VOLUMEN 48
XXXI Verano De la Ciencia
ISSN 2395-9797
www.jovenesenlaciencia.ugto.mx

Caracterización de esfingomielinasas ácidas de *E. histolytica* y *T. vaginalis* purificación, inhibición y procesamiento.

Characterization of acid sphingomyelinases from *E. histolytica* and *T. vaginalis*: purification, inhibition, and processing.

Diego Levy Díaz-Arroyo[1], Haziel Alejandro Hernández-Sánchez[1], Sairy Andrade-Guillen[2], Ana Medina-Nieto[2], Ángeles Rangel-Serrano[2], Itzel Páramo-Pérez[2], Sarahí Villegas-García[2], José Asención Martínez-Álvarez[2], Fátima Ramírez-Montiel[3], Felipe Padilla-Vaca[2*]

[1]Licenciatura en Químico Farmacéutico Biólogo. División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato. Universidad de Guanajuato. C.P.36050 México.
[2]Departamento de Biología y [3]Departamento de Farmacia. División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato. Universidad de Guanajuato. C.P.36050 México.
padillaf@ugto.mx

Resumen

Entamoeba histolytica y *Trichomonas vaginalis* son protozoarios parásitos causantes de amibiasis y tricomoniasis, infecciones que afectan a los humanos. Durante el proceso de infección, estos parásitos se enfrentan a las respuestas del sistema inmune del hospedero, tales como el sistema el complemento, especies reactivas de oxígeno y péptidos antimicrobianos, cuyo blanco es la membrana plasmática de los trofozoítos. Estos parásitos presentan un sistema de reparación del daño a la membrana mediado por esfingomielinasas ácidas (aSMasas). La cepa HM1-HA-RFP de *E. histolytica* tiene a la aSMasa etiquetada en el extremo C-terminal para evaluar su procesamiento, mientras que la cepa GT-21 de *T. vaginalis* fue expuesta a choque térmico para inducir la secreción de la aSMasas. La actividad secretada de ambos parásitos fue estimulada por Mg^{2+} e inhibida por Co^{2+}. Los sobrenadantes con actividad de aSMasa fueron sometidos a una cromatografía de intercambio catiónico y los picos con actividad fueron precipitados y las proteínas separadas por electroforesis SDS-PAGE. En el gel de poliacrilamida se observaron proteínas en el intervalo de PM predicho para las aSMasas de ambos parásitos. La expresión de los genes *EhaSM6* y *TvaSM5* de amibas y tricomonas, respectivamente, se incrementó en la cepa sobreexpresante HM1-HA-RFP de *E. histolytica* y en la cepa GT-21 de *T. vaginalis* expuesta a choque térmico.

Palabras clave: *Entamoeba histolytica*; *Trichomona vaginalis*; Esfingomielinasas; Reparación del daño a la membrana.

1 Introducción

1.1 Amibiasis

La amibiasis se define como una infección intestinal o extraintestinal en humanos causada por el protozoario parásito *Entamoeba histolytica.* Este parásito infecta aproximadamente 100 millones de personas a nivel mundial, principalmente en países en desarrollo y responsable de aproximadamente 100,000 muertes anuales. Aunque el 90% de las personas infectadas son asintomáticas, la infección puede provocar disentería y dolor abdominal, y en los casos más severos, abscesos hepáticos[1] [2] [3]

[1] (WHO, 1997)

[2] (Moran y col., 2023)

[3] (Cui y col., 2019)

E. histolytica es un parásito protozoario que tiene un ciclo de vida sencillo basado en dos formas celulares, el quiste como agente infeccioso ambiental y el trofozoíto como agente colonizante e invasión[4] . El ciclo de vida del parásito empieza cuando los quistes son ingeridos en alimentos o en agua contaminada, los cuales al llegar al intestino se desenquistan liberando a los trofozoítos. Los trofozoítos en el intestino interaccionan con la microbiota intestinal del hospedero, llegando a colonizar el intestino grueso donde se multiplican por fisión binaria. Cuando las condiciones no son favorables para los trofozoítos, se diferencian a quistes y son excretados en la materia fecal. Los trofozoítos en el intestino grueso pueden permanecer en el lumen o invadir la mucosa intestinal[5] (Figura 1).

1.2 Tricomoniasis

La tricomoniasis humana es la Infección de transmisión sexual no viral más extendida en el mundo causada por el parásito *Trichomonas vaginalis* con una incidencia aproximada de 276 millones de infectados al año[1]. En México se reportan alrededor de 170000 casos al año[6].

El epitelio escamoso vaginal en la mujer es el sitio primario de la infección, aunque el parásito también puede llegar a la uretra y endocérvix[7]. En los hombres, el parásito se encuentra en la uretra y se han encontrado trofozoítos en la glándula prostática[3]. Aproximadamente el 80% de las infecciones por *T. vaginalis* son asintomáticas tanto en hombres como en mujeres[8]. En mujeres sintomáticas, las manifestaciones clínicas son: secreción vaginal, prurito, mal olor e irritación[9]. La infección en los hombres es en general autolimitada, lo que parece estar asociado a las características del líquido genital enriquecido en zinc que muestra un efecto citotóxico. Las mujeres infectadas son más susceptibles al VIH y virus del papiloma, mientras que los hombres al cáncer de próstata[10] (Figura 1).

[4] (Guillén, 2023)

[5] (Martínez-Palomo y Martínez-Baez-1983)

[6] (Arroyo, 2017)

[7] (Lehker y Alderete, 2000)

[8] (Poole y McClelland, 2013)

[9] (Muzny y Schwebke, 2013)

[10] (Gimenes y col., 2014)



Figura 1. Amibiasis y tricomoniasis (diseño de los autores).

1.3 Esfingomielinasas

Las esfingomielinasas (SMasas), son enzimas importantes en el metabolismo de lípidos y son la principal vía de producción de ceramida, un lípido bioactivo involucrado en diversos procesos celulares[11]. La ceramida es el centro del metabolismo de los esfingolípidos y se puede sintetizar o producir por biosíntesis *de novo* a partir de serina y palmitoil CoA, y mediante la hidrólisis de la esfingomielina por aSMasas[12]. Las SMasas han sido clasificadas de acuerdo con su pH óptimo en alcalinas, neutras (nSMasa) y ácidas (aSMasa)[13]. Las nSMasas presentan actividad a pH de 7.5 y participan en la transducción de señales mediada en respuesta a citocinas y estrés oxidativo, lo cual se asocia con la interrupción del crecimiento y la inducción a la apoptosis[4]. Las aSMasas hidrolizan la esfingomielina, con un pH óptimo de actividad entre 4.5 y 5.0. Diversos estímulos por estrés que generen daño a la membrana plasmática activan a las aSMasas que participan en el proceso de reparación del daño a la membrana plasmática[14].

[11] (Ogretmen & Hannun, 2004)

[12] (Patwardhan y col., 2015)

[13] (Marchesini & Hannun, 2004)

[14] (Hannun & Obeid, 2008)

1.4 Esfingomielinasas ácidas

En *E. histolytica* se ha reportado la presencia de seis genes que codifican para aSMasas, los cuales se transcriben en el parásito. Estas enzimas presentan un péptido señal predicho[15], detectando su actividad en sobrenadantes, y cuya secreción es estimulada por agentes perturbadores de la MP de la amiba. El mecanismo de acción reportado para *E. histolytica* es muy similar al reportado en mamíferos. Cuando se presentan un daño en la membrana plasmática la entrada de Ca^{2+}del exterior es descontrolada, lo cual promueve la migración de lisosomas al sitio de la lesión. Los lisosomas se fusionan con la membrana plasmática bloqueando el sitio de la lesión con estructuras tipo parche, evitando la lisis celular. Cuando el lisosoma se fusiona con la membrana plasmática, se vierte el contenido al medio extracelular, incluyendo a la enzima lisosomal aSMasa, la cual hidroliza la esfingomielina presente en la cara externa de la membrana plasmática, lo que provoca la creación de sitios que son ricos en ceramida, la cual promueve la endocitosis de la lesión y posteriormente la degradación de ésta en el compartimiento endolisosomal, reparando así la lesión de la membrana plasmática[16] (Figura 2). El Mg^{2+} estimula la actividad de aSMasa, sin embargo, el mecanismo inhibitorio de algunos cationes sobre la actividad de aSMasa todavía no se ha elucidado. La enzima aSMasa6 de *E. histolytica* promueve la reparación de la membrana plasmática dañada mediante moléculas formadoras de poros para prevenir la pérdida de la integridad celular. La aSMasa6 sufre un procesamiento en el extremo C-terminal, similar al descrito para la aSMasa de mamíferos[17] [14]. Aún se desconoce el efecto de dicho procesamiento sobre la actividad y la secreción en este parásito, así como el efecto inhibitorio de algunos cationes divalentes[18].

En *T. vaginalis* se ha descrito la presencia y expresión de genes que codifican para aSMasas y la secreción de la actividad de aSMasa, similar a lo reportado para *E. histolytica*. En su proceso de infección, *T. vaginalis*, se enfrenta a moléculas formadoras de poros como el sistema del complemento y péptidos antimicrobianos, y está expuesto a estrés oxidativo que puede dañar la membrana plasmática, por lo que resulta relevante evaluar su participación en la reparación del daño a dicha membrana generado por componentes líticos del huésped y dilucidar su participación como factor y/o determinante de virulencia. El daño por choque térmico afecta la integridad de la membrana plasmática de *T. vaginalis,* la cual responde secretando aSMasa[18] (Figura 2).

[15] (Mendoza-Macías. Tesis de Doctorado 2010)

[16] (Ramírez-Montiel, 2020. Tesis de doctorado)

[17] (Andrade-Guillen Sairy, 2026, Tesis de doctorado en proceso)

[18] (Medina-Nieto Ana, Tesis de doctorado en progreso 2026)

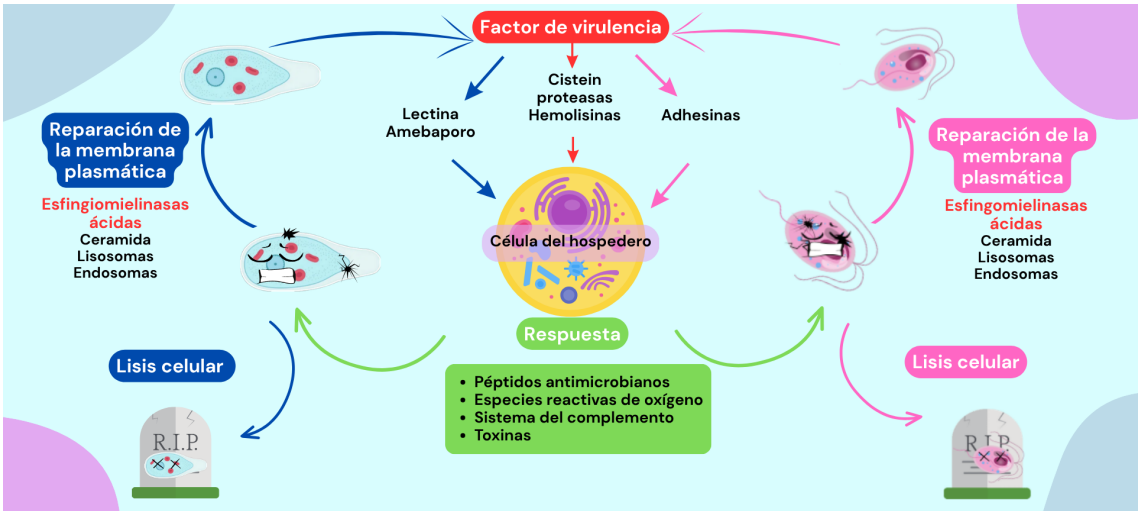


Figura 2. Reparación del daño a la membrana plasmática de E. histolytica y T. vaginalis mediado por esfingomielinasas ácidas (diseño de los autores).

2 Metodología

2.1 Cultivo de los parásitos. Se cosecharon los trofozoítos de dos cepas de *E. histolytica,* HM1-HA y HM1-aSM6-HARFP, y de la cepa GT-21 *de T. vaginalis* a 37°C, cultivados en medio TYI-S-33.

2.2 Actividad de esfingomielinasa ácida. Se cosecharon los trofozoítos en su fase exponencial de crecimiento, se resuspendieron en medio TYI-33, se lavaron con medio DMEM sin Ca^{2+} y se incubaron en medio DMEM con Ca^{2+} a 37°C o 42°C por diferentes tiempos. Se recolectaron los sobrenadantes y se centrifugaron a 13,000 rpm para eliminar a los parásitos remanentes. Se midió la actividad de esfingomielinasa ácida empleando el kit "Amplex Red Sphyngomielinase" (Invitrogen) siguiendo las indicaciones del fabricante.

2.3 Purificación por intercambio iónico. Los sobrenadantes se pasaron por una resina de intercambio catiónico (S) equilibrada con amortiguador de acetato de amonio pH 5. Se eluyeron las proteínas que interaccionaron con la columna con diferentes concentraciones de cloruro de sodio, y se midió proteína a 280 nm y la actividad de aSMasa a las diferentes fracciones.

2.4 Electroforesis (SDS-PAGE). Se seleccionaron las fracciones del intercambio catiónico con mayor actividad de aSMasa y se precipitó proteína con ácido tricloroacético (TCA). Las muestras de proteína se separaron en un gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) y las proteínas se tiñeron con azul de Coomassie.

2.5 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Se evaluó la expresión de gen *EhaSM6* y *TvaSM5* de ambas y tricomonas, respectivamente, mediante PCR punto final usando cDNA como templado. Se evaluó la expresión en dos cepas de amibas y en la cepa GT-21 de tricomonas a 37°C y 42°C.

3 Resultados y discusión

Con la finalidad de evaluar el procesamiento en el C-terminal de la aSMasa6 de *E. histolytica* se dispone de dos cepas derivadas de la cepa de referencia HM1. La cepa HM1-HARFP que sobreexpresa la aSMasa6 etiquetada en el C-terminal, para evaluar el procesamiento por la liberación de la etiqueta y La cepa HM1-HA corresponde al control con el plásmido vacío. En la figura 3A se muestra la morfología ameboide de ambas cepas observándose que no hay diferencia entre ambas transfectantes, por lo que puede ser evaluado el procesamiento en experimentos posteriores. En la figura 3B1 se muestra a los trofozoítos de la cepa GT-21 de *T. vaginalis* incubada a 37°C donde se observa su clásica morfología piriforme, mientras que en la figura

3B2 se observa el redondeamiento de los trofozoítos después de ser incubado a 42°C, indicando daño celular y posible participación de aSMasas.

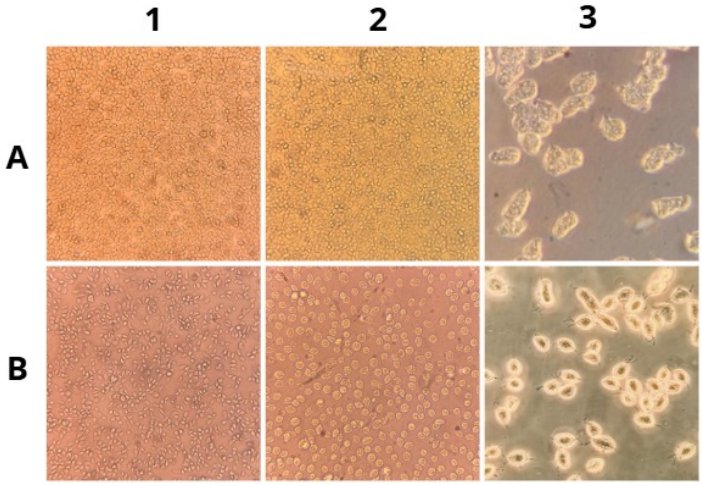


Figura 3. Morfología de los trofozoítos de E. histolytica y T. vaginalis bajo diferentes condiciones. A1. E. histolytica cepa HM1-HA; A2. E. histolytica HM1-Asm6-HRFP; A3. E. histolytica en contraste de fase; B1. T vaginalis a 37°C; B2 T. vaginalis a 42°C; B3. T. vaginalis en contraste de fase.

Se evaluó la actividad de aSMasa secretada por los trofozoítos de *E. histolytica* y *T. vaginalis* en ausencia y presencia de cationes divalentes. Se observó que la cepa de *E. histolytica* sobreexpresante de la aSMasa6 etiquetada secreta actividad de aSMasa y fue estimulada por Mg^{2+} e inhibida por Co^{2+}, una característica observada en la cepa control, lo que indica que la etiqueta no alteró el efecto de los cationes divalentes. El sobrenadante de la cepa GT-21 de *T. vaginalis* presentó actividad de aSMasa, estimulada por Mg^{2+} e inhibida por Co^{2+}, una característica de la actividad de aSMasa de *E. histolytica* sugiriendo un comportamiento similar en ambos parásitos.

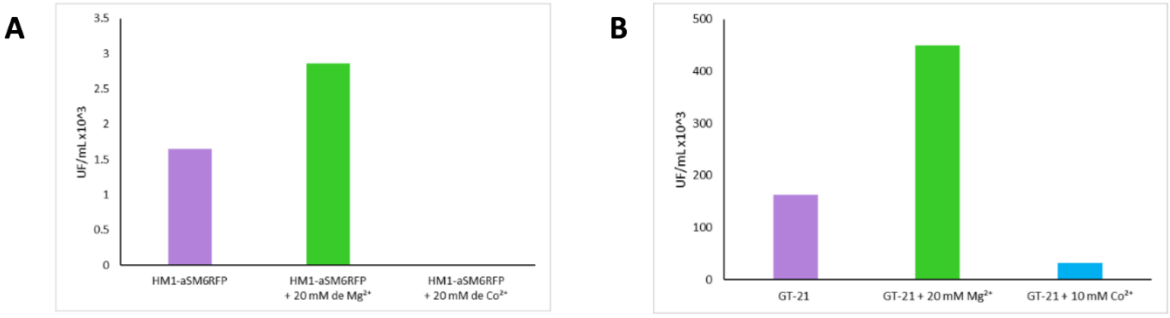


Figura 4. Actividad de aSMasa secretada por los parásitos expuestos a diferentes cationes. Actividad secretada por trofozoítos de E. histolytica (A) y T. vaginalis (B) en ausencia y presencia de Mg^{2+} o Co^{2+}.

Con la finalidad de enriquecer las proteínas secretadas con actividad de aSMasa, los sobrenadantes de ambos parásitos se pasaron a través de una resina de intercambio catiónico. En la figura 5A se presenta el perfil de proteínas secretadas por *E. histolytica* eluidas con 0, 50, 100 y 200 mM de NaCl, observándose un pico de actividad en la fracción de proteínas que no interaccionan con la resina y tres picos de actividad en las fracciones eluidas con NaCl. En la figura 5B se presenta el perfil de proteínas secretadas por *T. vaginalis*,

eluidas con 0, 50, 100 y 200 mM de NaCl, observándose varios picos de actividad eluidos con las diferentes concentraciones de NaCl. Se ha descrito que ambos parásitos expresan seis genes que codifican para aSMasas[1920] por lo que los diferentes picos podrían corresponder a diferentes aSMasas secretadas.

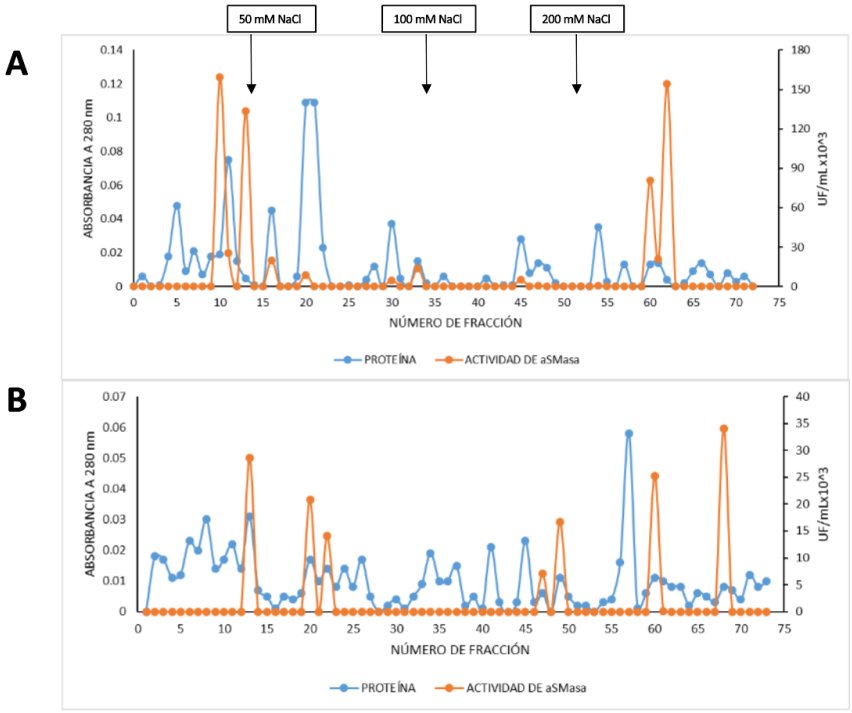


Figura 5. Separación de proteínas secretadas por E. histolytica y T. vaginalis por cromatografía por intercambio catiónico y medición de la actividad de aSMasa. Perfil de proteínas secretada por trofozoítos de E. histolytica de la cepa HM1-aSM6-HARFP (A) y T. vaginalis de la cepa GT-21 a 42°C (B), eluidas con diferentes concentraciones de NaCl. Los picos naranjas representan a la actividad de aSMasa en las fracciones colectadas.

Las fracciones con mayor actividad de aSMasa de la cromatografía de intercambio catiónico de cada parásito, se mezclaron, se precipitaron con TCA y se cargaron en un gel de acrilamida SDS-PAGE al 12%, y se tiñeron con azul de Coomassie. En la figura 6A carril 1, se observan varias bandas de proteína señaladas con flecha negra. Las bandas de proteína marcadas con un asterisco rojo corresponden a los pesos moleculares predichos de las aSMasas de *E. histolytica* de 46-49 kDa[17]. En la figura 6B carril 1, se observa el perfil de proteínas de *T. vaginalis* en donde las aSMasas tienen un peso molecular predicho de 47-53 kDa[18]. Sin embargo, es importante considerar las modificaciones postraduccionales como la glicosilación y fosforilación de estas enzimas[21] [22] que podrían modificar su PM.

[19] (Ramírez-Montiel y col., 2019)

[20] (Torres-Castellanos, tesis de maestría, 2023)

[21] (Jenkins y col., 2010)

[22] (Ramírez-Montiel y col., 2025)

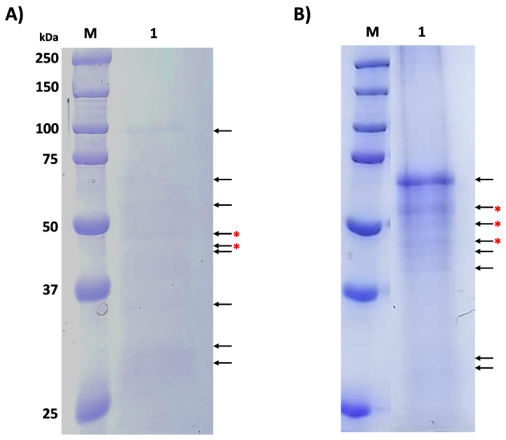


Figura 6. Separación de proteínas secretadas por E. histolytica y T. vaginalis mediante electroforesis SDS-PAGE. Las proteínas de las fracciones de intercambio catiónico con actividad de aSMasa fueron precipitadas con TCA y cargadas en un gel de poliacrilamida al 12%. Las flechas indican presencia de proteínas teñidas con azul de Coomassie. Las flechas marcadas con asteriscos rojos corresponden a proteínas de peso molecular similar al reportado para las aSMasa de ambos parásitos.

Para evaluar la expresión de los genes *EhaSM6* y *TvaSM5* de *E. histolytica* y *T. vaginalis*, respectivamente, se realizó una PCR punto final de la cepa control HM1-HA y de la sobreexpresante HM1-aSM6-HA-RFP para amplificar un fragmento del gen *EhaSM6* usando cDNA como templado, observándose amplificación para ambas cepas, siendo ligeramente mayor en la cepa sobreexpresante (Figura 7A). Se realizó la PCR para la cepa GT-21 a 37°C y a 42°C para la amplificación de un fragmento del gen *TvaSM5* usando cDNA como templado. Se observó amplificación para ambas condiciones, siendo la mayor amplificación para la cepa a 42°C. Se espera que la cepa sobreexpresante de aSMasa6 de *E. histolytica*, presente mayor expresión del gen, lo cual no es evidente en la figura 7A. Para poder evaluar cuantitativamente los niveles de expresión se tendría que realizar un PCR en tiempo real (qPCR). *T. vaginalis* expuestas a choque térmico (42°C) presentaron un amplicón de mayor intensidad que el control (37°C), lo que sugiere que el daño generado por el choque térmico genera una respuesta de reparación del daño a la membrana plasmática mediado por aSMasas.

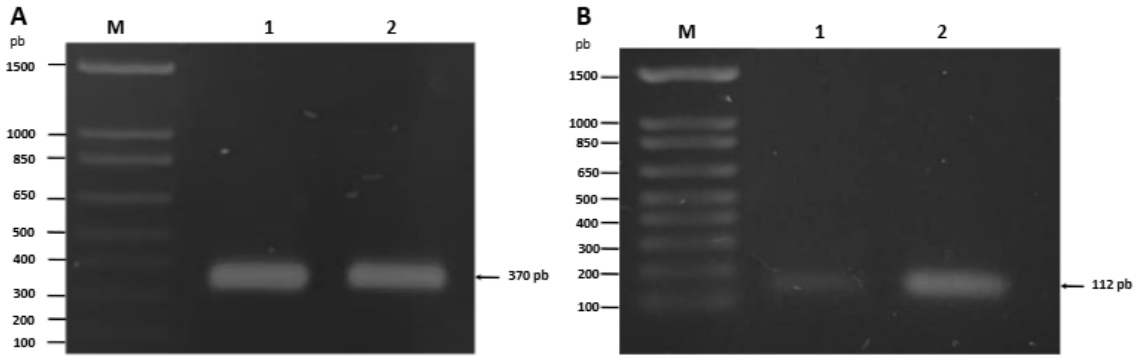


Figura 7. Expresión de genes de aSMasa en E. histolytica y T. vaginalis en diferentes condiciones. Amplificación por PCR de un fragmento del gene de aSMasa empleando cDNA como templado. A. Gen EhaSM6 de E. histolytica. B. Gen TvaSM5 de T. vaginalis. M. Marcadores de tamaño. A1. HM1-HA; A2 HM1-aSM6-HRFP; B1. GT-21 a 37°C; B2. GT-21 a 42°C.

4 Conclusiones

Las cepas transfectantes de *E. histolytica* presentan una morfología ameboide característica y secretan actividad de aSMasa, lo que sugiere que son adecuadas para evaluar el procesamiento en el C-terminal en la aSMasa etiquetada. La cepa de *T. vaginalis* sometida al choque térmico presenta una morfología redondeada, lo que indica que secretaran aSMasas en respuesta al daño celular.

El Co^{2+} puede ser usado como un inhibidor para los ensayos de caracterización de las aSMasas de ambos parásitos.

Los resultados de la cromatografía de intercambio iónico y electroforesis SDS-PAGE sugieren que son varias las aSMasas secretadas.

La expresión de al menos uno de los genes que codifican para aSMasas de *T. vaginalis* se incrementa bajo condiciones de estrés por choque térmico.

5 Agradecimientos

Agradecemos profundamente al Dr. Felipe Padilla por darnos la oportunidad de trabajar con él y su grupo de investigación, por brindarnos la confianza de estar en su laboratorio e incentivarnos a seguir en el mundo de la investigación, así como estar presente en todo el proceso de este proyecto. A las MC. Ana y Sairy por la paciencia que las caracteriza, siendo ustedes unos de los pilares más importantes de este verano de investigación, así como dejándonos ser parte de sus proyectos de doctorado, aconsejándonos, resolviendo dudas y recordándonos en todo instante la importancia de seguir adelante. A la Dra. Ángeles y la Q.F.B Itzel por facilitarnos los materiales y/o reactivos necesarios para la preparación de los diferentes protocolos. Al grupo de investigación en general, por pasar momentos muy amenos dentro y fuera del laboratorio. A la Universidad de Guanajuato por incentivar y promover la creación de estos espacios de aprendizaje y desarrollo científico. A nuestros padres, amigos y familiares que directa o indirectamente colaboraron para que nosotros pudiésemos estar presentes y concluir exitosamente este proyecto recordando que sin el apoyo de cada uno de ustedes esto no sería posible.

Referencias

[1] Arroyo, R. (2017). *Tricomonosis*. **Ciencia, 68**(1), 58–61.

[2] Andrade-Guillen Sairy, (2026). Análisis del procesamiento C-terminal sobre la actividad y secreción de la aSMasa6 de Entamoeba histolytica y su contribución a la viabilidad de los trofozoítos en las Trampas Extracelulares de Neutrófilos. [Tesis de doctorado proceso, Universidad de Guanajuato]Cui, Z., Li, J., Chen, Y., & Zhang, L. (2019). Molecular epidemiology, evolution, and phylogeny of Entamoeba spp. Infection Genetics and Evolution, 75, 104018. https://doi.org/10.1016/j.meegid.2019.104018

[3] Cui, Z., Li, J., Chen, Y., & Zhang, L. (2019). Molecular epidemiology, evolution, and phylogeny of Entamoeba spp. Infection Genetics and Evolution, 75, 104018. https://doi.org/10.1016/j.meegid.2019.104018

[4] Gimenes, F., Souza, R. P., Bento, J. C., Teixeira, J. J. V., Maria-Engler, S. S., Bonini, M. G., and Consolaro, M. E. L., (2014). Male infertility: a public health issue caused by sexually transmitted pathogens. Nat Rev Urol 11, 672-687

[5] Guillén, N. (2023). Pathogenicity and virulence of Entamoeba histolytica, the agent of amoebiasis. Virulence, 14(1), 2158656. https://doi.org/10.1080/21505594.2022.2158656

[6] Hannun, Y. A., & Obeid, L. M. (2008). Principles of bioactive lipid signalling: lessons from sphingolipids. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 9(2), 139–150. https://doi.org/10.1038/nrm2329

[7] Jenkins, R. W., Idkowiak-Baldys, J., Simbari, F., Canals, D., Roddy, P., Riner, C. D., Clarke, C. J., & Hannun, Y. A. (2010). A Novel Mechanism of Lysosomal Acid Sphingomyelinase Maturation. Journal of Biological Chemistry, 286(5), 3777–3788. https://doi.org/10.1074/jbc.m110.155234

[8] Lehker, M. W., & Alderete, J. F. (2000). Biology of trichomonosis. Current Opinion in Infectious Diseases, 13(1), 37–45. https://doi.org/10.1097/00001432-200002000-00007

[9] Marchesini, N., & Hannun, Y. A. (2004). Acid and neutral sphingomyelinases: roles and mechanisms of regulation. Biochemistry and Cell Biology, 82(1), 27–44. https://doi.org/10.1139/o03-091

[10] Martínez-Palomo, A., & Martínez-Báez, M. (1983). Amibiasis. Salud Pública de México, 25(6), 563–573.

[11] Medina Nieto, A. L. (2026). Análisis funcional de esfingomielinasas ácidas en Trichomonas vaginalis. Tesis de doctorado en progreso [Tesis de doctorado en proceso, Universidad de Guanajuato].

[12] Mendoza-Macías, C. L., Barrios-Ceballos, M. P., Anaya-Velázquez, F., Nakada-Tsukui, K., Nozaki, T., & Padilla-Vaca, F. (2010). Entamoeba histolytica: Molecular cloning and characterization of a novel neutral sphingomyelinase. Experimental Parasitology, 125(3), 279–285. https://doi.org/10.1016/j.exppara.2010.02.001

[13] Morán, P., Serrano-Vázquez, A., Rojas-Velázquez, L., González, E., Pérez-Juárez, H., Hernández, E. G., De Los Angeles Padilla, M., Zaragoza, M. E., Portillo-Bobadilla, T., Ramiro, M., & Ximénez, C. (2023). Amoebiasis: Advances in Diagnosis, Treatment, Immunology Features and the Interaction with the Intestinal Ecosystem. International Journal of Molecular Sciences, 24(14), 11755. https://doi.org/10.3390/ijms241411755

[14] Muzny, C. A., & Schwebke, J. R. (2013). The clinical spectrum ofTrichomonas vaginalisinfection and challenges to management. Sexually Transmitted Infections, 89(6), 423–425. https://doi.org/10.1136/sextrans-2012-050893

[15] Ogretmen, B., & Hannun, Y. A. (2004). Biologically active sphingolipids in cancer pathogenesis and treatment. Nature Reviews. Cancer, 4(8), 604–616. https://doi.org/10.1038/nrc1411Patwardhan, G.A., Beverly, L.J., Siskind, L.J., 2016. Sphingolipids and mitochondrial apoptosis. J. Bioenerg. Biomembr. 48, 153–168. doi: 10.1126/science.1249098.Sleep

[16] Patwardhan GA, Beverly LJ, Siskind LJ. Sphingolipids and mitochondrial apoptosis. J Bioenerg Biomembr. 2016 Apr;48(2):153-68. doi: 10.1007/s10863-015-9602-3. PMID: 25620271; PMCID: PMC5434644.

[17] Poole, D. N., & McClelland, R. S. (2013). Global epidemiology ofTrichomonas vaginalis. Sexually Transmitted Infections, 89(6), 418–422. https://doi.org/10.1136/sextrans-2013-051075

[18] Ramírez Montiel, F. B. (2020). Reparación del daño a la membrana plasmática mediada por la esfingomielinasa ácida en Entamoeba histolytica. Tesis doctoral, Universidad de Guanajuato.

[19] Ramírez-Montiel, F. B., Andrade-Guillen, S. Y., Medina-Nieto, A. L., Rangel-Serrano, Á., Martínez-Álvarez, J. A., De La Mora, J., Vargas-Maya, N. I., Mendoza-Macías, C. L., Padilla-Vaca, F., & Franco, B. (2025). Theoretical Study of Sphingomyelinases from Entamoeba histolytica and Trichomonas vaginalis Sheds Light on the Evolution of Enzymes Needed for Survival and Colonization. Pathogens, 14(1), 32. https://doi.org/10.3390/pathogens14010032

[20] Ramírez-Montiel, F., Mendoza-Macias, C., Andrade-Guillén, S., Rangel-Serrano, A., Páramo-Pérez, I., Anaya-Velázquez F., Franco B., Padilla-Vaca, F. (2019). Plasma membrane damage repair is mediated by an acid sphingomyelinase in Entamoeba histolytica. PLoS Pathogens, 15(8), e1008016

[21] Torres Castellanos, M. F. (2022). Análisis de la expresión de los genes que codifican para esfingomielinasas ácidas en respuesta a hierro y a estrés oxidativo en Trichomonas vaginalis [Tesis de maestría, Universidad de Guanajuato].

[22] WHO/PAHO/UNESCO Report. A Consultation with Experts on Amoebiasis. Mexico City, Mexico, 28–29 January 1997. Epidemiol. Bull. 1997, 18, 13–14.