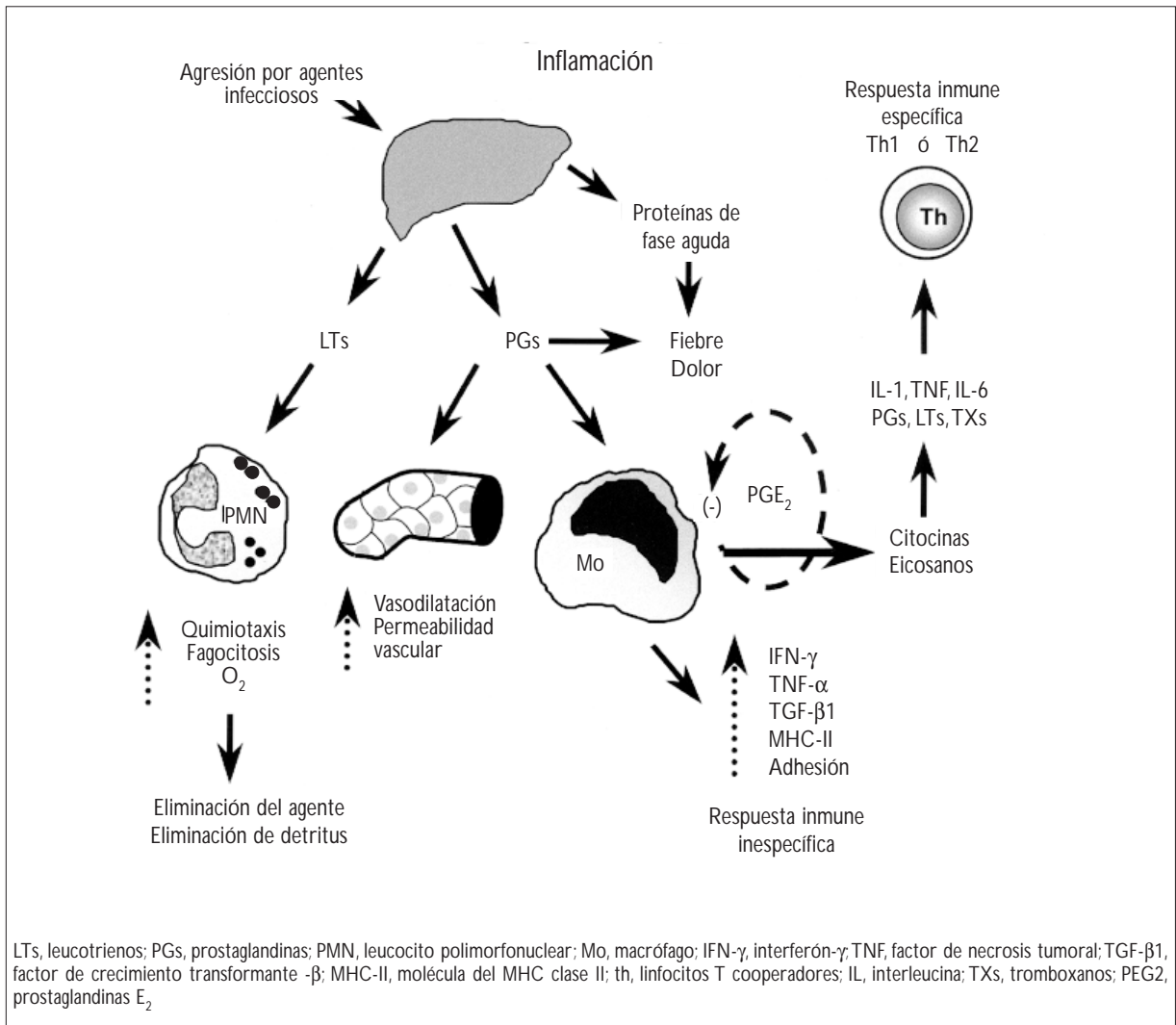


FIGURA 1. REPRESENTACIÓN ESQUEMÁTICA DE LOS PRINCIPALES EVENTOS QUE SE DESARROLLAN DURANTE LA INFLAMACIÓN. LOS EFECTOS DE MEDIADORES DEL TIPO DE LAS PGs Y LOS LTs RESULTAN EN EL INCREMENTO DE LA QUIMIOTAXIS Y LA FAGOCITOSIS DE LOS PMNs, CON LA CONSECUENTE ELIMINACIÓN DEL AGENTE CAUSAL DE LA INFLAMACIÓN. LA ACTIVACIÓN DE LOS MOS PERMITE EL ESTABLECIMIENTO DE UNA RESPUESTA INMUNE ESPECÍFICA MEDIANTE LA COOPERACIÓN CON LOS SUBGRUPOS DE LINFOCITOS T COOPERADORES (Th). EL MICROMEDIO AMBIENTE PUEDE CONDICIONAR UNA RESPUESTA DE TIPO Th1 O Th2 DE ACUERDO CON LAS CARACTERÍSTICAS DEL AGENTE CAUSAL.

requiere de una estricta regulación para su control efectivo. Los cambios en el flujo sanguíneo, debidos a la vasodilatación del músculo liso, y las alteraciones en la permeabilidad vascular, promovidas por la contracción del citoesqueleto de las células endoteliales, favorecen la migración de leucocitos fagocíticos al sitio de la lesión (quimiotaxis). A su vez, la fagocitosis promueve la eliminación de microorganismos y la digestión de detritus celulares causantes de la infla-

mación, lo que permite la proliferación de las células del tejido conectivo y la reparación de la matriz extracelular. La inflamación puede iniciarse a partir de muy diversas vías: traumas en el tejido, la presencia de complejos inmunes, productos derivados de bacterias, virus o parásitos e, incluso, por la actividad de células tumorales o fagocíticas. La progresión de la inflamación de su fase aguda a crónica es importante, ya que ésta puede dañar el tejido del huésped a través

de la producción, por los fagocitos,¹ de proteasas y radicales del oxígeno.

En el caso de la infección hepática por *Entamoeba histolytica*, agente causal de la amibiasis, los hallazgos en necropsias señalaron la ausencia relativa de inflamación,² motivo por el cual se asoció el daño encontrado en el tejido hepático con la actividad citolítica del parásito. No obstante, las evidencias obtenidas de estudios realizados en animales experimentales susceptibles a la infección hepática, ya sea por inoculación intraportal o intrahepática, han demostrado que el contacto de los trofozoitos amibianos con el tejido hepático promueve una fuerte reacción inflamatoria.^{3,4} Asimismo, estudios de ultraestructura de los primeros eventos de invasión de las amibas a la mucosa intestinal, revelaron la presencia de infiltración inflamatoria con lisis de leucocitos polimorfonucleares (PMNs), la cual fue atribuible tanto a las bacterias existentes en el lumen intestinal como a las amibas.⁵ Finalmente, el uso del modelo de asa cecal lavada y cerrada, permitió observar que el reclutamiento y la lisis de PMNs, así como el daño a la pared intestinal, pueden ocurrir en ausencia de la flora bacteriana y que el principal elemento citolítico en este estudio fueron los trofozoitos amibianos.⁶ Adicionalmente, la capacidad de los trofozoitos de *E. histolytica* para inmovilizar y destruir células, sobre todo PMNs, linfocitos y macrófagos, ha sido ampliamente demostrada *in vitro*.^{7,8}

Sin embargo, aunque varios estudios fueron concluyentes en cuanto a la incompetencia de los PMNs para eliminar los trofozoitos amibianos, el papel de los mediadores inflamatorios liberados por estas células y otras, presentes en el tejido hepático, así como su efecto en el establecimiento de la respuesta inmune del huésped, no se contempló hasta hace unos años.

Panorámica del metabolismo del ácido araquidónico

La síntesis de los mediadores inflamatorios se puede resumir en tres fases (figura 2): 1) movilización del ácido araquidónico (AA) desde los fosfolípidos de la membrana celular, mediada por la actividad de la enzima fosfolipasa A₂ (PLA₂); 2) la conversión a endoperóxidos de prostaglandina PGG₂ y PGH₂, mediante la acción de una enzima ciclooxigenasa (COX, también denominada prostaglandin endoperóxido sintasa); y 3) la isomerización o reducción del endoperóxido PGH₂ hacia una serie de derivados biológicamente importantes, como son las prostaglandinas de la serie E (PGE₂), D (PGD₂), F (PGF_{2α}), prostaciclina (PGI₂) y tromboxanos (TXA₂), lo cual requiere la acción de enzimas sintasas específicas. El AA libre también puede ser movilizado hacia la producción de leucotrienos (LTs) y otros ácidos hidroxieicosatetranoicos (HETEs), a través de la acción de una enzima lipooxi-

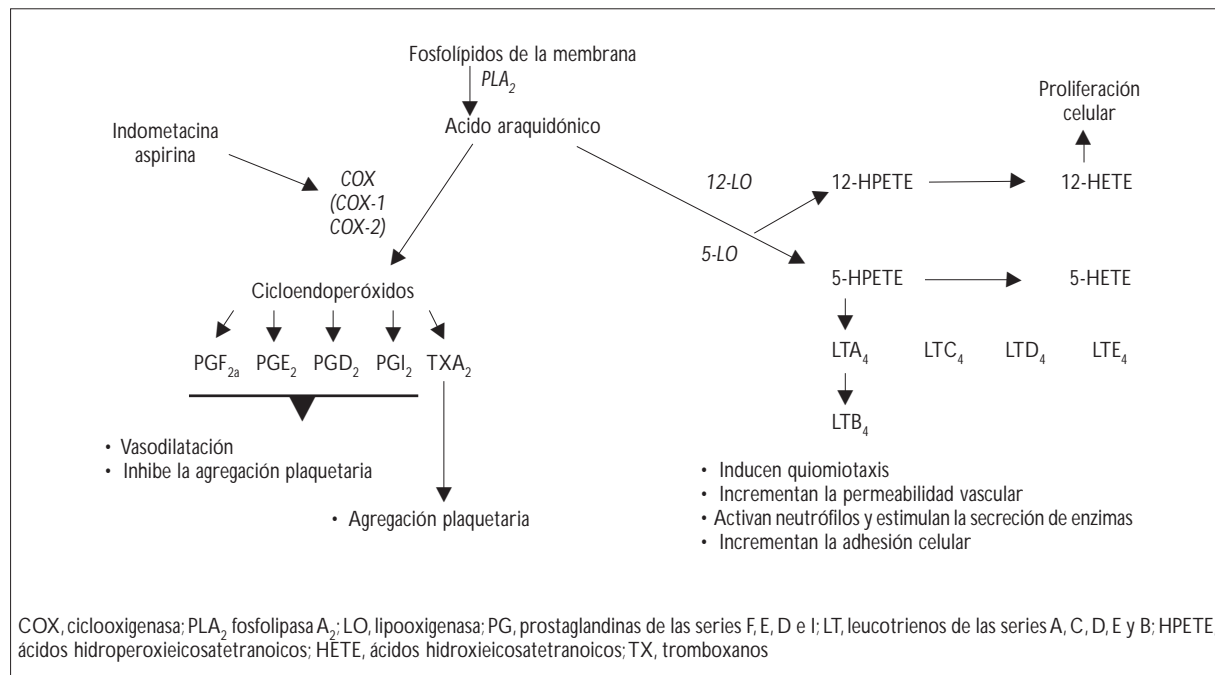


FIGURA 2. REPRESENTACIÓN ESQUEMÁTICA DEL METABOLISMO DEL ACIDO ARAQUIDÓNICO Y SUS PRINCIPALES EFECTOS

genasa (LO).⁹ Todos estos compuestos contribuyen a la formación del exudado vascular debido al efecto vasodilatador de las PGs y al aumento del infiltrado celular mediado por la actividad quimiotáctica de los LTs del tipo B₄ (LTB₄).¹

Se ha demostrado la existencia de al menos dos isoformas de la enzima COX: una forma constitutiva denominada COX-1, la cual participa en el mantenimiento de las condiciones fisiológicas homeostáticas; y una forma inducible denominada COX-2.¹⁰ COX-1 es una enzima glicoproteica con peso molecular de 70 kDa; se expresa en forma diferencial en las diversas células y tejidos de los mamíferos; su regulación obedece principalmente a la actividad hormonal y se le localiza en el nivel del retículo endoplásmico.^{11,12} En contraste, la expresión de la enzima COX-2 parece estar limitada a unos cuantos tipos celulares como macrófagos,¹³ fibroblastos,¹⁴ células endoteliales,¹¹ células de Kupffer¹⁵ y, bajo ciertos estímulos, PMNs¹⁶ y linfocitos T.¹⁷ Niveles relativamente bajos del mRNA para COX-1 y COX-2 se han demostrado en varios tejidos mientras que, bajo la acción de agonistas específicos, los niveles de expresión del mRNA de COX-2 se incrementan en forma dramática y selectiva.¹¹ Estas enzimas presentan una homología aproximada de 60% (considerando las variaciones entre especie) de acuerdo con las secuencias de aminoácidos. Las principales diferencias se localizan en los extremos amino y carboxilo terminal, por lo cual los sitios de acetilación para la hCOX-1 (Ser 529) y hCOX-2 (Ser 516), ambos cercanos al extremo carboxilo terminal, son sitios altamente conservados, de lo cual se desprende que ambas enzimas sean susceptibles a la inhibición mediante el uso de agentes antiinflamatorios no esteroideos (NSAIDs) como la aspirina, la indometacina (Indo) y fluribuprofeno. A la fecha se han reportado nuevos compuestos con actividad antiinflamatoria específica para cada una de las isoenzimas.⁹ Entre los agonistas encontrados para COX-2 se pueden mencionar citocinas (IL-1), mitógenos y factores de crecimiento (factor de crecimiento derivado de plaquetas, PDGF), lipopolisacáridos (LPS), ésteres de forbol (PMA, TPA) e inclusive la propia PGE₂, por lo cual esta isoforma parece estar más involucrada con la generación y el mantenimiento de la respuesta inflamatoria.^{11,13-17}

Hallazgos recientes reportan la existencia de diferentes enzimas sintasas de PGE₂ acopladas a cada isoenzima COX.¹⁸ La enzima prostaglandina E sintasa citosólica (cPGES), también denominada p23, es expresada en forma constitutiva y ubicada en el citosol de casi todas las células y tejidos, y está asociada predominantemente con la actividad de COX-1. En tanto que la enzima prostaglandina E sintasa microsomal (mPG-

ES o PGES-₂), es una enzima perinuclear fuertemente asociada con células relacionadas con la respuesta inflamatoria, y en cuya funcionalidad se observó una marcada preferencia por COX-2.¹⁸

Efectos inmunomoduladores de la PGE₂

Los derivados del AA actúan sobre muchos tipos de células y sus funciones son, por lo tanto, demasiado amplias para abarcarlas en su totalidad. Los efectos de la PGE₂ son de particular importancia, debido a su acción sobre las células de la respuesta inmune, en particular sobre linfocitos y macrófagos. En el cuadro I se resumen algunos de los principales efectos sobre estos tipos celulares.

Adicionalmente, existe una estrecha relación entre las actividades de la PGE₂ y algunos otros factores de la respuesta inmune, como son el óxido nítrico (NO) y el factor de necrosis tumoral (TNF- α). Se ha reportado que la PGE₂ tiene la capacidad de regular la ex-

Cuadro I
EFECTOS DE LA PGE₂ SOBRE LINFOCITOS
Y MACRÓFAGOS

Tipo celular*	Función biológica	Ref.
LB	Inhibición de la proliferación y de la producción de anticuerpos Sinergia con la IL-4 para inducir el cambio de IgG1 a IgE	19 19, 20
LTh1	Inhibición de la proliferación, mediada por una disminución en la producción de IL-2 e IFN- γ Regulación de la actividad de la IL-2 a través de la regulación de la expresión del mRNA para la IL-2 y del IL-2R α	21, 22 22, 23
LTh2	Contribuye a la proliferación de este tipo celular, a través de la producción de IL-4 e incrementando la secreción de IL-5	21
Mos	Bloquea los mecanismos de activación mediante la disminución en la producción de IFN- γ por los LTh1 Inhibición de la producción de IL-12 y por ende de la actividad citolítica del macrófago y de las células NK Inhibición de la motilidad y fagocitosis <i>in vitro</i> ; disminución de la actividad tumoricida mediada por IFN- γ ; e inhibición de la respuesta contra antígenos timo-dependientes <i>in vitro</i> Inhibición de la producción dosis-dependiente de IL-1 en macrófagos estimulados <i>in vitro</i> con LPS	21, 24 25 26 27
CE	Inhibición de la migración transendotelial de células T y de células endoteliales dependiente del incremento en los niveles de AMPc	28

* Abreviaturas: LB, linfocito B; LTh1, linfocito T cooperador del subgrupo 1; LTh2, linfocito T cooperador del subgrupo 2; Mos, macrófagos; CE, células endoteliales; NK, células asesinas naturales

presión de la enzima óxido nítrico sintasa (inducible) en forma dosis dependiente, ya que en líneas celulares de macrófagos J774 los LPS, en bajas dosis, inducen concentraciones insignificantes de PGE₂ endógena, con secreción de NO; en tanto que, a dosis altas, los LPS generan niveles elevados de PGE₂ que inhiben la liberación de NO.²⁹ Asimismo, altos niveles de PGE₂ bloquean la producción de TNF- α y generan la acumulación del mRNA del TNF- α , lo cual a su vez podría ejercer efectos negativos sobre la síntesis de NO.³⁰

Por otra parte, la expresión de las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad clase II (MHC-II) en la superficie de los macrófagos de roedor, es un proceso altamente regulado dada su relevancia en la respuesta inmune y en la inflamación.³¹ La expresión de esta molécula es inducida por factores como el IFN- γ , mientras que algunos agentes como el IFN- $\alpha\beta$, los LPS y las PGE₂ tienen la capacidad de inhibir el efecto inductor del IFN- γ ; en el caso particular de la PGE₂ se inhibe tanto la expresión de las moléculas MHC-II, como la transcripción del gen,³² lo cual limita la capacidad cooperadora del macrófago.

Los macrófagos son la principal fuente de prostaglandinas en el sitio de la inflamación. Aunque éstas tienen una vida media muy corta, sus efectos *in vivo* se manifiestan principalmente en forma autocrina y paracrina sobre las células presentes en la lesión. Al ser la enzima COX-2 inducible, puede ser regulada por varios factores y varios tipos celulares presentes durante la inflamación, tal es el caso de la IL-4, la IL-10 y la IL-17. Aunque las primeras se consideran citocinas antiinflamatorias, recientemente se descubrió que parte de estos efectos se deben a que ambas inhiben la producción de citocinas proinflamatorias como la IL-1 (α y β), el TNF- α , la IL-6 y la IL-8.¹⁶ Adicionalmente, incrementan la producción del receptor antagonista de la IL-1 (IL-1 α), el cual posee *per se* un efecto antiinflamatorio.³³ Asimismo, la IL-4 y la IL-10 inhiben la producción de PGE₂ a nivel de la expresión del mRNA de COX-2 en neutrófilos,¹⁶ y en macrófagos humanos,³³ en los cuales también se detectó un efecto similar por acción de la IL-13.³⁴ Por su parte, la IL-17, una citocina descrita recientemente³⁵ y la cual es producida únicamente por células T de memoria, muestra una actividad estimuladora sobre diversos tipos celulares como los macrófagos,³⁶ fibroblastos^{37,38} y sinoviocitos.³⁸ Al respecto se ha demostrado que la IL-17 estimula la producción de TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-12, PGE₂ e IL-1 α en macrófagos,³⁶ asimismo, induce la producción de IL-6, IL-8, factor estimulador de colonias de granulocitos (G-CSF), incrementa la expresión de la molécula de adhesión intracelular 1 (ICAM-1) y la producción de PGE₂ en sinoviocitos y fibroblastos hu-

manos.^{35,38} La desactivación de ese proceso estimulador mediado por IL-17, se lleva a cabo muy probablemente gracias a los efectos de la IL-4 y la IL-10, ya que estas citocinas revierten la acción estimuladora de la IL-17 en cuanto a la producción de IL-1 β y de TNF- α .^{36,38} Adicionalmente, el TNF- α incrementa la capacidad de producción de PGE₂ a través de la expresión del gen y de la proteína de COX-2.³⁹ Por el contrario, el IFN- γ , una citocina del subgrupo cooperador Th1, carece de efecto sobre la expresión de COX-2.³⁴

Evidencias sobre los efectos inmunomoduladores de la PGE₂ en modelos *in vivo* han sido encontradas en diversos tipos de infecciones, tanto por bacterias como por parásitos. Estos estudios han demostrado que los macrófagos de ratones infectados con *Mycobacterium intracellulare* producen altos niveles de PGE₂, lo cual suprime su actividad, inhibiendo la liberación de citocinas específicas.⁴⁰ De igual manera, se ha demostrado que el tratamiento con Indo, IFN- γ , o una combinación de ambos, contribuye a la resolución de la infección tanto por *Mycobacterium intracellulare*⁴⁰ como por *Brucella abortus*,⁴¹ y que en todos los casos se observa el restablecimiento de la actividad de los macrófagos. En el caso de infecciones por levaduras se ha descrito que *Candida albicans* tiene la capacidad de estimular la producción de eicosanoides (principalmente PGI₂) en células endoteliales,⁴² la cual participa en la regulación de la respuesta inmune contra este patógeno. Además, recientemente se demostró la capacidad del *Cryptococcus neoformans* y de la *Candida albicans* para producir PGE₂.⁴³ En el caso de los parásitos, diversos estudios han revelado que una gran cantidad de ellos tienen la capacidad de producir PGE₂,⁴⁴ la cual es utilizada para regular la respuesta inmune del huésped y favorecer el proceso de invasión por el parásito.⁴⁵⁻⁴⁷

Las prostaglandinas y la respuesta inmune en la amibiasis

En el curso de la infección amibiana existe un estado de inmunosupresión que se caracteriza por la incapacidad del macrófago para inhabilitar y destruir al parásito. Este estado de anergia puede ser regulado por el parásito o bien, ser el resultado de los propios mecanismos de defensa del huésped. Debido a la invasión del tejido por el parásito son liberados al medio ambiente local una variedad de mediadores locales del tipo del TNF, la IL-1, probablemente la IL-6 y el factor activador de plaquetas (PAF). La acción combinada de estos factores causa fiebre y leucocitosis, por lo cual se ven involucrados en la generación de la sintomatología de la infección.⁴⁸ Algunos de estos compuestos

son potentes activadores de la enzima PLA₂ y generan mediadores, como el mismo PAF, PGs, LTs, TXs, y metabolitos reactivos del oxígeno, además de moléculas con actividad bactericida o enzimas lisosomales, influyendo en forma importante sobre el sistema inmune.⁴⁹ Aunque la liberación de estos agentes juega un papel básicamente protector para la homeostasis del tejido,⁵⁰ puede contribuir al establecimiento de ciertos agentes infecciosos.

En la infección hepática con *E. histolytica* la liberación de estos factores probablemente sea la causa de la enorme concentración de células inflamatorias, sobre todo PMNs, que rodean al parásito desde los primeros minutos de su instalación en el tejido hepático. Algo similar ocurre durante la infección intestinal por este parásito, en la cual la mucosa intestinal presenta inflamación y acumulación de PMNs en la lámina propia. Posterior a la depleción de la capa de moco los trofozoitos se adhieren a las células epiteliales y, previa lisis de las mismas, proceden a invadir el tejido.⁵⁰

La producción de citocinas proinflamatorias del tipo de la IL-8 ha sido estudiada *in vitro*, utilizando la línea celular T84 de adenocarcinoma de colon. En este modelo se demostró que la interacción del parásito con componentes de secreción, proteínas solubles y el contacto célula-célula, induce la producción de altos niveles del mRNA de la IL-8.⁵¹ Adicionalmente, la producción de IL-1 e IL-8 por células del epitelio intestinal, en respuesta a la interacción con trofozoitos y proteínas del parásito, ha sido confirmada *in vivo* e *in vitro*.^{52,53} La naturaleza de los factores amibianos que inducen la producción de estas citocinas no ha sido aclarada en su totalidad. Sin embargo, McGowan y colaboradores⁵⁴ comprobaron que extractos proteicos de trofozoitos amibianos inducen cambios en el transporte de electrolitos en la mucosa intestinal, y que éstos están relacionados con la producción de PGE₂, ya que el uso de inhibidores de la enzima COX (Indo y piroxicam) anula parcialmente el efecto del extracto amibiano.⁵⁴ Esto sugiere que la inducción de la actividad de la enzima COX (cualquiera de las dos isoenzimas) y la consecuente producción de PGE₂, podrían ser en parte inducidas por la IL-1, la IL-8, o bien por proteínas del parásito. Sin embargo, trabajos concluyentes a este respecto no se conocen.

Por otro lado, la infección con *E. histolytica* induce la producción de anticuerpos del tipo IgG, IgA e IgM contra un repertorio variable de antígenos. El papel de estos anticuerpos *in vivo* como parte de los mecanismos de defensa no es claro e, incluso, se sugiere que éstos podrían contribuir a la presentación de fe-

nómenos de inmunosupresión,⁵⁵ hipersensibilidad y daño por depósito de complejos inmunes.^{56,57} Adicionalmente, estudios de inmunización realizados con la subunidad de 170 kDa de la lectina de adherencia inhibible por galactosa mostraron una eficiencia de 67% en la prevención de la formación de absceso hepático amibiano en modelos experimentales, sin encontrarse correlación entre los títulos de anticuerpos desarrollados contra la lectina y la inmunidad protectora.⁵⁸ Como criterio diagnóstico, la respuesta humoral tampoco es muy relevante, ya que ni la positividad ni el título de anticuerpos muestran correlación con la severidad de la infección, y no es posible discriminar entre un contacto reciente o una respuesta de memoria.⁵⁹ La relación entre los niveles e isotipos de anticuerpos que se producen en el huésped durante la infección con *E. histolytica* y los niveles de PGE₂, no ha sido descrita hasta ahora.

En cuanto a la respuesta inmune celular, los primeros estudios sobre la actividad de los macrófagos contra antígenos de *E. histolytica* se hicieron en leucocitos de pacientes con absceso hepático amibiano; los resultados mostraron una disminución en la producción de factor inhibidor de la migración (MIF), mismo que se restableció después del tratamiento y recuperación del paciente.⁶⁰ Estudios sobre amibiasis experimental, efectuados en modelos animales, mostraron una baja respuesta en pruebas de hipersensibilidad tardía, aun en aquellos que presentaron altos títulos de anticuerpos.⁶¹ Adicionalmente, al estimular la producción de MIF en los macrófagos se aborta el estado de inmunosupresión, lo cual sugiere que la respuesta podría ser modulada por el parásito o por mecanismos intrínsecos al huésped; además, linfocitos de sangre periférica, células de bazo y macrófagos peritoneales de hámsteres inmunizados, poseen actividad amebicida *in vitro*,^{60,62-64} mientras que *in vivo* son incapaces de eliminar al trofozoito. La presencia de ciertos factores en el suero de pacientes con amibiasis hepática puede suprimir la actividad de macrófagos de individuos normales contra el parásito *in vitro*,⁶⁵ la naturaleza de estos "factores" no ha sido descrita a la fecha. Por otra parte, la relación entre la anergia de los macrófagos y el incremento de la susceptibilidad ha sido demostrada en modelos de amibiasis hepática en ratones atímicos,⁶⁶ depletados de macrófagos con antisueros específicos, o mediante el uso de silica.⁶⁷ Finalmente, estudios hechos en jerbos mostraron que los macrófagos presentes en el absceso hepático amibiano se encuentran fuertemente inhibidos en su potencial cooperador y en sus funciones efectoras, caracterizadas por deficiencias en la generación del estallido

respiratorio, una baja producción de reactivos intermediarios del oxígeno y una baja respuesta a citocinas inflamatorias, como la IL-1.⁶⁸

La participación de los metabolitos del AA en los mecanismos que bloquean la activación de los macrófagos fue posteriormente demostrada por varios estudios en jerbos. Se observó que los macrófagos aislados del absceso hepático (AMos), y macrófagos peritoneales estimulados con extractos proteicos de *E. histolytica*, o interaccionados con el parásito, producen concentraciones elevadas de PGE₂ y LTC₄.⁶⁹ Adicionalmente, se ha demostrado que el decremento en la producción de TNF en AMos involucra un mecanismo mediado por PGE₂, ya que el pretratamiento de las células con Indo o con IFN-γ restablece la producción de TNF.⁷⁰ En forma similar, se ha presentado evidencia de que la PGE₂ está involucrada en una disminución de la expresión del mRNA y de la síntesis de moléculas del MHC-II en el ratón.⁷¹ Estudios específicos sobre la actividad de *E. histolytica* y sobre la expresión de algunos genes, mostraron un incremento en la expresión del TNF-α, IL-1α/β y c-fos en macrófagos de médula ósea por exposición de éstos a extractos crudos de trofozoitos amibianos.^{70,72}

Estudios que utilizaron como modelo el hámster, mostraron que el proceso de formación del absceso hepático amibiano cursa con una elevación significativa de los niveles de PGE₂ plasmática.⁷³ La relación entre el incremento de PGE₂ plasmática y el patrón Th1 o Th2 en este modelo no se ha establecido a la fecha. Sin embargo, la inhibición de la síntesis de PGs mediante el tratamiento de los hámsteres con Indo redujo en 30 y 18% el peso del absceso y del hígado, respectivamente. La actividad de la enzima COX en fracción microsomal, obtenida de porciones lejanas (aparentemente sanas) y cercanas al absceso de animales infectados tratados o no con Indo, mostró una actividad menor en las zonas cercanas y un incremento de 150% en las zonas alejadas, con respecto al tejido hepático normal sin infectar.⁷³ Estos resultados permiten sugerir que un incremento en la actividad de COX-2, inducida por el parásito durante el proceso de invasión, podría favorecer el proceso inflamatorio; interesante-mente, reportamos recientemente que AMos expresan la enzima COX-2.⁷⁴ Estudios, mediante inmunohistoquímica, en cortes de hígado de hámster infectado, revelaron que, tanto los macrófagos adyacentes a los trofozoitos amibianos, como aquellos macrófagos presentes en los espacios portales de zonas lejanas al absceso hepático, y en ausencia de trofozoitos, expresan la enzima COX-2.⁷⁴ Los trofozoitos amibianos también expresaron en forma constante la presencia de COX-2, lo cual coincide con informes anteriores sobre

la presencia de una enzima ciclooxigenasa y la producción de PGE₂ por *E. histolytica*.^{44,75} Estos resultados apoyan la posibilidad de que las PGs estén involucradas en el mantenimiento del proceso inflamatorio y que participen en la inmunosupresión de la actividad del macrófago, así como en la evasión de la respuesta inmune. Sin embargo, se desconoce si la expresión de la enzima es dependiente del contacto macrófagos-trofozoitos, o si es inducida por los productos de secreción del parásito, ya sean Ags específicos, o producto de la actividad de la PLA₂.

Por otra parte, diversas vías metabólicas llevan a la liberación de AA, entre otras, la actividad de la PLA₂, considerándose esta última como la de mayor importancia en la regulación de la biosíntesis de PGs en el macrófago.⁷⁶ La síntesis de *novoo* de la COX-2 en diferentes tipos celulares tiene correlación con el incremento en la producción de PGE₂, mientras que en otros tipos celulares este incremento está asociado con un aumento en la actividad de la PLA₂. En *E. histolytica* se han reconocido dos enzimas fosfolipasas de tipo A, las cuales están involucradas en los mecanismos de citólisis de las células blanco por el parásito.^{77,78} La posible participación de las enzimas PLA₂ de *E. histolytica* en los mecanismos de inducción de COX-2, para incrementar la biosíntesis de PGE₂, aún no ha sido estudiada.

Adicionalmente, un gran número de estudios han demostrado que los metabolitos derivados del oxígeno (O₂- y H₂O₂) y moléculas efectoras no oxidativas del tipo del TNF-α y NO se encuentran regulados durante la infección con este parásito. Prueba de ello es que *in vitro* la activación de macrófagos, mediada por citocinas, puede culminar en la muerte del parásito a través de mecanismos dependientes de H₂O₂ y proteasas. Sin embargo, macrófagos tratados con extractos de proteínas amibianas y posteriormente activados con IFN-γ o LPS, presentaron un decremento significativo en su citotoxicidad, acompañado de una disminución en la producción de TNF-α y de los niveles de expresión del mRNA para la óxido nítrico sintasa (iNOS), con respecto a aquellos que no tuvieron contacto con las proteínas amibianas. La inhibición de la producción de PGE₂ aumentó la producción de TNF-α y la capacidad citolítica de los macrófagos, sin embargo, no tuvo efecto sobre los niveles de expresión de iNOS.⁷⁹ Estudios posteriores revelaron que la producción del NO, y la expresión de iNOS en los macrófagos interaccionados con proteínas de *E. histolytica*, es regulada por un mecanismo mediado por el factor transformante de crecimiento β₁ (TGF-β1).⁸⁰ El TGF-β1 se ha asociado con una regulación negativa de las funciones del macrófago, tanto *in vivo* como *in vitro*. Esta citocina disminuye

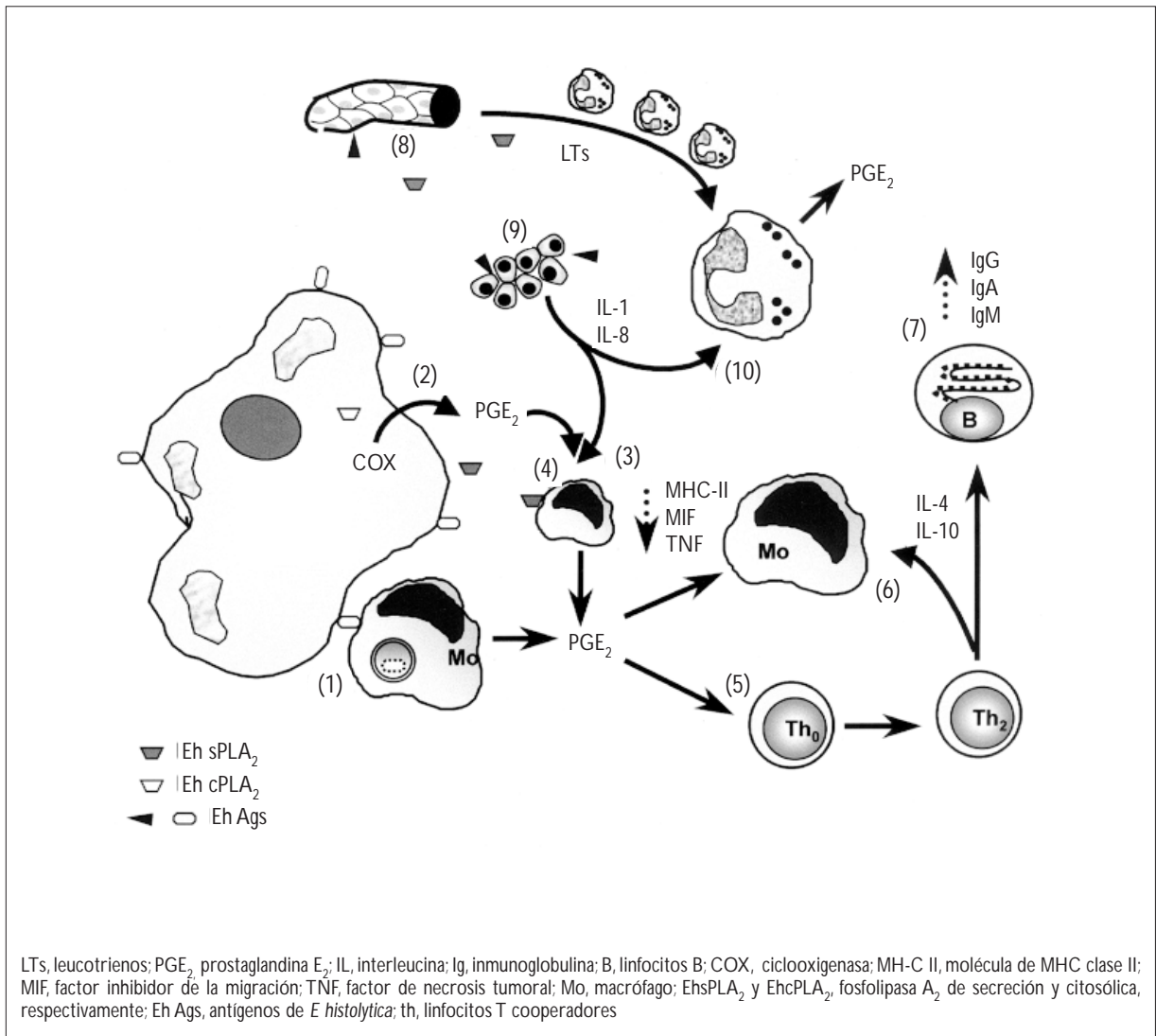


FIGURA 3. REPRESENTACIÓN ESQUEMÁTICA DE LOS ELEMENTOS INVOLUCRADOS EN LA PRODUCCIÓN DE PGE₂ DURANTE LA INFECCIÓN HEPÁTICA CON *E. HISTOLYTICA*. (1) LA INGESTIÓN DE ANTÍGENOS DE *E. HISTOLYTICA* (EH Ags) O (2) LA PRODUCCIÓN DE PGE₂ POR EL PARÁSITO, PUEDE DAR COMO RESULTADO (3) UNA DISMINUCIÓN EN LA PRODUCCIÓN DE TNF, Y MIF, AUNADA A UNA BAJA EN LA EXPRESIÓN DE MOLÉCULAS DEL MHC CLASE II. (4) LA ACCIÓN DE ENZIMAS FOSFOLIPASAS A₂ (EH sPLA₂) DE SECRECIÓN PUEDE, ASIMISMO, ESTIMULAR LA PRODUCCIÓN DE PGE₂ EN LOS MOS DISMINUYENDO SU ACTIVIDAD. (5) LA PGE₂ PRESENTE EN EL MICROMEDIO AMBIENTE PUEDE REGULAR LA RESPUESTA DE CÉLULAS TH HACIA EL DESARROLLO DE SUBGRUPOS TH2, CON PRODUCCIÓN DE IL-4 E IL-10, LO CUAL (6) DISMINUYE LA CAPACIDAD CITOLÍTICA DEL Mo, (7) E INCREMENTA LA PRODUCCIÓN DE ANTICUERPOS IgG1, IgA E IgM POR LAS CÉLULAS B. POR SU PARTE, (8) EH Ags LIBERADOS EN EL SITIO DE LA LESIÓN ESTIMULAN LA PRODUCCIÓN DE LTs, LOS CUALES FAVORECEN LA QUIMIOTAXIS DE MOS Y PMNs. (9) LA PRODUCCIÓN DE IL-1 E IL-8 INCREMENTA LA PRODUCCIÓN DE PGE₂ POR LOS MOS Y (10) POR LOS PMNs PRESENTES EN LA LESIÓN. COX, CICLOOXIGENASA; sPLA₂ Y cPLA₂, FOSFOLIPASA A₂ DE SECRECIÓN Y CITOSÓLICA RESPECTIVAMENTE; EH, *E. HISTOLYTICA*; MIF, FACTOR INHIBIDOR DE LA MIGRACIÓN; TNF, FACTOR DE NECROSIS TUMORAL; MHC-II, MOLÉCULA DEL MHC CLASE II; TH, LINFOCITOS T COOPERADORES

la producción de otras monocinas como IL-1 y la IL-6, reduce la producción de H_2O_2 y de NO en macrófagos estimulados con LPS y ésteres de forbol, y menoscaba la actividad citolítica de los macrófagos sobre amastigotes de *Leishmania major* y *Trypanosoma cruzi*, y esquistosomas de *Schistosoma mansoni*.⁸¹ Hasta hoy no se ha demostrado que la PGE_2 o algún otro derivado del AA, esté involucrado en la regulación del TGF- β 1.

Por otra parte, los antígenos de *E. histolytica* que inducen la producción de eicosanoides no han sido identificados o purificados. En resumen, podemos concluir que los niveles de PGs, producidos por las células inflamatorias del huésped (principalmente por la estimulación de COX-2) estimuladas por los antígenos del parásito (ya sean PLAs o las mismas PGs), pueden regular en forma negativa la actividad de los macrófagos locales y mermar su capacidad citolítica sobre el parásito. En la figura 3 se representan algunos de los principales elementos involucrados en la producción de PGE_2 durante la infección hepática con *E. histolytica*. Los LTs, que son considerados como mediadores proinflamatorios, pueden a través de su actividad quimiotáctica, participar en el reclutamiento de un enorme número de leucocitos PMNs. En consecuencia, los PMNs pueden atraer a un mayor número de macrófagos hacia los sitios de invasión, en los cuales existe un medio ambiente supresor dada la alta concentración de PGs (ya sean derivadas del huésped o del parásito). La continuación de este proceso y otros metabolitos del AA en el reclutamiento y quimiotaxis de PMNs hacia el sitio de la lesión, la participación de estos elementos en el establecimiento de la respuesta inmune celular y, en particular, en el establecimiento de una respuesta de tipo Th2, son entre otras, preguntas que están por aclarar.

La caracterización de las COXs y de las moléculas que intervienen en su activación, así como la función que estas enzimas y los eicosanoides derivados de ellas tienen en la fisiología del parásito, pueden ser la clave para el desarrollo de inhibidores específicos que contribuyan al desarrollo de una nueva terapéutica de la amibiasis hepática.

Referencias

- Evans SW, Whicher JT. An overview of the inflammatory process. En: Whicher JT, Evans SW, ed. Biochemistry of inflammation. Londres: Kluwer Academic Publishers, 1992:1-17.
- Councilman WT, Lafleur HA. Amoebic dysentery. Johns Hopkins Hosp Rep 1891;2:395-548.
- Tsutsumi V, Mena-López R, Anaya-Velázquez F, Martínez-Palomo A. Cellular bases of experimental amoebic liver abscess formation. Am J Pathol 1984; 117:81-91.
- Chadee K, Meerovitch E. The pathogenesis of experimentally induced amoebic liver abscess in gerbil (*Meriones unguiculatus*). Am J Pathol 1984; 117:71-80.
- Griffin JL. Human amoebic dysentery. Electron microscopy of *Entamoeba histolytica* contacting, ingesting, and digesting inflammatory cells. Am J Trop Med Hyg 1972;21:895-906.
- Martínez-Palomo A, Tsutsumi V, Anaya-Velázquez F, González-Robles A. Ultrastructure of experimental intestinal invasive amoebiasis. Am J Trop Med Hyg 1989;41(3):273-279.
- Guerrant RL, Brush J, Ravdin JI, Sullivan JA, Mandell GL. Interaction between *Entamoeba histolytica* and human polymorphonuclear neutrophils. J Infect Dis 1981;143:83-93.
- Salata RA, Ravdin JI. Review of the human immune mechanisms directed against *Entamoeba histolytica*. Rev Infect Dis 1986;8(2):269-273.
- Vane JR, Botting RM. A better understanding of anti-inflammatory drugs based on isoforms of cyclooxygenase (COX-1 and COX-2). Adv Prostaglandin Thromb Leuk Res 1995;23:41-48.
- Holtzman MJ, Turk J, Shornick LP. Identification of a pharmacologically distinct prostaglandin H synthase in cultured epithelial cells. J Biological Chem 1992;267:21438-21445.
- O'Neill GP, Ford-Hutchinson AW. Expression of mRNA for cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 in human tissues. FEBS Lett 1993;330:156-160.
- Spencer AG, Woods JW, Arakawa T, Singer II, Smith WL. Subcellular localization of prostaglandin endoperoxide H synthases 1 and 2 by immunoelectron microscopy. J Biol Chem 1998;273:9886-9893.
- O'Sullivan MG, Huggins Jr EM, Meade EA, DeWitt DL, McCall CE. Lipopolysaccharide induces prostaglandin H synthase-2 in alveolar macrophages. Biochem Biophys Res Commun 1992;187:1123-1127.
- Kujubu DA, Fletcher BS, Varnum BC, Lim RW, Herschman HR. TIS10, a phorbol ester tumor promoter-inducible mRNA from Swiss 3T3 cells, encodes a novel prostaglandin synthase/cyclooxygenase homologue. J Biol Chem 1991;266:12866-12872.
- Zhang F, Warskulat U, Wettstein M, Schreiber R, Henninger HP, Decker K et al. Hyperosmolarity stimulates prostaglandin synthesis and cyclooxygenase-2 expression in activated rat liver macrophages. Biochem J 1995;312:135-143.
- Niirō H, Otsuka T, Izuhara K, Yamaoka K, Ohshima K, Tanabe T et al. Regulation by interleukin-10 and Interleukin-4 of cyclooxygenase-2 expression in human neutrophils. Blood 1997;89:1621-1628.
- Iñiguez MA, Punzón C, Fresno M. Induction of cyclooxygenase-2 on activated T lymphocytes: Regulation of T Cell activation by cyclooxygenase-2 inhibitors. J Immunol 1999;163:111-119.
- Murakami M, Naraba H, Tanioka T, Semmyo N, Nakatani Y, Kojima F et al. Regulation of prostaglandin E_2 biosynthesis by inducible membrane-associated prostaglandin E_2 synthase that acts in concert with cyclooxygenase-2. J Biol Chem 2000;275(42):32783-32792.
- Schad V, Phipps RP. Prostaglandin E_2 -dependent induction of B cells unresponsiveness. J Immunol 1989;143:2127-2132.
- Roper RL, Brown DM, Phipps RP. Prostaglandin E_2 promotes B lymphocyte Ig isotype switching to IgE. J Immunol 1995;154:162-170.
- Betz M, Fox BS. Prostaglandin E_2 inhibits production of Th1 lymphokines but not of Th2 lymphokines. J Immunol 1991;146:108-113.
- Hilkens CM, Vermeulen H, Joost van Neerven RJ, Snijdewint FGM, Wierenga EA, Kapsenberg ML. Differential modulation of T helper type 1 (Th1) and T helper type 2 (Th2) cytokine secretion by prostaglandin E_2 critically depends on interleukin-2. Eur J Immunol 1995;25:59-63.
- Anastassiou ED, Paliogianni F, Balow JP, Yamada H, Boumpas DT. Prostaglandin E_2 and other cyclic AMP-elevating agents modulate IL-2 and IL2R α gene expression at multiple levels J Immunol 1992;148:2845-2852.

24. Phipps RP, Stein SH, Roper RL. A new view of prostaglandin E_2 regulation of the immune response. *Immunol Today* 1992;12(10):349-352.
25. Van Der Pouw Kraan T, Boeije LCM, Smeenk RJT, Wijdenes J, Aarden LA. Prostaglandin E_2 is a potent inhibitor of human Interleukin-12 production. *J Exp Med* 1995;181:775-779.
26. Bonta IL, Parnham MJ. Immunomodulatory-antiinflammatory functions of E-type prostaglandins. Minireview with emphasis on macrophage-mediated effects. *Int J Immunopharmac* 1982;4(2):103-109.
27. Kunkel SL, Chensue SW, Phan SH. Prostaglandins as endogenous mediators of interleukin 1 production. *J Immunol* 1986;136(1):186-192.
28. Oppenheimer-Marks N, Kavanaugh A, Lipsky PE. Inhibition of transendothelial migration of human T lymphocytes by prostaglandin E_2 . *J Immunol* 1994;152:5703-5713.
29. Milano S, Arcoleo F, Dieli M, D'Agostino R, D'Agostino P, DeNucci G *et al*. Prostaglandin E_2 regulates inducible nitric oxide synthase in the murine macrophage cell line J774. *Prostaglandins* 1995;49:105-115.
30. Kunkel SL, Wiggins RC, Chensue SW, Larrick J. Regulation of macrophage tumor necrosis factor production by prostaglandin E_2 . *Biochem Biophys Res Commun* 1986;137:404-410.
31. Boraschi D, Nierderhuber J. Regulation of macrophage suppression and cytotoxicity by interferon: Role of Ia-bearing macrophages. *J Immunol* 1982;129:1854-1858.
32. Alleva DG, Burger CJ, Elgert KD. Tumor growth increases 1a macrophage synthesis of tumor necrosis factor- α and prostaglandin E_2 : Changes in macrophage suppressor activity. *J Leuk Biol* 1993;53:550-558.
33. Orino E, Sone S, Nii A, Ogura T. IL-4 up-regulates IL-1 receptor antagonist gene expression in human blood monocytes. *J Immunol* 1992;149:925-931.
34. Endo T, Ogushi F, Sone S. LPS-dependent cyclooxygenase-2 induction in human monocytes is down regulated by IL-13, but not by IFN- γ . *J Immunol* 1996;156:2240-2246.
35. Yao Z, Painter SL, Fanslow WC, Ulrich D, Macduff BM, Springgs MK *et al*. Human IL-17: A novel cytokine derived from T cells. *J Immunol* 1995;155:5483-5486.
36. Jovanovic DV, DiBattista JA, Martel-Pelletier J, Jolicoeur FC, He Y, Zhang M *et al*. IL-17 stimulates the production and expression of proinflammatory cytokines, IL-1 β and TNF- α , by human macrophages. *J Immunol* 1998;160:3513-3521.
37. Fossiez F, Djossou O, Chomarat P, Flores-Romo L, Ait-Yahia S, Maat C *et al*. T cell interleukin-17 induces stromal cells to produce proinflammatory and hematopoietic cytokines. *J Exp Med* 1996;183:2593-2603.
38. Chabaud M, Fossiez F, Taupin JL, Miossec P. Enhancing effect of IL-17 on IL-1 induced IL-6 and leukemia inhibitory factor production by rheumatoid arthritis synoviocytes and its regulation by Th2 cytokines. *J Immunol* 1998;161:409-414.
39. Fournier T, Fadok V, Henson PM. Tumor necrosis factor- α inversely regulates prostaglandin D_2 and prostaglandin E_2 production in murine macrophages. *J Biol Chem* 1997;272:31065-31072.
40. Edwards III Hedegaard HB, Zlotnik A. Chronic infection due to *Mycobacterium intracellulare* in mice: Association with macrophage release of prostaglandin E_2 and reversal by injection of indomethacin, muramyl dipeptide, or interferon-gamma. *J Immunol* 1986;136(5):1820-1827.
41. Noverr MC, Pugh Jr, GW, Tabatabai LB. Effects of Gamma interferon and indomethacin in preventing *Brucella abortus* infections in mice. *Infect Immun* 1992;60(10):4407-4409.
42. Filler SG, Ibe BO, Ibrahim AS, Ghannoum MA, Raj JU, Edwards Jr JE. Mechanisms by which *Candida albicans* induces endothelial cell prostaglandin synthesis. *Infect Immun* 1994;6(3):1064-1069.
43. Noverr MC, Phare SM, Toews GB, Coffey MJ, Huffnagle GB. Pathogenic yeast *Cryptococcus neoformans* and *Candida albicans* produce immunomodulatory prostaglandins. *Infect Immun* 2001;69(5):2957-2963.
44. Belley A, Chadee K. Eicosanoid production by parasites: From pathogenesis to immunomodulation? *Parasitology Today* 1995;11(9):327-334.
45. Ramaswamy K, Kumar P, H YX. A role for parasite-induced PGE $_2$ in IL-10-mediated host immunoregulation by skin stage schistosomula of *Schistosoma mansoni*. *J Immunol* 2000;165:4567-4574.
46. Pinge-Filho P, Tadokoro CE, Abrahamssohn IA. Prostaglandins mediate suppression of lymphocyte proliferation and cytokine synthesis in acute *Trypanosoma cruzi* infection. *Cell Immunol* 1999;193:90-98.
47. DeFreitas LA, Mbow LM, Estay M, Bleyenbergh JA, Titus RG. Indomethacin treatment slows disease progression and enhances a Th1 response in susceptible BALB/c mice infected with *Leishmania major*. *Parasite Immunol* 1999;21(5):273-277.
48. Titus RG, Sherry B, Cerami A. The involvement of TNF, IL-1 and IL-6 in the immune response to protozoan parasites. *Immunol Today* 1991;12(3):A13-A16.
49. Pruzanski W, Vadas P. Phospholipase A_2 a mediator between proximal and distal effectors of inflammation. *Immunology Today* 1991;12(5):143-146.
50. Quiroga J, Prieto J. Liver cytoprotection by prostaglandins. *Pharmac Ther* 1993;58:67-92.
51. Yu Y, Chadee K. *Entamoeba histolytica* stimulates interleukin 8 from human colonic epithelial cells without parasite-enterocyte contact. *Gastroenterology* 1997;112:1536-1547.
52. Seydel KB, Li E, Swanson PE, Stanley Jr SL. Human intestinal epithelial cells produce proinflammatory cytokines in response to infection in a SCID mouse-human intestinal xenograft model of amebiasis. *Infect Immun* 1997;65:1631-1639.
53. Eckmann L, Reed SL, Smith JR, Kagnoff MF. *Entamoeba histolytica* trophozoites induce an inflammatory cytokine response by cultured human cells through the paracrine action of cytolytically released interleukin-1 α . *J Clin Invest* 1995;96:1269-1279.
54. McGowan K, Piver G, Stoff JS, Donowitz M. Role of prostaglandins and calcium in the effects of *Entamoeba histolytica* on colonic electrolyte transport. *Gastroenterology* 1990;98:873-880.
55. Petri WA, Ravdin JI. Protection of gerbils from amebic liver abscess by immunization with the galactose-specific adherence lectin of *Entamoeba histolytica*. *Infect Immun* 1991;59:97-101.
56. Shibayama-Salas M, Tsutsumi V, Martínez-Palomo A. Early invasive intestinal amebiasis in Mongolian gerbils. *Arch Med Res* 1992;23(2):187-190.
57. Tsutsumi V, Canales-Treviño L, Martínez-Palomo A. Immunoprophylaxis of experimental amebic liver abscess. *Proc VIII Int Congress Protozoology*; 1989 julio 10-17; Tsukuba, Japón.
58. Schain DC, Salata RA, Ravdin JI. Development of amebicidal cell mediated immunity in gerbils (*Meriones unguiculatus*) immunized with the galactose-inhibitable adherence lectin of *Entamoeba histolytica*. *J Parasitol* 1995;81(4):563-568.
59. Martínez-Palomo A, Kretschmer R, Meza I. *Entamoeba histolytica* and amebiasis. En: Ravdin JI, ed. *Amebiasis. Human infection by Entamoeba histolytica*. Nueva York: Wiley, 1988:143-156.
60. Ortiz-Ortiz L, Zamacona G, Sepúlveda B, Capin NR. Cell mediated immunity in patients with amoebic abscess of the liver. *Clin Immun Immunopath* 1975;4:127-134.
61. Kretschmer RR, López-Osuna M. Mecanismos efectores e inmunidad antiamebiana. En: Kretschmer RR, ed. *Amebiasis, infección y enfermedad por Entamoeba histolytica*. México, D.F.: Editorial Trillas, 1994:135-149.
62. Ortiz-Ortiz L, Garmilla C, Tanimoto-Weki M, Zamacona-Ravelo G. Cellular hypersensitivity in amebiasis. I. Reactions in hamsters inoculated with *E. histolytica*. *Arch Invest Med* 1973; Supl 1:141-146.
63. Salata RA, Ravdin JI. Review of the human immune mechanisms directed against *Entamoeba histolytica*. *Rev Infect Dis* 1986;8(2):261-269.
64. Gharidian E, Meerovitch E. *In vitro* amoebicidal activity of immune cells. *Infect Immun* 1982;36:243-246.
65. Salata RA, Martínez-Palomo A, Canales L, Murray HW, Treviño N, Ravdin JI. Suppression of T-lymphocyte responses to *Entamoeba histolytica* antigen by immune sera. *Infect Immun* 1990;58:3941-3946.

66. Stern JJ, Graybill JR, Drutz DJ. Murine amebiasis: The role of the macrophages in host defense. *Am J Trop Med Hyg* 1984;33(3):372-380.
67. Gharidian E, Meerovitch E. Macrophage requirement for host defense against experimental hepatic amebiasis in the hamster. *Parasite Immunol* 1982;4:219-225.
68. Denis M, Chadee K. *In vitro* and *in vivo* studies of macrophage functions in amebiasis. *Infect Immun* 1988;56:3126-3131.
69. Wang W, Chadee K. *Entamoeba histolytica* alters arachidonic acid metabolism in macrophages *in vitro* and *in vivo*. *Immunology* 1992;76:242-250.
70. Wang W, Chadee K. Modulation of tumor necrosis factor production by macrophages in *Entamoeba histolytica* infection. *Infect Immunol* 1992;60(8):3169-3174.
71. Wang W, Chadee K. *Entamoeba histolytica* suppresses gamma interferon-induced macrophage class II major histocompatibility complex Ia molecule and IA β mRNA expression by a prostaglandin E₂ dependent mechanism. *Infect Immun* 1995;63(3):1089-1094.
72. Seguin R, Keller K, Chadee K. *Entamoeba histolytica* stimulates the unstable transcription of c-fos and tumor necrosis factor- α mRNA by protein kinase C signal transduction in macrophages. *Immunology* 1995;86:49-57.
73. Sánchez-Ramírez B, Escalante B, Rosales-Encina JL, Talamás-Rohana P. Role of prostaglandin E₂ on amoebic liver abscess formation in hamsters. *Prostaglandins* 1997;53:411-421.
74. Sánchez-Ramírez B, Escalante B, Rosales-Encina JL, Talamás-Rohana P. *Entamoeba histolytica* induces cyclooxygenase-2 expression in macrophages isolated from liver abscess. En: Tada I, Kojima S, Tsuji M, ed. *Proc IX International Congress of Parasitology*; 1998 agosto 24-28; Makuhari Chiba, Japón.
75. Belley A, Keller K, Chadee K. Demonstration of cyclooxygenase-1 enzyme in *Entamoeba histolytica*: parasite production of Prostaglandin E₂. 44th Ann Meet Am Soc Trop Med Hyg; 1995 noviembre 17-21; San Antonio, Texas, USA.
76. Balsinde J, Balboa MA, Dennis EA. Functional coupling between secretory phospholipase A2 and cyclooxygenase-2 and its regulation by cytosolic group IV phospholipase A2. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;295(14): 7951-7956.
77. Ravdin JI, Murphy CF, Guerrant RL, Long-Krug SA. Effect of antagonists of calcium and phospholipase A on the cytopathogenicity of *Entamoeba histolytica*. *J Infect Dis* 1985;152:542-549.
78. Long-Krug SA, Fischer KJ, Hysmith RM, Ravdin JI. Phospholipase A enzymes of *Entamoeba histolytica*: Description and subcellular localization. *J Infect Dis* 1985;152:536-541.
79. Wang W, Keller K, Chadee K. *Entamoeba histolytica* modulates the nitric oxide synthase gene and nitric oxide production by macrophages for cytotoxicity against amoebae and tumour cells. *Immunology* 1994;83:601-610.
80. Lin JY, Seguin R, Keller K, Chadee K. Transforming growth factor β_1 primes macrophages for enhanced expression of the nitric oxide synthase gene for nitric oxide-dependent cytotoxicity against *Entamoeba histolytica*. *Immunology* 1995;85:400-407.
81. Barral-Netto M, Barral A, Brownell CE, Skeiky YA, Ellingsworth LR, Twardzik DR et al. Transforming growth factor-beta in leishmanial infection: A parasite escape mechanism. *Science* 1992;257:545-548.