



Revista Eugenio Espejo
ISSN: 1390-7581
ISSN: 2661-6742
revistaeugenioespejo@unach.edu.ec
Universidad Nacional de Chimborazo
Ecuador

Metabolismo intermediario de Blastocystis spp

Vielma Guevara, José Ramón; Buelvas Jimenez, Neudo

Metabolismo intermediario de Blastocystis spp

Revista Eugenio Espejo, vol. 15, núm. 2, 2021

Universidad Nacional de Chimborazo, Ecuador

Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=572866949013>

DOI: <https://doi.org/10.37135/ee.04.11.10>

Metabolismo intermediario de Blastocystis spp

Intermediate metabolism of Blastocystis spp

José Ramón Vielma Guevara
 Unidad Educativa Privada “Colegio Santa Mariana de Jesús”, Venezuela
 Universidad Nacional Experimental Sur del Lago “Jesús María Semprum”, Venezuela
 joravig@yahoo.com

 <https://orcid.org/0000-0003-1231-6793>

DOI: <https://doi.org/10.37135/ee.04.11.10>
 Redalyc: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=572866949013>

Neudo Buelvas Jimenez
 Pharmacology Laboratory and Pulmonary Physiopathology,
 Chile

 <https://orcid.org/0000-0002-1058-2943>

Recepción: 16 Julio 2020
 Aprobación: 11 Noviembre 2020

RESUMEN:

Blastocystis es un stramenopile o cromista, pleomórfico no móvil. Se han identificado diecinueve subtipos de este organismo (ST1-ST19). Tiene una presencia a nivel mundial. Este microorganismo tiene un metabolismo intermediario anaeróbico. Un aspecto interesante de la bioquímica de este stramenopile está dado por la presencia de organelas similares a mitocondrias con un conjunto de rutas: cadena de fosforilación oxidativa incompleta, ciclo de Krebs parcial, metabolismo de ácidos grasos (anabolismo y catabolismo), metabolismo de aminoácidos y ensamblaje de proteínas con centros hierro/azufre. El tratamiento se ha basado tradicionalmente en metronidazol y otros imidazoles. Sin embargo, hay un número creciente de cepas resistentes a esos medicamentos. La reciente obtención del genoma nuclear y los estudios bioquímicos, proteómicos, metabolómicos, interactómicos permitirán el desarrollo racional de nuevos fármacos curativos. El objetivo de esta revisión es describir el metabolismo de *Blastocystis* spp.

PALABRAS CLAVE: : *Blastocystis* , metabolismo, metronidazol.

ABSTRACT:

Blastocystis is a stramenopile or chromist, nonmobile pleomorphic. Nineteen subtypes of this organism (ST1-ST19) have been identified worldwide. This microorganism has an intermediate anaerobic metabolism. An interesting aspect of the biochemistry of this stramenopile is given by the presence of mitochondrial-like organelles with a set of pathways: incomplete oxidative phosphorylation chain, partial Krebs cycle, fatty acid metabolism (anabolism and catabolism), amino acid metabolism and protein assembly with iron / sulfur centers. Treatment has traditionally been based on metronidazole and other imidazoles. However, there are a growing number of strains resistant to these drugs. The recent obtaining of the nuclear genome and the biochemical, proteomic, metabolomic and interactomic studies will allow the rational development of new curative drugs. The objective of this review is to describe the metabolism of *Blastocystis* spp.

KEYWORDS: *Blastocystis* , metabolism, metronidazole.

INTRODUCCIÓN

Blastocystis es un organismo polimórfico, siendo las formas vacuolares, granular, ameboides y quísticas son las más frecuentes, aunque, las avacuolares, multivacuolares y aquellas con inclusiones filamentosas también se reconocen.^(1,2,3,4,5,6,7,8,9)

El ciclo de vida de este microorganismo, así como sus fuentes y mecanismos de transmisión no son totalmente conocidos; al respecto, las establecidas son: la vía fecal-oral, la ingestión de agua y alimentos contaminados y la transmisión zoonótica.^(10,11,12,13,14,15) Está presente en todo el mundo, siendo el stramenopile el que más afecta a los humanos.^(16,17,18,19,20,21,22,23,24,25,26,27,28,29,30)

Blastocystis ha sido considerado como material vegetal, hongo, flagelado o protozoo.^(5, 6, 31,32,33) En 1996, el análisis molecular de la subunidad pequeña del rRNA (SSU-rRNA) y del factor de elongación 1α , mostró que podría incluirse en heterokontophyta.^(34,35) Estudios posteriores, empleando múltiples secuencias moleculares de ocho genes, confirmaron su clasificación taxonómica como estramenopile.⁽³⁶⁾

Una característica distintiva de estramenopile es la presencia de un flagelo que le proporciona movilidad en alguna fase de su ciclo vital; contradictoriamente, *Blastocystis* no tiene flagelo. Este microorganismo se ha relacionado con la enfermedad gastrointestinal humana, conocida como blastocystosis o enfermedad de Zierdt-Garavelli.^(23, 27, 37) Además, se ha asociado con el síndrome de intestino irritable, urticaria, colitis ulcerosa, cáncer y artritis.^(30, 38,39,40,41,42,43,44)

Una particularidad de su bioquímica está dada por la presencia de organelas similares a mitocondrias (MLOs). En MLOs, las propiedades de organismos aeróbicos y anaeróbicos coexisten de manera simultánea, brindándole una extraordinaria capacidad para adaptarse, debido a la “plasticidad” de su metabolismo, lo que le confiere: resistencia al estallido respiratorio, adaptación a microambientes libres de oxígeno o a la presencia de este, gracias a la oxidasa alternativa (AOX), entre muchas otras cualidades.^(45, 46)

DESARROLLO

Metabolismo intermediario

En 2011, se propuso una reconstrucción de las vías metabólicas del ST7 de *Blastocystis* en MLOs con el uso de los algoritmos MitoProt y MitoPred,⁽⁴⁵⁾ lo que permitió la verificación de 365 proteínas diferentes en estas organelas con propiedades mixtas: dehidrogenosomas (metabolismo fermentativo) y de mitocondrias (metabolismo respiratorio). Trabajos previos, solo predijeron 110 proteínas en las MLOs, sin lograr el reconocimiento de las secuencias de señal de importación hasta las mitocondrias ubicadas en el extremo amino terminal.⁽⁴⁷⁾ varias rutas predichas se indican a continuación:⁽⁴⁵⁾

a) La conversión del piruvato en Acetil-CoA, por el complejo de deshidrogenasa (PDH), ferredoxina oxidoreductasa (PFOR) o NADP. oxidoreductasa (PNO).

b) El Acetil-CoA se convierte en Succinato CoA transferasa (ASCT) y podría permitir la producción de ATP.

c) El piruvato podría seguir varias rutas, que potencialmente usan los complejos I y II de la cadena de transporte de electrones para producir succinato (y propionato) y participar en el mantenimiento del equilibrio de óxido-reducción (redox).

d) Metabolismo de ácidos grasos.

e) Metabolismo de aminoácidos.

f) Rutas para el ensamblaje de proteínas con centros hierro/azufre.

g) Maquinaria de importación en organelas similares a mitocondrias.

h) Enzimas contra el estrés oxidativo: superóxido dismutasa (SOD), AOX, glutatión reductasa (GR) y glutatión peroxidasa (GPx), el papel del glicerol 3 fosfato deshidrogenasa (G3PDH) no ha sido determinado.⁽⁴⁵⁾

i) Ciclo de la urea.⁽⁴⁷⁾

j) Producción del propionatos.⁽⁴⁷⁾

De las 365 proteínas predichas con la combinación de los dos algoritmos, un total de 299 presentaron una secuencia de señal de importación, mientras que para las 66 proteínas restantes se sugiere un mecanismo diferente de importación.⁽⁴⁵⁾

Metabolismo de los ácidos grasos de *Blastocystis*

Anabolismo de ácidos grasos

Una de las diferencias cruciales entre el metabolismo de los ácidos grasos de mamíferos y el de *Blastocystis* es su ubicación subcelular diferente: en humanos y hongos ocurre en el citosol (anabolismo de ácidos grasos), en plantas ocurre en cloroplastos; mientras que, en el cromista, se produce en las MLOs. El principal precursor de la biosíntesis de ácidos grasos es el malonil-CoA (figura 1), derivado a su vez del Acetil-CoA. En este paso donde se produce la regulación de la vía anabólica, la enzima limitante de la tasa metabólica es la acetil-CoA carboxilasa, responsable de la transferencia de un átomo de carbono derivado del CO₂ hasta el sustrato, que requiere del cofactor biotina.⁽⁴⁸⁾ Esta enzima fue predicha para *Blastocystis*; sin embargo, hay otras enzimas del metabolismo de los ácidos grasos que no fueron predichas.⁽⁴⁵⁾

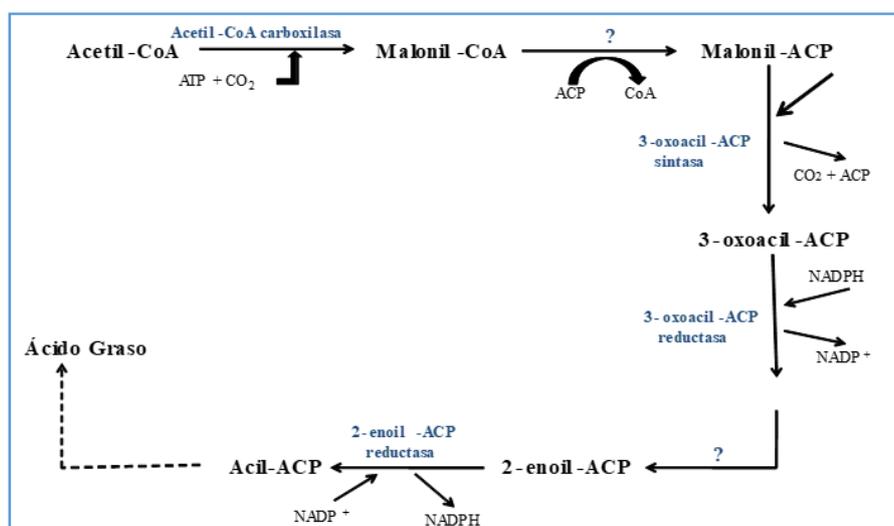


FIGURA 1

Anabolismo de ácidos grasos en las MLOs de *Blastocystis* spp Fuentes Denoeud et al 2011⁴⁵ Vielma y ChacínBonilla 2020⁶ Enzimas no predichas

Figura 1. Anabolismo de ácidos grasos en las MLOs de *Blastocystis* spp. Fuentes: Denoeud *et al.*, 2011;⁽⁴⁵⁾ Vielma y Chacín-Bonilla, 2020⁽⁶⁾. ?= Enzimas no predichas.

Los ácidos grasos tienen cuatro funciones metabólicas trascendentes en las células de los mamíferos: forman parte de estructuras más complejas, como los fosfolípidos y los glucolípidos que son moléculas que estructuran la membrana celular debido a su carácter anfipático. Se unen a las proteínas, facilitando su inserción en la bicapa lipídica de la membrana celular. Los ácidos grasos se usan como combustible metabólico de reserva almacenando triacilglicérols (tríesteres del glicerol). Además de actuar como mensajeros intracelulares.⁽⁴⁸⁾

En 1994, se demostró que el microorganismo tiene la capacidad de sintetizar la mayoría de los lípidos celulares *de novo*, sugiriendo que adquiere colesterol libre y ésteres de colesterol intactos, directamente del medio de crecimiento. Mediante marcaje radiactivo, las cepas axénicas de *Blastocystis* incorporaron el isótopo ³²P agregado al medio como ortofosfato, hasta una serie de fosfolípidos que incluyeron esfingomielina, cardiolipina, ácido fosfatídico, fosfoglicéridos de colina, etanolamina, serina e inositol y algunos otros fosfolípidos menores. El palmitato radiactivo y el glicerol proporcionados al medio de crecimiento, introdujeron radiomarcadores en diacilglicérols, triacilglicérols y todos los principales fosfoglicéridos encontrados. El palmitato es un ácido graso importante de los ésteres de colesterol en *Blastocystis*, pero la variante radioactiva no entró en ese grupo. El colesterol y los ésteres del colesterol, no se marcaron cuando las células se cultivaron en presencia de glucosa radioactiva, ácido mevalónico o mevalonolactona.⁽⁴⁹⁾

Hay hallazgos muy interesantes en aislamientos de *Blastocystis* obtenidos de humanos y avestruces, en relación con la acumulación de grandes cantidades de lípidos por las formas vacuolares del ST4, aislado WR1 en aves, lo que podría tener profundas implicaciones en la transmisión zoonótica.⁽⁵⁰⁾

Del enfoque proteómico realizado a 2.766 proteínas, se destacó el papel de una pequeña proteína de unión a GTP del factor de ribosilación del ADP, involucrado en el tráfico intracelular, como principal regulador de la biogénesis de vesículas celulares y de otra proteína tipo canal selectivo para aniones voltaje dependiente.⁽⁵⁰⁾

β -oxidación de ácidos grasos

En las células de mamíferos, la separación entre la β -oxidación de los ácidos grasos en las mitocondrias y la biosíntesis en el citosol permiten que cada proceso se controle individualmente y se integre con los requerimientos específicos del tejido. Cada paso en la oxidación incluye derivados de Acil-CoA, y es catalizado por enzimas que usan NAD y FAD, generando gran cantidad de ATP, lo que favorece el equilibrio energético celular, ya que esta energía se utilizará en múltiples procesos metabólicos. La β -oxidación de los ácidos grasos en mamíferos es un proceso aeróbico. Antes de que los ácidos grasos se puedan catabolizar, estos deben convertirse en un intermediario activo, siendo el único paso en el catabolismo completo de un ácido graso, que necesita energía del ATP. En presencia de ATP y de coenzima A, la enzima Acil-CoA sintetasa (tioquinasa) cataliza la conversión de un ácido graso en "ácido graso activo" o Acil-CoA, lo que utiliza un fosfato de alta energía con la posterior formación de AMP y PPI.⁽⁴⁸⁾

En la β -oxidación, dos átomos de carbono se separan de las moléculas de Acil-CoA, comenzando en el extremo carbonilo. La cadena se rompe entre los átomos de carbono α (dos) y β (tercer carbono), de ahí el nombre β -oxidación. Las dos unidades de carbono que se forman son Acetil-CoA, cuyo número de átomos de carbono en el ácido graso determinará la cantidad de moléculas que se formen. Una modificación de β -oxidación en humanos, se encuentra en los peroxisomas y conduce a la formación de Acetil-CoA y H₂O (la deshidrogenasa unida a flavoproteína). Este es el último producto que se desintegra en agua y oxígeno por la acción de la catalasa. Por lo tanto, esta deshidrogenación en los peroxisomas no está directamente relacionada con la fosforilación oxidativa y la generación de ATP.⁽⁴⁸⁾

β -oxidación de ácidos grasos en *Blastocystis*

En la vía catabólica, se destacan dos enzimas importantes de la β -oxidación de ácidos grasos no predichas por los algoritmos MitoPred y MitoProt (el equivalente de la deshidrogenasa de Acil-CoA y la tiolasa presentes en mamíferos) (figura 2). La hipótesis de una regulación diferente a la observada en humanos, puede inferirse en el caso de *Blastocystis*; donde las dos rutas (anabolismo y catabolismo) coexisten en la misma organela y, en este mismo sentido, la interpretación de las diferencias entre estos metabolismos posibilitan referir un posible papel patógeno y permitir el diseño racional de nuevas drogas curativas contra *Blastocystis*.⁽⁴⁵⁾

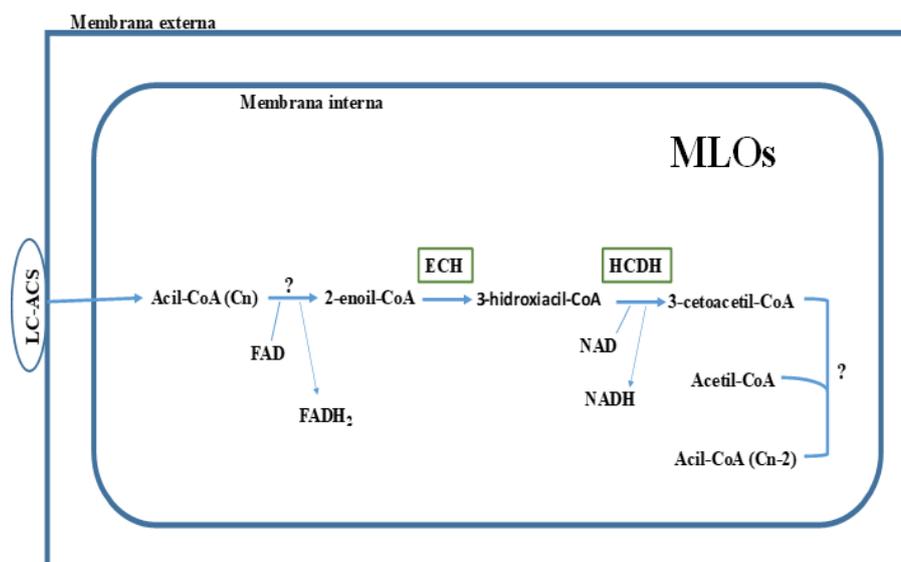


FIGURA 2

βoxidación de ácidos grasos en Blastocystis Fuentes Denoeud et al 201145 Vielma y ChacínBonilla 20206 Enzima no predicha por los algoritmos utilizados LCACS AcilCoA sintetasa de cadena larga ECH enoilCoA reductasa HCDH 3hidroxiacilCoA deshidrogenasa

Figura 2. β-oxidación de ácidos grasos en *Blastocystis*. Fuentes: Denoeud *et al.*, 2011,⁽⁴⁵⁾ Vielma y Chacín-Bonilla, 2020⁽⁶⁾. ? = Enzima no predicha por los algoritmos utilizados; LC-ACS = Acil-CoA sintetasa de cadena larga; ECH = enoil-CoA reductasa; HCDH = 3-hidroxiacil-CoA deshidrogenasa.

Equilibrio redox

La oxidación biológica se define como la pérdida de electrones o la ganancia de protones; mientras que, la reducción es la ganancia es el proceso inverso. En los sistemas vivos, estas reacciones ocurren simultáneamente, cuando un sustrato se oxida, el siguiente se reduce y viceversa; siempre que la reacción se acople a cuatro tipos principales de enzimas oxidoreductoras: oxidasas, deshidrogenasas, hidropoxidasas y oxigenasas. De manera similar, en las reacciones redox, el cambio en la energía libre es proporcional a la tendencia de los reactivos a donar o aceptar electrones. De esa manera, expresa el cambio de energía libre en términos de ΔG° y es posible expresarlo numéricamente como un potencial redox (E°) de manera análoga.⁽⁴⁸⁾

En cualquier sistema vivo debe haber necesariamente un equilibrio redox y energético. Este último es medido como la cantidad de moléculas de ATP disponibles y equivalentes reductores NADPH que constituyen la moneda energética celular. En el primero, se almacena como enlaces fosfato de alta energía y como potencial redox en el caso del NADPH. Esta última molécula se genera principalmente en la rama oxidativa de la vía de las pentosas fosfato, mediante la catálisis de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa y la 6-fosfogluconato deshidrogenasa. En mamíferos, la vía de las pentosas fosfato es activa en hígado, tejido adiposo, corteza suprarrenal, tiroides, eritrocitos, testículos y glándulas mamarias durante la lactancia. Los tejidos en los que la vía está activa usan NADPH en síntesis reductoras, por ejemplo: ácidos grasos, esteroides, aminoácidos por glutamato deshidrogenasa y glutatión reducido.⁽⁴⁸⁾

Existen otras enzimas que generan poder redox en forma de NADPH, como la enzima málica y la malato deshidrogenasa, que son útiles para la biosíntesis.⁽⁴⁸⁾ En *Blastocystis*, la ruta de la pentosa fosfato y la actividad específica de las enzimas generadoras de NADPH han sido poco estudiadas. Su posible patogenicidad le podría asociar con el daño al intestino grueso por estrés oxidativo y ser una posible causa del síndrome de intestino irritable y urticaria.

Radicales libres

Un radical libre es un átomo o molécula con un solo electrón no apareado. Ejemplos: óxido nítrico (.NO), anión superóxido ($O_2^{\bullet -}$), radical hidroxilo (.OH), radical lipoperóxido (LOO.). Aunque el oxígeno molecular (O_2) tiene dos electrones aislados en diferentes orbitales, no es un radical libre. Sin embargo, el O_2 reacciona rápidamente con la mayoría de los radicales, formando a su vez otros radicales libres, que son más reactivos y causan oxidación selectiva de lípidos, proteínas o moléculas de ADN.^(51,52,53,54)

La mayoría de los radicales que se producen *in vivo* son especies reactivas de oxígeno (ROS) o especies reactivas de nitrógeno (RNS). Los RNS incluyen peroxinitrito (ONOO.), monóxido nítrico (.NO) y dióxido de nitrógeno (NO₂). Los organismos aeróbicos han desarrollado un complejo sistema de defensa antioxidante para combatir los efectos destructivos de los productos de O_2 . Desafortunadamente, este sistema de defensa no es perfecto y siempre se produce algún daño molecular, que conduce a enfermedades y envejecimiento.^(51,52,53,54)

La transferencia de un solo electrón al O_2 genera el radical libre anión superóxido ($O_2^{\bullet -}$), con potencial dañino, lo que resulta en reacciones en cadena de formación de un mayor número de radicales libres (estrés oxidativo), lo cual amplifica sus efectos destructivos (daño oxidativo producido en proteínas, DNA y lipoperoxidación). La facilidad con la que se puede formar $O_2^{\bullet -}$ a partir del oxígeno en los tejidos y la presencia de SOD, siendo la enzima de cuya eliminación depende de todos los organismos aeróbicos, indicando que la toxicidad potencial del O_2 se debe a su conversión en $O_2^{\bullet -}$. El anión superóxido se forma cuando las flavinas reducidas presentes (como la xantina oxidasa) sufren una oxidación de forma univalente por acción del O_2 .⁽⁴⁸⁾

El oxígeno inicialmente sufre una reducción de un solo electrón para producir el $O_2^{\bullet -}$, que se dismuta en H₂O₂ o se combina con .NO para formar ONOO., que también puede degradarse en .OH o un metabolito tóxico similar. El H₂O₂ se convierte en .OH en presencia de un metal de transición como el hierro.⁽⁵⁴⁾ El .OH es el más electrofílico y reactivo de los radicales de oxígeno, con una vida media de aproximadamente 10⁻⁹ segundos y puede reaccionar inmediatamente en el sitio de su formación, dañando casi cualquier molécula cercana. La reactividad de .NO es bastante baja, pero reacciona con O_2 , produciendo ONOO., que es un oxidante potente, capaz de reaccionar con proteínas, lípidos y ADN.⁽⁵²⁾

Estrés oxidativo en *Blastocystis*

Blastocystis tiene el gen *sod* y la SOD se puede encontrar en su secretoma.⁽⁴⁵⁾ Este hecho puede parecer una paradoja debido a su metabolismo principalmente anaeróbico; sin embargo, esta enzima es fundamental para que el cromista resista las fluctuaciones en los niveles de oxígeno en los diferentes microambientes que este coloniza. La Figura 3 muestra el equilibrio redox en *Blastocystis* (figura 3). En 2011,⁽⁴⁵⁾ se identificó teóricamente el gen que codifica una AOX que podría ser el receptor de electrones terminales de los complejos I y II, permitiendo la adaptación al estrés generado por el oxígeno y manteniendo el equilibrio NADPH/NADP., similarmente al caso *Cryptosporidium parvum*.^(55,56) Esa hipótesis fue validada en 2018,⁽⁵⁷⁾ demostrando que en *Blastocystis* las células respiran oxígeno a través de esta AOX (figura 3).

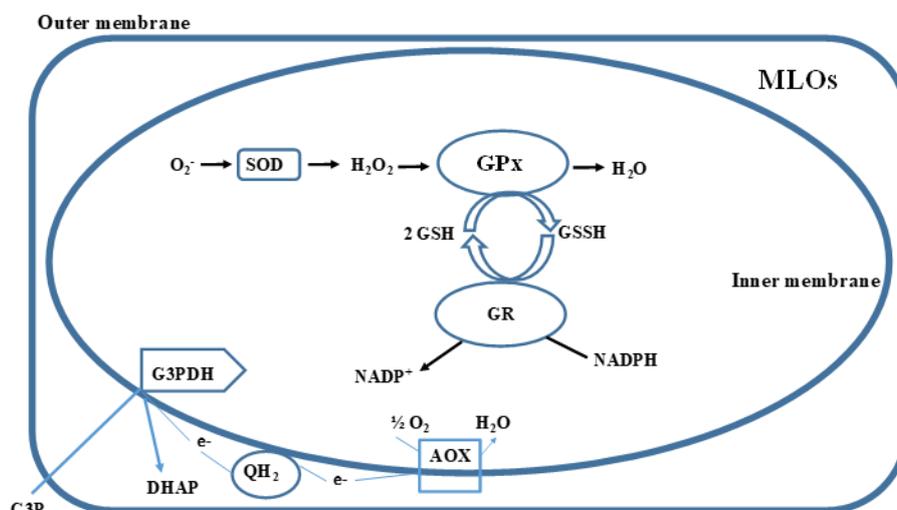


FIGURA 3

Balance redox en *Blastocystis* spp Fuentes Denoed et al 2011⁴⁵ Vielma y ChacínBonilla 2020⁶ MLO orgánulos de tipo mitocondrial AOX oxidasa alternativa SOD superóxido dismutasa GR glutatiol reductasa GPx glutatiol peroxidasa GPx G3PDH glicerol3fosfato deshidrogenasa G3P glicerol3fosfato DHAP dihidroxiacetona fosfato

Figura 3. Balance redox en *Blastocystis* spp. Fuentes: Denoed *et al.*, 2011,⁽⁴⁵⁾ Vielma y Chacín-Bonilla, 2020.⁽⁶⁾ MLO = orgánulos de tipo mitocondrial, AOX = oxidasa alternativa, SOD = superóxido dismutasa, GR = glutatiol reductasa, GPx = glutatiol peroxidasa (GPx) G3PDH = glicerol-3-fosfato deshidrogenasa, G3P = glicerol-3-fosfato, DHAP = dihidroxiacetona fosfato.

Las oxidasas alternativas son enzimas energéticamente derrochadoras, por no ser un motivo protónico y liberar energía en forma de calor, pero se consideran involucradas en los mecanismos de protección contra el estrés oxidativo. Una estrategia combinada de clonación, expresión y purificación de AOX, ensayos de actividad específica, Western blot, inmunolocalización, respirometría de alta resolución y modelado de proteínas demostraron que los residuos funcionales se conservan en la AOX de *Blastocystis* al ser alineados con secuencias AOX de *Trypanosoma brucei* y *Sauromatum guttatum*.⁽⁵⁷⁾

El modelo de homología de AOX de *Blastocystis* se obtuvo a partir de la estructura cristalina de la oxidasa alternativa de *Trypanosoma*. La AOX se enriquece en fracciones mitocondriales, según análisis de Western blot y de la electroforesis en geles de poliacrilamida SDS-PAGE para extractos proteicos de células completas, fracciones mitocondriales y citosólicas teñidas con azul de Coomassie. Se demostró la absorción de oxígeno por la AOX de *Blastocystis*, utilizando una proteína recombinante obtenida *Escherichia coli* y la AOX resulta sensible al ácido salicilhidroxámico y a los inhibidores de tenoiltrifluoroacetona.⁽⁵⁷⁾

En general, esos resultados "sugieren que *Blastocystis* puede hacer frente a las fluctuantes concentraciones de oxígeno, que podría encontrar en el intestino humano, y podría describirse mejor como un **microaerófilo**. Sin embargo, considerando su metabolismo energético independiente del oxígeno, en general, parece poco probable que el intestino disbiótico de los pacientes con síndrome de intestino irritable sea un hábitat adecuado para este anaerobio".⁽⁵⁷⁾

Importación de proteínas hasta mitocondrias en mamíferos

En los mamíferos, al menos una docena de polipéptidos involucrados en el transporte de electrones mitocondriales están codificados por el genoma mitocondrial y se sintetizan en esta organela. Sin embargo, la gran mayoría de los polipéptidos que residen en las mitocondrias están codificados por genes nucleares y se sintetizan fuera de estos en los polirribosomas citosólicos, por lo que es necesario la existencia de una

maquinaria de importación. En este proceso se reconocen las secuencias previas y aquellas de señales de importación, para que cada cadena de polipéptidos alcance su ubicación celular específica.⁽⁴⁸⁾

Varias mutaciones de las subunidades F1 de la ATPasa han permitido conocer en detalle este proceso. Las proteínas de la matriz mitocondrial deben pasar de los polirribosomas citosólicos a través de las membranas mitocondriales internas y externas para llegar a su destino mediante la translocación. Los polipéptidos recién sintetizados tienen una secuencia líder amino terminal (secuencia previa) integrada por de 20 a 50 aminoácidos con características particulares: anfipático por contener aminoácidos hidrófobos y con cargas positivas del tipo de lisina o arginina. La presecuencia es equivalente al péptido señal que media la fijación de los polirribosomas a las membranas, dirigiendo los polipéptidos nacientes hacia la matriz mitocondrial. La translocación ocurre postraduccionalmente, las interacciones con proteínas citosólicas que actúan como chaperonas y como factores de dirección ocurren antes de la translocación en dos posibles complejos: TOM (translocasa de la membrana externa) y TIM (translocasa de la membrana interna).⁽⁴⁸⁾

La importación de proteínas en las mitocondrias a través de la membrana interna requiere una fuerza protón motriz, pues existe carga negativa en la matriz. La presecuencia se divide en la matriz por medio de una proteasa de procesamiento de matriz (MPP). El contacto con otras chaperonas presentes en la matriz es esencial para completar el proceso general de importación.⁽⁴⁸⁾

Maquinaria de importación a organelas similares a mitocondrias en *Blastocystis* spp.

La presencia de variantes del mecanismo de importación de proteínas TIM/TOM parece ser común a todos los tipos de MLOs con diferentes niveles de complejidad.^(58,59,60) En 2008, se identificaron varias proteínas de la maquinaria de importación TIM/TOM en *Blastocystis*, identificando una proteína metaloproteasa 1 que podría tener misma función (figura 4). Esta característica es distintiva del metabolismo demamíferos.⁽⁴⁷⁾

La descripción de la maquinaria de importación de MLOs en *Blastocystis* spp se obtuvo usando una combinación de bioinformática, complementación genética y el análisis de microscopía de inmunofluorescencia, demostrando que funciona como un Tom70 típico en MLOs de *Blastocystis*. La presencia de Tom70 en diferentes linajes expande el espectro evolutivo de eucariotas que contienen esta proteína y sugiere que forma parte del aparato de importación de proteína mitocondrial central del eucariota ancestral común.⁽⁶¹⁾

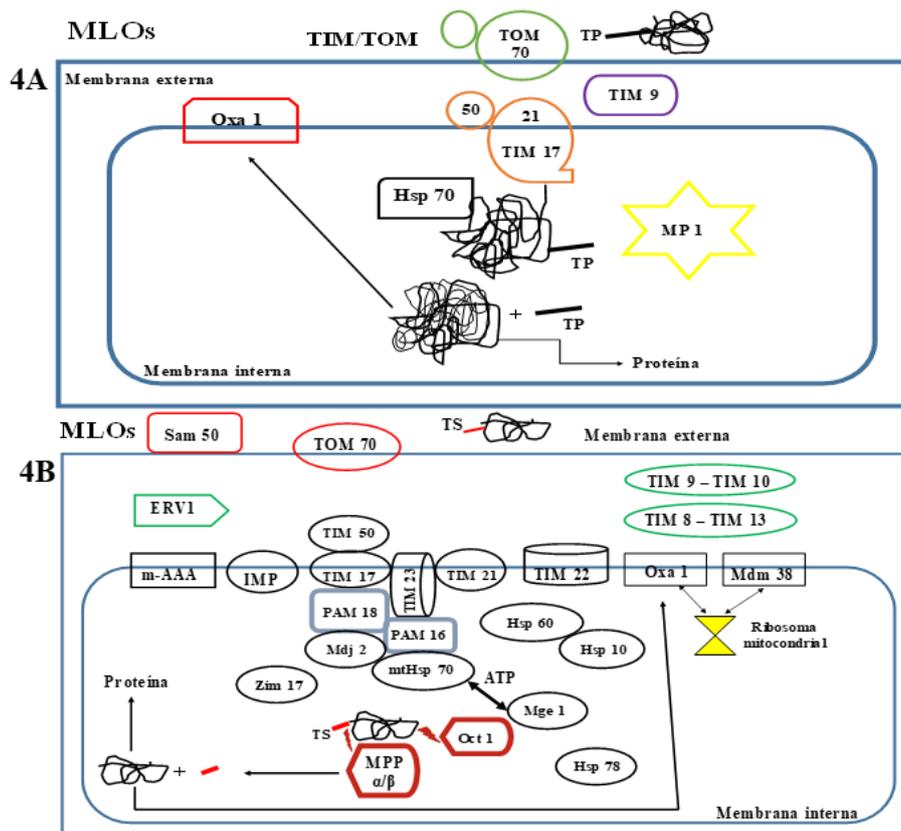


FIGURA 4A

Maquinaria de importación de proteínas hasta las MLOs en *Blastocystis* spp. Modelo propuesto por Stechmann et al en 2008⁴⁷ Vielma y Chacín-Bonilla 2020⁶ Figura 4B Maquinaria de importación hasta las MLOs en *Blastocystis* spp. Fuentes: Denoed et al 2011⁴⁵ Vielma y Chacín-Bonilla 2020⁶ MP1 metaloproteasa 1 TIM translocasa de membrana interna TOM translocasa de membrana externa

Figura 4A. Maquinaria de importación de proteínas hasta las MLOs en *Blastocystis* spp. Modelo propuesto por Stechmann *et al.*, en 2008,⁽⁴⁷⁾ Vielma y Chacín-Bonilla, 2020.⁽⁶⁾ **Figura 4B.** Maquinaria de importación hasta las MLOs en *Blastocystis* spp. Fuentes: Denoed *et al.*, 2011,⁽⁴⁵⁾ Vielma y Chacín-Bonilla, 2020⁽⁶⁾. MP1 = metaloproteasa 1, TIM = translocasa de membrana interna, TOM = translocasa de membrana externa.

TOM 70 solo se había identificado en hongos y animales, pero en el año 2011, se identificó como pieza clave de la maquinaria de importación mitocondrial en *Blastocystis*.⁽⁶¹⁾ En el año 2020, se detectó en parásitos de la familia Trypanosomatidae, posibilitando establecer un reemplazo en el motor de importación de la membrana mitocondrial interna (PAM) de los tripanosomas designado como JPam18.⁽⁶²⁾

Metabolismo del piruvato

En las células de mamíferos, el piruvato es el principal producto terminal en el glicólisis. Este se oxida hacia CO₂ y agua en condiciones aeróbicas, donde el oxígeno constituye el aceptor final de electrones en la cadena de transporte de electrones de las mitocondrias. Cuando hay una falta de oxígeno, la reoxidación mitocondrial del NADH formado durante la glicólisis se altera, reduciendo el piruvato a lactato. La glicólisis puede ocurrir en condiciones anaeróbicas, pero limita la cantidad de ATP formado por cada mol de glucosa oxidada (2 mol de ATP en anaerobiosis y 32 mol de ATP en condiciones aeróbicas por cada mol de glucosa oxidada respectivamente). En levaduras y algunos otros microorganismos, el piruvato formado en la glicólisis anaeróbica no se reduce a lactato, sino que se descarboxila y se reduce a etanol.⁽⁴⁸⁾

La encrucijada del piruvato en *Blastocystis*

Los protistas y hongos "amitocondriados" contienen organelas unidas a la doble membrana y derivados de mitocondrias.⁽⁵⁸⁾ Estas se clasifican en dos tipos: hidrogenosomas o mitosomas anaerobios productores de ATP, sin un papel obvio en el metabolismo energético.⁽⁴⁷⁾ La presencia del genoma mitocondrial que codifica los componentes típicos de la cadena de transporte de electrones en los MLOs de *Blastocystis* insinúa propiedades bioquímicas de tipo mitocondrial. Mientras que, la probable localización de [Fe-Fe] hidrogenasa y PFOR en la misma organela sugiere más el metabolismo hidrogenosómico. Una diferencia importante entre los MLOs de *Blastocystis* y otros hidrogenosomas y mitosomas conocidos está dada por la presencia del complejo PDH.^(45,47)

La conversión de piruvato en Acetil-CoA a través del complejo de la PDH o PFOR es posible. La PFOR reduce la flavodoxina y la [Fe-Fe] hidrogenasa, oxida la flavodoxina con la producción concomitante de hidrógeno molecular; sin embargo, no se ha demostrado la producción de hidrógeno para *Blastocystis*.⁽⁴⁷⁾ La Acetil-CoA es convertida por la ASCT en acetato (lo que aún no ha sido comprobado), pero se logró identificar una Acetil-CoA hidrolasa similar a la ASCT en hidrogenosomas de *Trichomonas*.⁽⁶³⁾

En 2011, se ampliaron los detalles de la encrucijada del metabolismo del piruvato debido a la secuenciación completa del genoma nuclear del ST7. En los MLOs es probable que haya tres formas de producir Acetil-CoA a partir de piruvato respaldado por la presencia del complejo PDH y PFOR: NADP. oxidorreductasa. Las mitocondrias de *Euglena gracilis* incluyen esta característica que proporcionan adaptabilidad a varios niveles de oxígeno.⁽⁶⁴⁾ Lo que también podría ocurrir en *Blastocystis*.

En 2011, se "identificaron las 20 subunidades del complejo I en MLOs (diez están codificados por el genoma MLOs y diez por genes nucleares). De igual forma, fueron detectadas las cuatro subunidades codificadas nuclearmente del complejo II de la cadena respiratoria mitocondrial y este complejo podría funcionar de dos maneras (a través de succinato deshidrogenasa o fumarato reductasa)".⁽⁶⁵⁾ Sin embargo, "no se identifica ningún gen que codifique complejos de subunidades III y IV o ATP sintasa, encontrando componentes del ciclo de Krebs, involucrados con el complejo II (fumarato reductasa), en la respiración del fumarato".⁽⁶⁵⁾

Implicaciones potenciales de los hallazgos de la bioquímica de *Blastocystis*

Lo expuesto conduce a la hipótesis del posible rol patógeno del cromista. El hecho de contar con un metabolismo anaeróbico o microaerófilo con rutas bioquímicas en MLOs disímiles en cuanto a estructura y posibles mecanismos de regulación permitirían (desde una concepción teórica) el desarrollo y síntesis de nuevos fármacos, con actividad frente a los diferentes subtipos (genotipos) y aislados (cepas) de *Blastocystis* spp. Esos medicamentos deberían reunir un conjunto de características: generar una cura radical (la eliminación del estramenopile), su acción serán las enzimas limitantes de tasa en las rutas metabólicas antes señaladas como un inhibidor no competitivo, tener efectividad en dosis bajas, no generar efectos secundarios indeseables en el humano y ser de administración oral.^(5,6,66)

El metronidazol y otros imidazoles relacionados constituyen la mejor opción terapéutica frente a la infección por *Blastocystis* spp. No obstante, se ha observa un incremento en la resistencia a estos fármacos.^(5,6) Por consiguiente, explotar diferencias estructurales (secuencias de residuos de aminoácidos) en enzimas de *Blastocystis* es una elección lógica para el diseño racional de futuros fármacos.

En un experimento con ratones infectados de *Blastocystis*, se pudo evidenciar un efecto sinérgico de la atorvastatina (AVA) y el metronidazol (MTZ) con una estrategia que incluyó: estudios histopatológicos, parasitológicos y de microscopía electrónica de transmisión. Los regímenes de AVA (20 y 40 mg/kg de peso) demostraron ser eficaces contra las infecciones por *Blastocystis*, dosificando la administración en 10 mg/Kg de peso del animal de MTZ.⁽⁶⁷⁾

Las mayores reducciones (98,1% y 99,4%) fueron registradas en grupos de tratamientos combinados de AVA 20-40 mg/Kg y MTZ 10 mg/Kg, esos investigadores observaron que *Blastocystis* fue casi erradicado a los 20 días después de la infección. El análisis por genotipos reveló que el genotipo I era el más susceptible;

mientras que, el genotipo III resultó menos susceptible. Los estudios histopatológicos y ultraestructurales revelaron cambios apoptóticos en el microorganismo y una mejoría en los daños intestinales, lo que fue más notables en los grupos de terapia combinada.⁽⁶⁷⁾

Al abordar el paradigma en el estudio de *Blastocystis* que está relacionado con su papel en el microbioma intestinal. Hallazgos recientes en seres humanos han mostrado cambios asociados directamente con el estramenopile en la composición de la microbiota bacteriana, pero no se define si estos ocurren debido a la presencia de *Blastocystis* o como resultado de un proceso inmunológico innato, consistente con inflamación (vasodilatación, edema, rubor, dolor, aumento de la temperatura local).^(68,69,70)

Un equipo investigadores Mexicanos evaluó la microbiota y la eucariota fecal bacteriana en 156 adultos asintomáticos procedentes de una población rural en Xoxocotla. La colonización con *Blastocystis* se asoció fuertemente con un aumento en la diversidad α -bacteriana y con notorios e importantes cambios en la diversidad β -bacteriana; así como, con cambios más discretos en el eucarioma microbiano. Más de 230 unidades taxonómicas operativas (OTU, acrónimo en inglés) incluidas las de las especies dominantes *Prevotella copri* y *Ruminococcus bromii* (anaerobios estrictos) fueron diferencialmente abundantes en la población de estudio. Grandes cambios funcionales acompañaron dichas observaciones, con abundancias diferenciales de 202 (de 266) vías metabólicas predichas, así como concentraciones fecales más bajas de acetato, butirato y propionato en individuos colonizados. La calprotectina fecal se redujo notablemente en asociación con la colonización por *Blastocystis*, lo que sugiere un cambio ecológico que conlleva a consecuencias inmunitarias subclínicas para el hospedador asintomático.^(68,69,70)

CONCLUSIÓN

Blastocystis es un stramenopile prevalente y se considera un colonizador del intestino grueso de humanos y otros animales. Su metabolismo es esencialmente anaeróbico. Sin embargo, la presencia de AOX y las rutas metabólicas en MLOs suponen un microaerófilo. Los estudios bioquímicos básicos permitirán comprender las diferencias estructurales básicas de enzimas limitantes de tasa metabólicas para desarrollar nuevos fármacos curativos, partiendo del posible rol patógeno de *Blastocystis*. Aunque, la evidencia reciente sugiere que es poco probable que el intestino disbiótico de los pacientes con síndrome de intestino irritable sea un microambiente “ideal” para este cromista, sin que esto evite sugerir que *Blastocystis* pudiese ser causa de dicha disbiosis.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existen.

Declaración de contribución

JR Vielma y N Buelvas participaron en la recolección de la información científica actualizada; así como, en la elaboración y organización del documento.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Skotarczak B. Genetic diversity and pathogenicity of *Blastocystis*. Ann Agric Environ Med [Internet]. 2018 [citado 01 Mar 2020]; 25 (3): 411-416. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30260199/>.
2. Mohammad NA, Al-Mekhlafi HM, Moktar N, Anuar TS. Prevalence and risk factors of *Blastocystis* infection among underprivileged communities in rural Malaysia. Asian Pac J Trop Med [Internet]. 2017 [citado 29 Nov 2019]; 10(5): 491-497. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28647187/>.
3. AbuOdeh R, Ezzedine S, Samie A, Stensvold CR, ElBakri A. Prevalence and subtype distribution of *Blastocystis* in healthy individuals in Sharjah, United Arab Emirates. Infect Genet Evol [Internet]. 2016 [citado 11 Dic 2020]; 37: 158-162. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26611823/>.
4. Yason JA, Tan KSW. Seeing the Whole Elephant: Imaging Flow Cytometry Reveals Extensive Morphological Diversity within *Blastocystis*. PLoS One [Internet]. 2015 [citado 01 Nov 2019]; 10(11): e0143974. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26618361/>.

5. Vielma JR. Blastocystosis: Epidemiological, clinical, pathogenic, diagnostic, and therapeutic aspects. Invest Clin [Internet]. 2019 [citado 05 Ene 2020]; 60(1): 53-78. Disponible en: <https://doi.org/10.22209/IC.v60n106>.
6. Vielma-Guevara JR, Chacín-Bonilla L. *Blastocystis* spp. Infection: Update on Metabolism. Epidemiology, Immunopathology, and Clinical Relevance. 1. ed. Riga, Latvia: LAP Lambert Academic Publishing; 2020.
7. Vielma JR, Pérez IF, Villarreal Andrade JC, Vegas ML, Reimi Y, Belisario M, et al. Prevalencia de *Blastocystis* spp. y enteroparásitos en pacientes que asisten a dos instituciones de salud pública, occidente venezolano. Acta Bioclínica [Internet]. 2017 [citado 28 Oct 2019]; 7(14): 80-99. Disponible en: <http://erevistas.saber.ula.ve/index.php/actabioclinica/article/view/8358/8302>.
8. Jiménez PA, Jaimes JE, Ramírez JD. A summary of *Blastocystis* subtypes in North and South America. Parasites Vectors [Internet]. 2019 [citado 05 Ene 2020]; 12(1): 376. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31358042/>.
9. Stensvold CR, Clark CG. Current status of *Blastocystis*: A personal view. Parasitol Int [Internet]. 2016 [citado 01 Dic 2019]; 65(6 Pt B): 763-771. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27247124/>.
10. Noradilah SA, Lee IL, Anuar TS, Salleh FM, Abdul Manap SN, MohdMohtar NS, et al. Occurrence of *Blastocystis* sp. in water catchments at Malay villages and Aboriginal settlement during wet and dry seasons in Peninsular Malaysia. Peer J [Internet]. 2016 [citado 01 Dic 2019]; 4: e2541. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5068341/>.
11. Gabrielli S, Furzi F, Sulekova LF, Taliani G, Mattiucci S. Occurrence of *Blastocystis*- subtypes in patients from Italy revealed association of ST3 with a healthy gut microbiota. Parasite Epidemiol Control [Internet]. 2020 [citado 20 Ene 2029]; 9: e00134. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32258445/>.
12. Yoshikawa H, Tokoro M, Nagamoto T, Arayama S, Asih PB, Rozi IE, et al. Molecular survey of *Blastocystis* sp. from humans and associated animals in an Indonesian community with poor hygiene. Parasitol Int [Internet]. 2016 [citado 01 Mar 2020]; 65(6 Pt B): 780-784. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27080248/>.
13. Vielma JR, Pérez IF, Vegas ML, Reimi Y, Díaz S, Gutiérrez LV. *Blastocystis* spp. y otros enteroparásitos en personas que asisten al ambulatorio urbano tipo II IPASME-Barinas. Observador del Conocimiento [Internet]. 2016 [citado 01 Nov 2020]; 3(2): 69-74. Disponible en: https://issuu.com/oncti/docs/revista_oc_vol3n2/71.
14. Greige S, El Safadi D, Bécu N, Gantois N, Pereira B, Chabé M, et al. Prevalence and subtype distribution of *Blastocystis* sp. isolates from poultry in Lebanon and evidence of zoonotic potential. Parasit Vectors. 2018; 11(1): 389.
15. Vielma JR, Delgado Y, Bravo YA, Gutiérrez Peña LV, Villarreal JC. Enteroparasites and thermotolerant coliforms in water and human feces of sectors Juan de Dios González and El Moralito, Colón Municipality, Zulia State. Acta Bioclínica [Internet]. 2016 [citado 04 Ene 2020]; 6(11): 25-43. Disponible en: <http://erevistas.saber.ula.ve/index.php/actabioclinica/article/view/7361/7230>.
16. Heudorf U, Karathana M, Krackhardt B, Huber M, Raupp P, Zinn C. Surveillance for parasites in unaccompanied minor refugees migrating to Germany in 2015. GMS Hyg Infect Control [Internet] 2016 [citado 20 Enero 2020]; 11. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26958459/>.
17. El Safadi D, Gaayeb L, Meloni D, Cian A, Poirier P, Wawrzyniak I, et al. Children of Senegal River Basin show the highest prevalence of *Blastocystis* sp. ever observed worldwide. BMC Infect Dis. 2014; 14: 164.
18. D'Alfonso R, Santoro M, Essi D, Monsia A, Kaboré Y, Glé C, et al. *Blastocystis* in Côte d'Ivoire: molecular identification and epidemiological data. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2017; 36(11): 2243-50.
19. Reh L, Muadica AS, Köster PC, Balasegaram S, Verlander NQ, Chércoles ER, et al. Substantial prevalence of enteroparasites *Cryptosporidium* spp., *Giardia duodenalis* and *Blastocystis* sp. in asymptomatic schoolchildren in Madrid, Spain, November 2017 to June 2018. Euro Surveill [Internet]. 2019 [citado 02 Ene 2020]; 24(43): 1900241. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31662160/>.
20. Vielma-Guevara JR, Díaz Y, Pérez Z, Villarreal-Andrade JC, Gutiérrez-Peña LV. *Blastocystis* spp. y enteroparásitos en pacientes atendidos en el Hospital Doctor Adolfo Pons, Maracaibo, Venezuela. Avanz Biomed [Internet]. 2019 [citado 27 Ago 2020]; 8(3): In Press. Disponible

en: https://www.researchgate.net/publication/342530972_Blastocystis_spp_y_otros_enteroparasitos_en_pacientes_atendidos_en_el_Hospital_Doctor_Adolfo_Pons_Maracaibo_Venezuela.

21. Hidalgo L, Salvador F, Sulleiro E, López I, Balladares M, García E, et al. Evaluation of risk factors associated to detection of *Blastocystis* sp. in fecal samples in population from Barcelona, Spain: a case-control study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2019; 38(7): 1241-1247.
22. Scanlan PD, Knight R, Song SJ, Ackermann G, Cotter PD. Prevalence and genetic diversity of *Blastocystis* in family units living in the United States. *Infect Genet Evol* [Internet] 2016 [citado 26 Dic 2019]; 45: 95-97. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27545648/>.
23. Forsell J, Granlund M, Samuelsson L, Koskiniemi S, Edebro H, Evengård B. High occurrence of *Blastocystis* sp. subtypes 1-3 and *Giardia intestinalis* assemblage B among patients in Zanzibar, Tanzania. *Parasit Vectors* [Internet] 2016 [citado 01 Nov 2019]; 9(1): 370. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27356981/>.
24. Osman M, El Safadi D, Cian A, Benamrouz S, Nourrisson C, Poirier P, et al. Prevalence and Risk Factors for Intestinal Protozoan Infections with *Cryptosporidium*, *Giardia*, *Blastocystis* and *Dientamoeba* among Schoolchildren in Tripoli, Lebanon. *PloS Negl Trop Dis* [Internet]. 2016 [citado el 05 Ene 2020]; 10: e0004496. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26974335/>.
25. Figueroa-Lara M, Cedeño-García D. Evaluación clínica y coprológica en sujetos sintomáticos y asintomáticos con infección por *Blastocystis* spp. *Kasmera* [Internet]. 2020 [citado 01 Feb 2020]; 48: e48121092019. Disponible en: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/biblio-1099571>.
26. Zhang SX, Yang CL, Gu WP, Ai L, Serrano E, Yang P, et al. Case-control study of diarrheal disease etiology in individuals over 5 years in southwest China. *Gut Pathog* [Internet]. 2016 [citado 03 Ene 2020]; 8: 58. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27891182/>.
27. Vassalos CM, Papadopoulou C, Vakalis NC. Blastocystosis: an emerging or re-emerging potential? *Vet Ital*. 2008; 44 (4): 679-684.
28. Garavelli PL. Blastocystosis or Zierdt-Garavelli disease: a clinical pathway. *Recenti Prog Med* [Internet]. 2006 [citado 20 Nov 2020]; 97(7-8): 397-400. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16913176/>.
29. El Safadi D, Cian A, Nourrisson C, Pereira B, Morelle C, Bastien P, et al. Prevalence, risk factors for infection and subtype distribution of the intestinal parasite *Blastocystis* sp. from a large-scale multi-center study in France. *BMC Infect Dis*. 2016; 16(1): 451.
30. Cifre S, Gozalbo M, Ortiz V, Soriano JM, Merino JF, Trelis M. *Blastocystis* subtypes and their association with Irritable Bowel Syndrome. *Med Hypotheses*. 2018; 116: 4-9.
31. Johnson AM, Thanou A, Boreham PF, Baverstock PR. *Blastocystis hominis*: phylogenetic affinities determined by rRNA sequence comparison. *Exp Parasitol* [Internet]. 1989 [citado 02 Ene 2020]; 68(3): 283-288. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2649390/>.
32. Chacín Bonilla L. Aspectos controversiales de *Blastocystis hominis*: Taxonomía y concepto emergente de patogenicidad. *Invest Clin* [Internet]. 1991 [citado 02 Feb 2020]; 32(4): 147-148. Disponible en: <https://produccioncientificaluz.org/index.php/investigacion/article/view/28196>.
33. Chacín-Bonilla L. Perfil epidemiológico de las enfermedades infecciosas en Venezuela. *Invest Clin* [Internet]. 2017 [citado 10 Ene 2020]; 58(2): 103-105. Disponible en: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0535-51332017000200001.
34. Silberman JD, Sogin ML, Leipe DD, Clark CG. Human parasite finds taxonomic home. *Nature* [Internet]. 1996 [citado 10 Ene 2020]; 380(6573): 398. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8602239/>.
35. Ho LC, Armiugam A, Jeyaseelan K, Yap EH, Singh M. *Blastocystis* elongationfactor-1alpha: genomic organization, taxonomy and phylogenetic relationships. *Parasitology*. 2000; 121(Pt 2): 135-44.
36. Arisue N, Hashimoto T, Yoshikawa H, Nakamura Y, Nakamura G, Nakamura F, et al. Phylogenetic position of *Blastocystis hominis* and of stramenopiles inferred from multiple molecular sequence data. *J Eukaryot Microbiol* [Internet]. 2002 [citado 17 Ene 2020]; 49(1): 42-53. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11908898/>.

37. Zaman V. The diagnosis of *Blastocystis* cysts in human faeces. J Infect. 1996; 33: 15-6. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8842989/>.
38. Das R, Khalil S, Mirdha BR, Makharia GK, Dattagupta S, Chaudhry R. Molecular Characterization and Subtyping of *Blastocystis* Species in Irritable Bowel Syndrome Patients from North India. PLoS ONE [Internet]. 2016 [citado 04 Nov 2019]; 11: e0147055. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26784888/>.
39. Ramírez-Miranda ME, Hernández-Castellanos R, López-Escamilla E, Moncada D, Rodríguez-Magallan A, Pagaza-Melero C, et al. Parasites in Mexican Patients with irritable bowel syndrome: a case-control study. Parasit Vectors. 2010; 3: 96.
40. Casero RD, Mongi F, Sánchez A, Ramirez JD. *Blastocystis* and urticaria: Examination of subtypes and morphotypes in an unusual clinical manifestation. Acta Trop. 2015; 148: 156-161.
41. Yersal O, Malatyali E, Ertabaklar H, Oktay E, Barutca S, Ertug S. *Blastocystis* subtypes in cancer patients: Analysis of possible risk factors and clinical characteristics. Parasitol Int. 2016; 65(6 Pt B): 792-796.
42. Tan KS, Singh M, Yap EH. Recent advances in *Blastocystis hominis* research: hot spots in terra incognita. Int J Parasitol. 2002; 32 (7): 789-804.
43. Tan KSW. New Insights on Classification, Identification, and Clinical Relevance of *Blastocystis* spp. Clin Microbiol Rev [Internet]. 2008 [citado 01 Dic 2019]; 21(4): 639-665. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2570156/>.
44. Escobedo A, Nuñez FA. *Blastocystis hominis* infection in Cuban AIDS patients. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1997; 92(3): 321-322.
45. Deneud F, Roussel M, Noel B, Wawrzyniak I, Da Silva C, Diogon M, et al. Genome sequence of the Stramenopile *Blastocystis*, a human anaerobic parasite. Gen Biol [Internet]. 2011 [citado 01 Oct 2019]; 12: R29. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21439036/>.
46. Wawrzyniak I, Roussel M, Diogon M, Couloux A, Texier C, Tan KS, et al. Complete circular DNA in the mitochondria-like organelles of *Blastocystis hominis*. Int J Parasitol [Internet]. 2008 [citado 01 Dic 2019]; 38(12): 1377-1382. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18694756/>.
47. Stechmann A, Hamblin K, Perez-Brocal V, Gaston D, Richmond GS, van der Giezen M, et al. Organelles in *Blastocystis* that blur the distinction between mitochondria and hydrogenosomes. Curr Biol. 2008, 18(8): 580-585.
48. Murray RK, Bender DA, Botham KM, Kennelly PJ, Rodwell VW, Weil PA. Harper Bioquímica ilustrada. 29. ed. México: McGraw Hill Lange; 2018.
49. Keenan TW, Zierdt CH. Lipid biosynthesis by axenic strains of *Blastocystis hominis*. Comp Biochem Physiol Biochem Mol Biol. 1994, 107(4): 525-531.
50. Armengaud J, Pible O, Gaillard JC, Cian A, Gantois N, Tan KSW, et al. Proteogenomic Insights into the Intestinal Parasite *Blastocystis* sp. Subtype 4 Isolate WR1. Proteomics. 2017; 17(21).
51. Kalyanaraman B. Teaching the basics of redox biology to medical and graduate students: Oxidants, antioxidants and disease mechanisms. Redox Biol. 2013; 1(1): 244-257.
52. Vielma JR, Bonilla E, Chacín-Bonilla L, Mora M, Medina-Leendertz S, Bravo Y. Effects of melatonin on oxidative stress, and resistance to bacterial, parasitic, and viral infections: a review. Acta Trop [Internet]. 2014 [citado 16 Nov 2019]; 137: 31-38. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24811367>.
53. Vielma JR, Picón D, Gutiérrez LV, Lara ND. Pathophysiology of osteoporosis: genes, oxidative stress and immunopathogeny. A qualitative systematic review. Avan Biomed [Internet]. 2018 [citado 20 Dic 2019]; 7(2): 100-111. Disponible en: <http://revistas.saber.ula.ve/index.php/biomedicina/article/view/12741/21921923844>.
54. Reiter RJ. Melatonin: lowering the high Price of free radicals. News Physiol Sci. 2000; 15: 246-250.
55. Putignani L, Tait A, Smith HV, Horner D, Tovar J, Tetley L, et al. Characterization of a mitochondrion-like organelle in *Cryptosporidium parvum*. Parasitology. 2004; 129(Pt1): 1-18.

56. Henriquez FL, Richards TA, Roberts F, McLeod R, Roberts CW. The unusual mitochondrial compartment of *Cryptosporidium parvum*. Trends Parasitol. 2005, 21(2): 68-74.
57. Tsaousis AD, Hamblin KA, Elliott CR, Young L, Rosell-Hidalgo A, Gourlay CW, et al. The Human Gut Colonizer *Blastocystis* Respires Using Complex II and Alternative Oxidase to Buffer Transient Oxygen Fluctuations in the Gut. Front Cell Infect Microbiol [Internet]. 2018 [citado 01 Mar 2020]; 8: 371. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30406045/>.
58. Embley TM, Martin W. Eukaryotic evolution, changes and challenges. Nature. 2006; 440(7084): 623-630.
59. Tovar J. Mitosomes of parasitic protozoa: Biology and evolutionary significance. En: Martin WF, Müller M, editores. Origin of Mitochondria and Hydrogenosomes. Berlin: Springer Verlag; 2007. p. 277-300.
60. Burri L, Williams BA, Bursac D, Lithgow T, Keeling PJ. Microsporidian mitosomes retain elements of the general mitochondrial targeting system. Proc Natl Acad Sci USA. 2006; 103(43): 15916-15920.
61. Tsaousis AD, Gaston D, Stechmann A, Walker PB, Lithgow T, Roger AJ. A functional Tom70 in the human parasite *Blastocystis* sp.: implications for the evolution of the mitochondrial import apparatus. Mol Biol Evol. 2011; 28: 781-791. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20871025/>.
62. Von-Känel C, Muñoz-Gómez SA, Oeljeklaus S, Wenger C, Warscheid B, Wideman JG, et al. Homologue replacement in the import motor of the mitochondrial inner membrane of trypanosomes. Elife [Internet]. 2020 [citado 27 Feb 2020]; 9: e52560. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32105215/>.
63. Van-Grinsven KW, Rosnowsky S, van Weelden SW, Putz S, van der Giezen M, Martin W, et al. Acetate: succinate CoA-transferase in the hydrogenosomes of *Trichomonas vaginalis*: identification and characterization. J Biol Chem. 2008; 283(3): 1411-1418.
64. Hoffmeister M, van der Klei A, Rotte C, van Grinsven KW, van Hellemond JJ, Henze K, et al. *Euglena gracilis* rhodoquinone: ubiquinone ratio and mitochondrial proteome differ under aerobic and anaerobic conditions. J Biol Chem. 2004; 279(21): 22422-22429.
65. Tielens AG, Rotte C, van Hellemond JJ, Martin W. Mitochondria as we don't know them. Trends Biochem Sci. 2002; 27(11): 564-572.
66. Vielma JR, Urdaneta-Romero H, Villarreal JC, Paz LA, Gutiérrez LV, Mora M, et al. Neurocysticercosis: Clinical aspects, immunopathology, diagnosis, treatment and vaccine development. Epidemiol [Internet]. 2014 [citado 03 Ene 2020]; 4(3): 156. Disponible en: <https://www.omicsonline.org/peer-reviewed/neurocysticercosis-clinical-aspects-immunopathology-diagnosis-treatment-and-vaccine-development-26579.html>.
67. Basyoni MMA, Fouad SA, Amer MF, Amer AF, Ismail DI. Atorvastatin: *In-Vivo* Synergy with Metronidazole as Anti-*Blastocystis* Therapy. Korean J Parasitol. 2018; 56(2): 105-112.
68. Nieves-Ramírez ME, Partida-Rodríguez O, Laforest-Lapointe I, Reynolds LA, Brown EM, Valdez-Salazar A, et al. Asymptomatic Intestinal Colonization with Protist *Blastocystis* Is Strongly Associated with Distinct Microbiome Ecological Patterns. mSystems [Internet]. 2018 [citado 16 Ene 2020]; 3: e00007-18. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29963639/>.
69. Chacín-Bonilla L, Vielma, JR, Bonilla E. Should Melatonin be Considered a Complementary or Alternative Therapy against Parasitic Infections? Epidemiol [Internet]. 2014 [citado 14 Nov 2019]; 4(4): e117. Disponible en: <https://www.omicsonline.org/blog/2015/05/16/12659-Melatonin-againstParasitic-Infections.html>.
70. Chacín-Bonilla L, Vielma JR. Ciclosporiasis: distribución, prevalencia y control. Invest Clin [Internet]. 2018 [citado 16 Ene 2020]; 59(1): 67-93. Disponible en: <https://www.redalyc.org/journal/3729/372959403008/html/index.html>.