



11201  
2 ej 3

**UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTONOMA DE MEXICO**

**Facultad de Medicina**

**ANALISIS DE ENERGIA DISPERSIVA DE  
RAYOS-X E HISTOQUIMICA DEL CISTICERCO  
CELULOSO: POLISACARIDOS, GLUCOPROTEI-  
NAS, LIPIDOS, DNA, CALCIO Y FIERRO**

**T E S I S**

**Que para optar por el Diploma de  
Especialidad en**

**ANATOMIA PATOLOGICA**

**P r e s e n t a**

**MARIO CERVANTES VAZQUEZ**

México, D. F.



1985



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

# I N D I C E

	Página
INTRODUCCION.....	1
MORFOLOGIA DEL CISTICERCO CELULOSO.....	3
MATERIAL Y METODOS.....	9
RESULTADOS.....	12
DISCUSION.....	14
BIBLIOGRAFIA.....	21
INDICE DE LAS FIGURAS.....	25

## INTRODUCCION

El Cysticercus cellulosae es la forma embrionaria de la Taenia solium, que parasita al cerdo y al hombre cuando ingieren huevecillos de T. solium (figura 1).

La cisticercosis humana constituye un problema de salud pública en México y en otros países en desarrollo en diferentes partes del mundo (1,2,3).

La cisticercosis cerebral es la forma parasitaria más frecuente en el hombre (4) y se manifiesta por signos de hipertensión intracraneana debido al bloqueo en la circulación del líquido cefalorraquídeo por obstrucción del parásito, crisis epilépticas por activación de zonas motoras o por meningitis basal crónica granulomatosa producida por cisticercos muertos (5).

En ocasiones se observan casos de neurocisticercosis en los que el parásito muestra grados variables de involución, llegando a la calcificación del mismo (6), en los cuales prácticamente no hay respuesta inflamatoria y las manifestaciones clínicas de la enfermedad son mínimas o inexistentes (5,7). Los mecanismos de calcificación del cisticercos no han sido bien esclarecidos, pero se ha su-

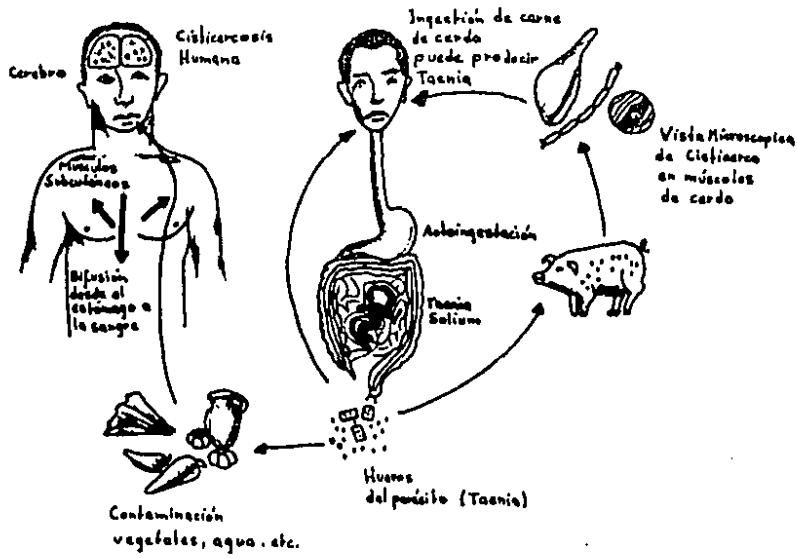


FIGURA 1

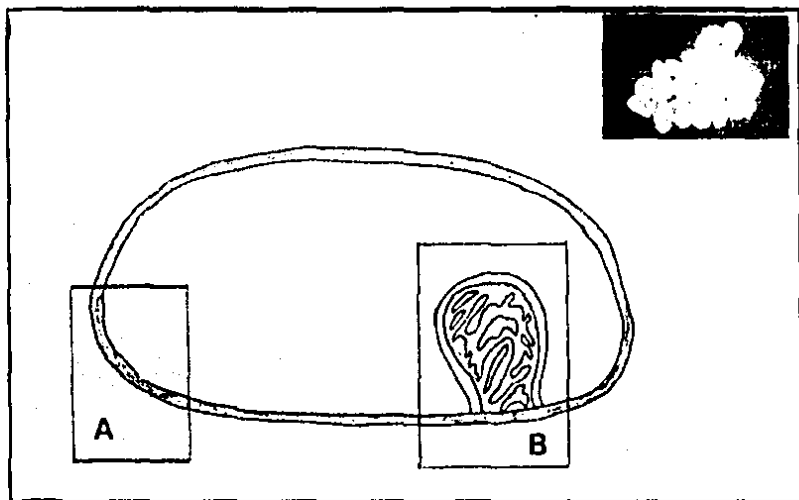
gerido que los componentes proteicos y lipídicos participan en el proceso (7). Recientemente se ha mencionado que las porfirinas, presentes en el líquido vesicular (8), pudieran participar en el proceso de calcificación (9).

Estudios con microscopio de luz y de ultraestructura han permitido caracterizar los componentes extracelulares, celulares y subcelulares del C. cellulosae (10,11,12,13,14). Por otra parte existen también estudios bioquímicos que han permitido identificar actividad enzimática, componentes proteicos y sales minerales en este parásito (6,8,9, 15,16,17,18,19,20).

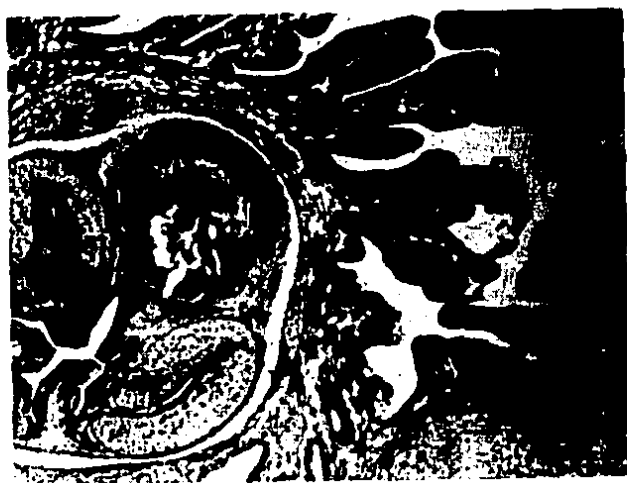
El objeto del presente estudio es identificar y localizar en las estructuras del C. cellulosae los polisacáridos, glucoproteínas, lípidos DNA (ácido desoxirribonucleico) y sales de calcio y de hierro, mediante métodos histoquímicos y análisis de energía dispersiva de rayos-X (EDAX) para la determinación de  $Ca^{++}$  y  $Fe^{++}$ .

#### Morfología del cisticerco celuloso

Al igual que las larvas de otros ténidos, se divide microscópicamente para su estudio al cisticerco celuloso en vesícula y escolex (figura 2).



F I G U R A 2



F I G U R A 3

El escolex que se encuentra invaginado (como un dedo de guante), está formado de un canal espiral y cuatro ventosas, estas últimas localizadas hacia el extremo ciego, sitio de donde se origina el rostellum con la doble corona de ganchos (10) (figura 3). En adelante nos referimos como escolex, al extremo ciego.

### Pared vesicular

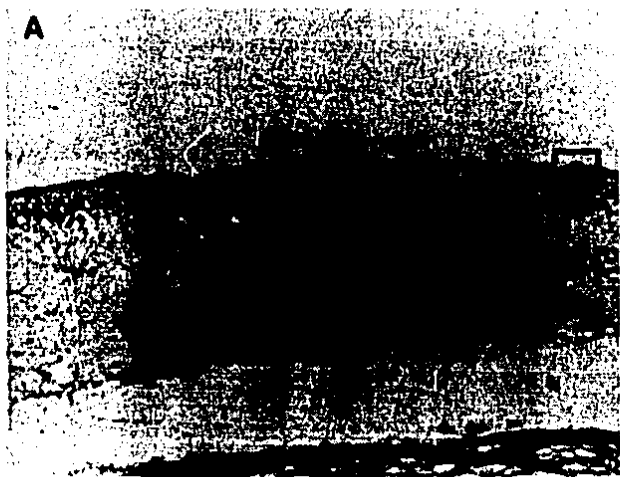
La vesícula es blanquecina, homogénea, translúcida y habitualmente turgente, observándose al microscopio de disección finas arrugas o surcos con un aspecto granular en su superficie. Al corte, bajo el microscopio de luz a seco débil se visualizan pliegues o protuberancias en la superficie externa, que son responsables del aspecto granular. Su espesor varía de 30 a 150  $\mu$ m y está formada de las siguientes estructuras: a) tegumento, b) subtegumento y c) parénquima (figura 4); y sus componentes son los siguientes (11, 12, 13, 14):

1. Tegumento con microvellosidades (microtricos), sus células llamadas citones tegumentarios, tienen una estructura peculiar cuando son observadas en el microscopio electrónico (figura 5), siendo una de sus características el estar tapizado, por abajo del tegumento,

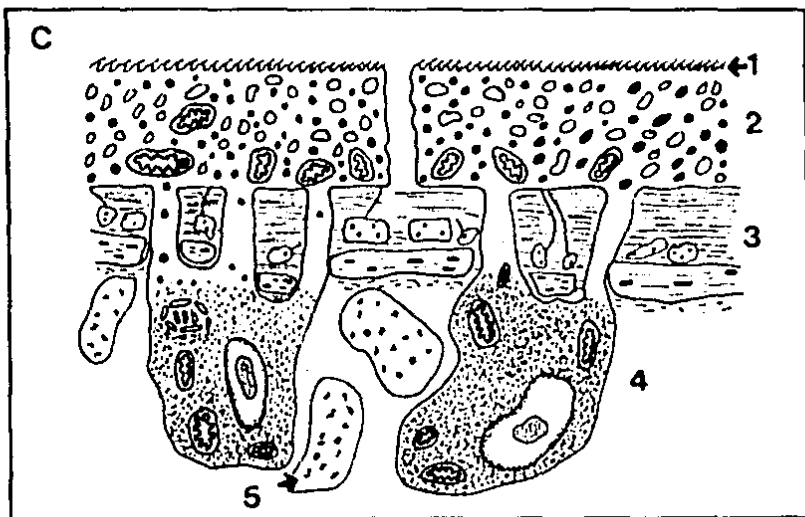


de mitocondrias y vesículas, localización semejante guardada por otras células de absorción como las intestinales en mamíferos (21).

2. Células de almacenamiento, contienen principalmente glucógeno y cantidades variables de grasa, una de las características de estas células es poseer prolongaciones citoplásmicas comunicándose con otros tipos celulares.
3. Células musculares lisas (miocitones), cuyas fibras musculares son localizadas a lo largo, subyacentes al tegumento.
4. Fibroblastos productores de fibrillas (colágena), las cuales están presentes en el subtegumento y sustentan el estroma de la pared vesicular en cuyo material fibrilar laxo contiene el sistema excretor, capa muscular profunda y elementos neurales y células de almacenamiento, además limita (sin epitelio) la parte interna de la pared vesicular en contacto con el líquido vesicular.
5. Células en flama y de conductos, forman y limitan los dos canales del sistema excretor a nivel de la vesícula (14).



F I G U R A 4



F I G U R A 5

6. Axones nerviosos (fibras nerviosas) se localizan en el estroma (13).

### Canal espiral

Está altamente plegado y se divide también en tegumento, subtegumento y parénquima. El tegumento difiere con el de la vesícula en la disminución y en algunas zonas ausencia de microtricos, engrosamiento mayor dado en parte por una membrana basal bien definida y presencia de hendiduras profundas. El subtegumento, formado por los mismos elementos que la vesícula, difiere en una distintiva capa de células musculares en el borde interno que permiten la evaginación del escolex, en la presencia de los "cuerpos calcáreos" y al igual que la vesícula, la zona que ve hacia la luz vesicular está formada por tejido fibrilar (figura 6). Los canales de excreción se fusionan en el canal espiral. El tegumento del canal espiral se continúa con el de la pared vesicular y el poro de evaginación se encuentra cubierto por tegumento de la vesícula (10,13,14).

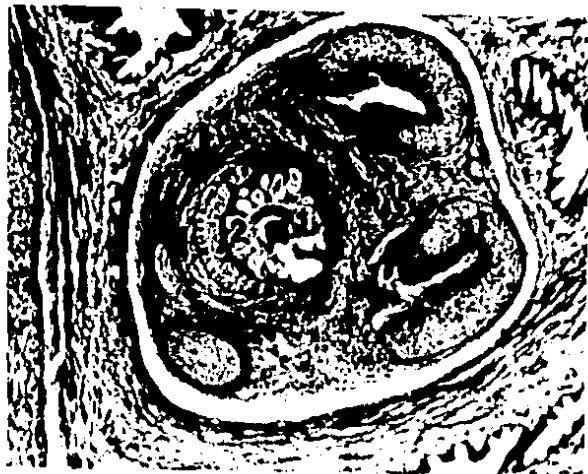
### Escolex

Hacia el extremo ciego del canal espiral se encuentra -

el escolex formado por cuatro ventosas (figura 7) delimitando al rostellum en cuya porción central se encuentra la doble corona de ganchos, en un número de 18 a 32 (4). La base del rostellum y ventosas está formado por fibrillas, fibras musculares y una red de células en flama y conductos terminales. En esta zona se encuentra también el ganglio nervioso (13). El rostellum está formado por fibrillas y células musculares. Las ventosas están formadas por células musculares principalmente y están recubiertas de tegumento (10,13,14). Las ventosas y los ganchos son las estructuras mediante las cuales el cisticercos se fija a la mucosa intestinal, al evaginar y desarrollarse en Taenia solium con pérdida subsecuente de la vesícula.

#### MATERIAL Y METODOS

Treinta cisticercos fueron obtenidos de músculo estriado de cerdo parasitado del rastro de Ferrería de la ciudad de México, dentro de las 24 horas posteriores al sacrificio de los animales. El tamaño de los cisticercos varió de 0.5 a 1 cm, y el escolex fue identificado en todos ellos. Los parásitos íntegros (sin ruptura de la vesícula) fueron fijados en formol amortiguado al 10% con pH 7.4, deshidratados en alcoholes y embebidos en parafina y cortados a 8 micras, incluyendo escolex, cuello y pared vesicular y so-



F I G U R A 6



F I G U R A 7

metidos a los siguientes métodos histoquímicos (22):

1. Polisacáridos y glucoproteínas: azul de toluidina para metacromasia verdadera, a pH 4, con tejido mamario como control, azul Alciano, pH 2, ácido periódico de Schiff con y sin diastasa (amilasa).
2. Lípidos: Sudan IV y rojo oleoso para grasas neutras (cortes frescos congelados) y Sudan Black B para fosfolípidos y lipoproteínas.
3. DNA: reacción de Feulgen contrastada con verde rápido.
4. Sales de calcio: tinción de von Kossa para fosfatos y carbonatos de calcio.
5. Hierro: tinción de Perls.

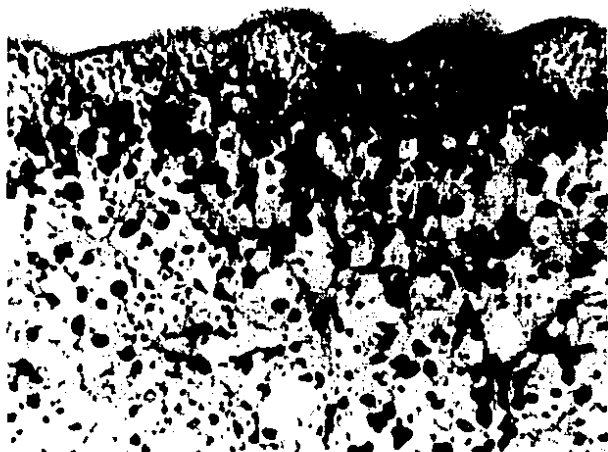
Una tabulación cualitativa fue hecha de acuerdo a la presencia y localización de las diferentes sustancias identificadas en las estructuras del parásito. Concomitantemente, la identificación de calcio y fierro fue hecha también con EDAX, asociado a microscopio electrónico de barrido Philips 501, utilizando el montaje en laminilla (23).

## RESULTADOS

Glucógeno, glucoproteínas y mucopolisacáridos.- Se encontraron numerosos gránulos de glucógeno en las células del estroma subyacente al tegumento, así como también en células del escolex, demostrado por su desaparición con amilasa (figura 8). Glucoproteínas fueron identificadas en la porción central de los ganchos (figura 9), en las ventosas, en el tegumento de la vesícula y del canal espiral - así como también en los cuerpos calcáreos (figura 10) a través de las tinciones de PAS-diastasa resistente, azul de toluidina y azul alciano (figura 11). Metacromasia con azul de toluidina como indicativo de mucopolisacáridos ácidos estuvo ausente en el parásito.

Grasas neutras, fosfolípidos y lipoproteínas.- Sudan IV y rojo oleoso para grasas neutras fueron negativos en cortes congelados en todos los parásitos. La demostración de lipoproteínas y fosfolípidos en cortes con parafina teñidos con Sudan negro B fueron negativos.

Acido desoxirribonucleico.- El DNA fue demostrado por la reacción de Feulgen en todos los núcleos del parásito. Se apreció en menor cantidad cuando fueron comparados con núcleos de tejidos humanos.



F I G U R A 8



F I G U R A 9



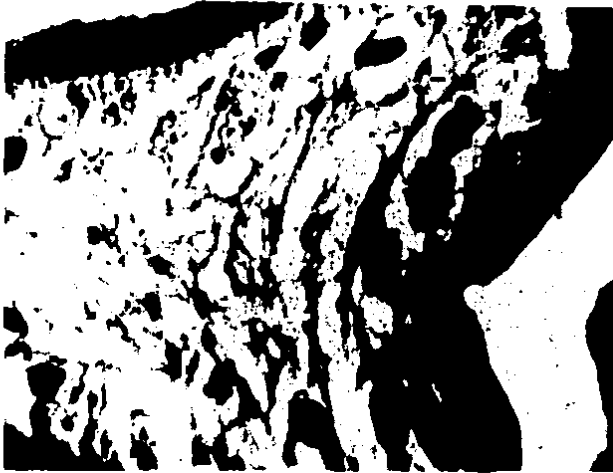
Sales minerales.- Sales de calcio fueron identificadas en los corpúsculos calcáreos en estroma subyacente al tegumento y en estructuras fibrilares del canal espiral, mediante la tinción de von Kossa (figura 12). Se observó una moderada tinción para fierro en el tegumento del parásito (figura 13).

La tabla I resume los datos semicuantitativos de los hallazgos histoquímicos.

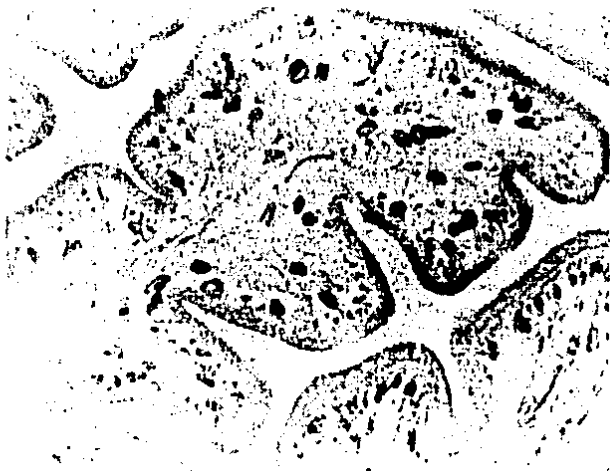
Análisis con EDAX.- El análisis con EDAX con microscopio electrónico de barrido (figura 14) reveló la presencia de  $Ca^{++}$  en el canal espiral donde existe una gran cantidad de corpúsculos calcáreos (figura 15). El  $Fe^{++}$  fue encontrado también localizado al tegumento del parásito (figura 16).

#### DISCUSION

La demostración histoquímica de glucógeno en el parásito está en acuerdo con los hallazgos de gránulos de glucógeno, a través de microscopía electrónica, almacenados en células de la pared vesicular y en células parenquimatosas del escolex, llamadas células de almacenamiento con sus membranas plasmáticas en estrecha asociación con células en flama, ductales y musculares lisas (10,11,12,13,14).



F I G U R A 10



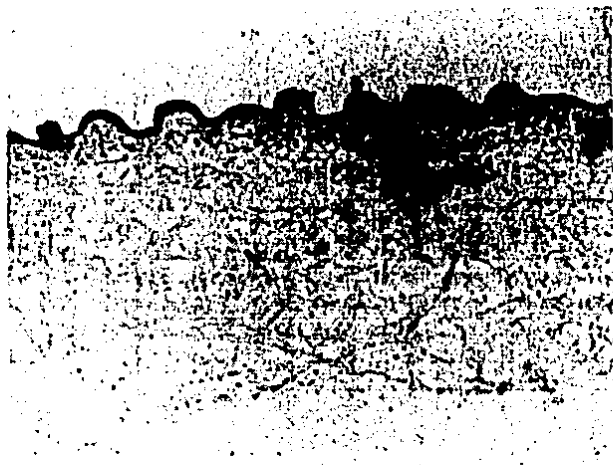
F I G U R A 11

T A B L A 1. HISTOQUIMICA DEL CISTICERCO CELULOSO. 1. POLISACARIDOS, GLUCOPROTEINAS, GRASA, ADN, CALCIO Y FIERRO.

	Azul de Toluidina	Azul Alciano	PAS	PAS Diastasa	Feulgen	von Kossa	Perls	Sudan Black B
Ganchos	-	-	+	+	-	-	-	-
Ventosas	-	-	+	±	+	-	-	-
Rostellum	-	-	+	±	+	-	-	-
Canal espiral	+	+	+	±	+	+	-	-
Cuerpos calcáreos	-	+	+	+	-	+	-	-
Tegumento de la pared quística	±	+	+	+	-	-	+	-
Parénquima subtegumentario	-	-	+	-	+	-	-	-
Contenido de canal espiral, conductos y pared quística	-	+	+	+	-	-	-	-



F I G U R A 12



F I G U R A 13

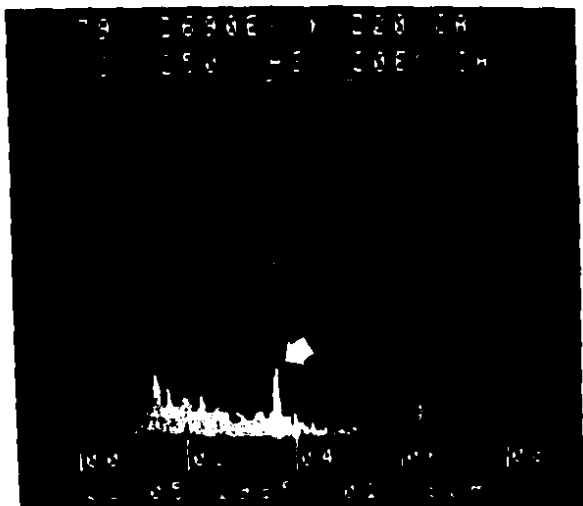
La presencia de abundantes gránulos de glucógeno señala a la glucosa como la fuente principal para la energía metabólica del parásito. Esto ha sido reforzado por estudios bioquímicos en otros helmintos que han demostrado que los carbohidratos son la única fuente de obtención de energía en los helmintos (24,25).

La presencia de glucoproteínas en la porción central de los ganchos, señala la posibilidad de una molécula precursora con un conjugado de carbohidratos, el cual es perdido y la maduración final de los ganchos estaría constituida por una proteína quitinosa o fibrilar (14), mientras que las glucoproteínas en el tegumento pudieran ser atribuidas al glicocálix (11). Hubo tinción negativa para mucopolisacáridos ácidos, indicando probablemente, la pérdida de la capacidad sintetizadora de ácido hialurónico y condroitín sulfato, dato encontrado también por Waitz (citado en Ref. 14), por las células estromales contrario a lo que ocurre en mamíferos y en otras especies, sin embargo, Monné (citado en Ref. 14) ha encontrado mucopolisacáridos ácidos en la cutícula de otros céstodos.

La tinción negativa para grasas en este estudio, no niega la posibilidad de la presencia de bajas cantidades de ellas (13,14), no reveladas por los métodos empleados. Es



F I G U R A 14



F I G U R A 15

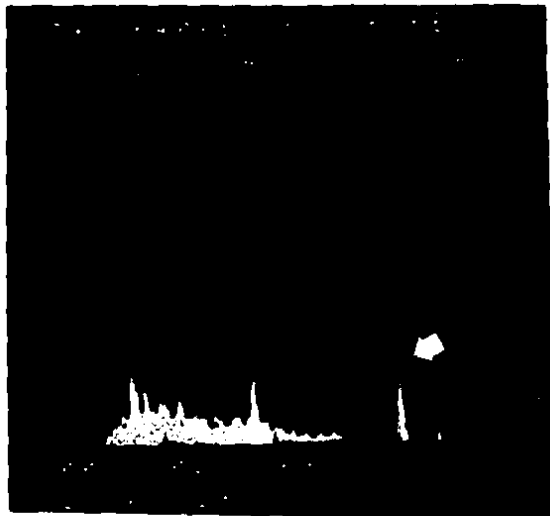
te hallazgo sin embargo, podría indicar una ausencia o -  
disminución de vías metabólicas para la degradación de -  
grasas, como ha sido señalado en estudios bioquímicos en  
otros helmintos (24,25).

El DNA en los núcleos del parásito fue encontrado en menor  
cantidad comparativamente, que en los núcleos de tejidos  
humanos, sugiriendo la antigüedad filogenética de los hel-  
mintos, aunque esto debe ser verificado.

La presencia de  $Ca^{++}$  en partículas calcáreas en asociación  
con glucoproteínas, demostrado por histoquímica y EDAX pue  
de sugerir un intento evolutivo en la formación de concha  
o exoesqueleto, los cuales están bien desarrollados en las  
especies de moluscos e insectos respectivamente (inmedia-  
tos superiores filogenéticamente) (26). Por otra parte el  
hallazgo de  $Fe^{++}$  en el tegumento podría estar relacionado  
a porfirinas asociadas a glucoproteínas, como la fluores-  
cencia demostrada en el parásito corresponde a protoporfirina  
fina (8,9).

Finalmente es necesario resaltar que se requieren más es-  
tudios bioquímicos para elucidar los requerimientos meta-  
bólicos básicos del cisticerco celuloso para explicar su  
extraordinaria supervivencia como una forma accidental in-

fectante en el hombre, de la larva de T. solium.



F I G U R A 16



**BIBLIOGRAFIA**

1. BELTRAN, F. 1982:  
Discussion. Epidemiology and Economic Impact of Cysticercosis. En: Cysticercosis: Present state of knowledge and perspectives. (Flisser, A. et al, ed.) Academic Press, N. Y. pp. 99-103.
2. SHENONE, H., VILLARROEL, F., ROJAS, A., RAMIREZ, R. 1982:  
Epidemiology of Human Cysticercosis in Latin America. (Ver Ref. 1) pp. 25-35.
3. MADELEY, J. 1984:  
Cysticercosis: a grave and terrible disease. World Health. March, pp. 10-12.
4. MARQUEZ-MONTER, H. 1971:  
Cysticercosis.  
En: Pathology of Protozoal and Helminthic Diseases. (R. Marcial-Rojas, ed.) Williams & Wilkins, Baltimore, pp. 592-617.
5. RABIELA, M.T., RIVAS-HERNANDEZ, A., RODRIGUEZ-IBARRA, J. 1979:  
Consideraciones anatomopatológicas sobre la cisticercosis cerebral como causa de muerte. Patología 17: 119-136.
6. GRAU, E., GARRIDO, F., CAÑEDO, L. 1982:  
Calcification of the cysticerci of Taenia solium in the human brain. (Ver Ref. 1) pp. 499-515.
7. CAÑEDO, L., GARRIDO, F., GONZALEZ, M. 1976:  
Host-parasite relationship of cysticerciasis in man. En: Biochemistry of Parasites and Host-Parasites Relationships" (Van den Boosche, ed.) Elsevier/North-Holland. Biomedical Press-Amsterdam. pp. 385-392.

8. MARTINEZ-ZEDILLO, G. 1984:  
Composición bioquímica del líquido vesicular del Cysticercus cellulosae obtenido de músculo de cerdo.  
Trabajo presentado en el VI Congreso Nacional de Parasitología.  
Minatitlán, Veracruz, 10-13 de octubre.
9. LARRALDE, R.C. 1984:  
El extraño contenido del líquido vesicular del cisticerco de la Taenia solium: proteínas, porfirinas, calcio y citocromos.  
(Ver Ref. 8)
10. SLAIS, T. 1982:  
Morphology of the Scolex of Cysticercus cellulosae in Brain Cysticercosis.  
(Ver Ref. 1) pp. 235-259.
11. RAMIREZ-BON, E., MERCHANT, M.T., GONZALEZ-DEL PLIEGO, M., CAÑEDO, L. 1982:  
Ultrastructure of the bladder wall of the metacestode of Taenia solium.  
(Ver Ref. 1) pp. 261-280.
12. TAY, J. 1972:  
Estudio del M.E. del cisticerco celuloso.  
Rev. Lat. Am. Microbiol. 14: 107-116.
13. CARDENAS-RAMIREZ, L.C., ZARAGOZA, A.M., GONZALEZ-DEL PLIEGO, M. 1982:  
Neural and Excretory Structures of Cysticercus cellulosae.  
(Ver Ref. 1) pp. 281-305.
14. SLAIS, J. 1970:  
The Morphology and Pathogenicity of the Bladder Worms Cysticercus cellulosae and Cysticercus bovis.  
Dr. V. Jung N.V., The Hague-Academia, Prague, 144 pp.
15. MARTINEZ-ZEDILLO, G., GONZALEZ-BARRANCO, D., PEREZ-GONZALEZ, M., GONZALEZ-ANGULO, A. 1982:  
Cholinesterase of Cysticercus cellulosae.  
(Ver Ref. 1) pp. 413-422.

16. SOSA, A., GONZALEZ-ANGULO, A., CALZADA, L., ALVA, S. 1978:  
Presence of ATPase on the Vesicular Membrane of Cysticercus cellulosae. A high Resolution Cytochemical Study.  
Experientia 15 (2): 175-177.
17. GUERRA, G., CAÑEDO, L. 1976:  
Proteins of Cysticercus cellulosae.  
(Ver Ref. 7) pp. 109-115.
18. TORRE-BLANCO, A. 1982:  
The collagen of Cysticercus cellulosae: A study in the comparative biochemistry of collagen.  
(Ver Ref. 1) pp. 423-436.
19. SOSA, A., GIRON, H., ALVA, S., CALZADA, L. 1977:  
Presence and nature of a glycocalyx-like coat on the external vesicular membrane of Cysticercus cellulosae. A high resolution histochemical study.  
Life Sciences 21 (7): 1021-1032.
20. GARCIA-GONZALEZ, F., ROMERO, M., DIAZ, P., CAÑEDO, L. 1982:  
Average chemical composition of cyst fluid from Taenia solium larvae.  
Citado por Willms, K. Discussion. Biology of Cysticerci.  
(Ver Ref. 1) pp. 517-522.
21. GONZALEZ-LICEA, A. 1970:  
Polarization of mitochondria in the absorptive cells of the small intestine of suckling rats (light and electron microscope study).  
Labor. Invest. 23 (2): 163-167.
22. PEARSE, T.F.A. 1972:  
Histochemistry, Theoretical and Applied.  
J. Wiley and Sons (Ed.) London.

23. GONZALEZ-ANGULO, A., RUIZ DE CHAVEZ, I. 1983:  
Espectrometría de Rayos-X en Microscopía Electrónica  
de Reflexión para Microanálisis de Elementos en Pre-  
paraciones Histológicas.  
Patología 21 (4): 331-332.
24. VON BRAND, T. 1974:  
The biochemistry of helminths.  
Z. Parasitenk. 45 (2): 109-124.
25. SAZ, H. 1981:  
Energy metabolism of parasitic helminths: Adaptations  
to parasitism.  
Ann. Rev. Physiol. 43: 323-341.
26. VOGVOLGYI, J. 1967:  
On the origin of molluscs, the coelom and coelomic -  
segmentation.  
Syst. Zool. 16: 153-168.

INDICE DE LAS FIGURAS

1. Ciclo biológico de la *T. solium*.  
(Cedido por Dr. Márquez, referencia 4).
2. Cisticercos celulosos. Nótese la vesícula (A) y el escolex (B) (estructura redondeada, blanquecina).  
Diámetro aproximado de cada cisticerco: 8 mm.
3. Escolex (B), canal espiral (D) y escolex (E). 100X.
4. Pared vesicular (A). 1. Tegumento, 2. subtegumento, 3. parénquima (capa nuclear) y 4. estroma. H.E. 100X.
5. Tegumento (C). 1. Microtricos, 2. citoplasma distal de célula tegumentaria con vesículas y mitocondrias, 3. capa fibrosa y muscular superficial, 4. citoplasma y núcleo de célula tegumentaria, 5. gránulos del glucógeno en célula de almacenamiento. (Modificada de Slais, referencia 14).
6. Canal espiral (D). 1. Tegumento, 2. parénquima, 3. estroma, 4. cuerpos calcáreos. 100X.
7. Escolex (E). 1. Ventosas, 2. ganchos, 3. rostellum. 400X.
8. Pared vesicular. Gránulos de glucógeno (G). 160X.
9. Escolex. Ganchos con porción central PAS-diastasa resistente. 400X.
10. Canal espiral. Tegumento (T) y cuerpos calcáreos - (C). PAS-diastasa resistentes. 400X.

11. Canal espiral. Cuerpos calcáreos (c) y tegumento (t). Azul alciano. 100X.
12. Canal espiral. Cuerpos calcáreos (C). Von Kossa. 160X.
13. Pared vesicular. Tegumento (t) positivo en tinción de Perls. 100X.
14. Escolex (E), canal espiral (CE) y pared vesicular (V). Microfotografía de microscopio electrónico de barrido.
15. Espectrofotometría de rayos-X de las estructuras de la figura 14, identificándose el pico de  $\text{Ca}^{++}$  sobre la línea blanca.
16. Espectrofotometría de rayos-X de las estructuras de la figura 14, identificándose el pico de  $\text{Fe}^{++}$  sobre la línea blanca.