



135
24

UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

EFECTO DE PRODUCTOS DEL
CISTICERCO DE Taenia solium
SOBRE EOSINOFILOS *in vitro*

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
B I O L O G O
P R E S E N T A
MARIA EDITH MEDINA ESCUTIA

TESIS CON
FALSA DE ORIGEN

México, D.F.

1992



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.

INDICE

	Pag.
I. RESUMEN	1
II. INTRODUCCION	2
A.- CISTICERCOSIS	2
1. Biología del parásito (Taxonomía, ciclo de vida y morfología)	2
2. La enfermedad	5
a) Sintomatología	5
b) Frecuencia	6
3. Inmunología.	6
a) La respuesta humoral	7
b) La respuesta celular	8
c) Interfase huésped-parásito	8
d) Mecanismos de evasión	15
B.- EOSINOFILOS	17
1. Morfología del eosinófilo.	17
2. Origen del eosinófilo.	20
3. Liberación, distribución y destino de los eosinófilos	22
4. Niveles de eosinófilos en estado normal y eosinofilia	22
5. Control inmunológico de la producción de eosinófilos	23
6. Modulación de la migración del eosinófilo	24
7. Función de los eosinófilos	25
III. JUSTIFICACION	28
IV. OBJETIVO GENERAL	29
1. OBJETIVOS PARTICULARES	29
V. HIPOTESIS	29
VI. MATERIALES Y METODOS	30
A.- PURIFICACION DE EOSINOFILOS	30
B.- OBTENCION DE PRODUCTOS PARASITARIOS	30
1. Extracto crudo	30
2. Productos de excreción-secreción	32
C.- DISEÑO EXPERIMENTAL	32
VII. RESULTADOS	36
VIII. DISCUSION	42
IX. CONCLUSIONES	45
X. REFERENCIAS	46
XI. APENDICE	54

I. RESUMEN

En la presente tesis se analizó el efecto de productos del cisticerco de *Taenia solium* Extracto Crudo o Antígenos de Excreción-Secreción sobre la viabilidad y la quimiotaxis de los eosinófilos. Los resultados mostraron que el Extracto Crudo y los productos Excreción-Secreción que se mantienen congelados antes de usarlos no afectan la viabilidad de los eosinófilos, mientras que los productos Excreción-Secreción recién cosechados afectan la viabilidad de las células.

En cuanto a la quimiotaxis, tenemos datos preliminares que indican que hay migración hacia las larvas, contrariamente a lo que esperábamos.

Los resultados obtenidos sugieren la presencia de un factor eosinotóxico, labil, entre los productos de Excreción-Secreción del cisticerco. La existencia de este factor permite explicar la sobrevivencia de las larvas rodeadas por eosinófilos *in vivo*.

II. INTRODUCCION

A. CISTICERCOSIS

1. Biología del parásito (Taxonomía, ciclo de vida y morfología)

PHYLUM	Platyhelminthes.
CLASE	Cestoda.
ORDEN	Cyclophyllidae.
FAMILIA	Taenidae.
GENERO	<i>Taenia</i> .
ESPECIE	<i>Taenia solium</i> (Linnaeus, 1758).

Taenia solium es un céstodo hermafrodita del orden Cyclophyllidea, de la familia Taenidae, cuyo único huésped definitivo natural es el ser humano (Fig. 1 A).

Morfológicamente presenta cuerpo aplanado y alargado que llega a medir entre 2 y 7 m. de longitud, y se ha observado que puede llegar a sobrevivir hasta 25 años (Asada y cols., 1956). Su cuerpo está compuesto por un escólex piriforme que mide de 1 a 2 mm, y porta un roseto con doble corona de ganchos y cuatro ventosas musculares como órganos de fijación. El escólex se continúa con el cuello, porción germinal que da origen a los proglótidos o segmentos que conforman la siguiente y última porción corporal, denominada estróbil. Los proglótidos más cercanos al cuello son los más jóvenes e indiferenciados, seguidos por proglótidos que tienen órganos sexuales y los más distales contienen un gran número de huecillos (~50,000 c/u) por lo que se les denomina grávidos (Fig. 1 B); estos últimos se desprenden espontáneamente del gusano adulto (4 a 5 por día) y son evacuados con las heces del huésped (Asada y cols., 1956; Watson, 1960). Este gusano de color blanquecino lechoso, se ubica en el intestino delgado, adherido por ganchos y ventosas al epitelio; su alimento lo constituye el contenido intestinal del huésped; por carecer de aparato digestivo, la captación y digestión del alimento se lleva al cabo a través del sincicio celular del tegumento, el cual absorbe los nutrientes por difusión o transporte activo y probablemente también por endocitosis (Cox, 1982).

Los huevos de *T. solium* (Fig. 1 C), son microscópicos; miden de 30

EDITH MEDINA ESCUTIA

a 40 μ m de diámetro y están contenidos en una delgada membrana hialina llamada vitelo, que rodea una gruesa pared estriada, al embrióforo, que a su vez contiene la oncosfera. Estos huevos son eliminados con los proglótidos al exterior y su desarrollo sólo continúa cuando el huevo es ingerido por un huésped intermediario. La eclosión del huevo ingerido por cerdos, u hombres, ocurre cuando la pared externa del huevo es digerida por la acción de las enzimas proteolíticas del huésped, y ocurre después la activación del embrión, probablemente por acción de la bilis que rompe la membrana oncosférica (Cox, 1982).

La oncosfera liberada penetra la pared intestinal y alcanza vasos sanguíneos o linfáticos, por cuya corriente es transportada a tejidos como el muscular, tejido subcutáneo, tejido nervioso u ojo, en donde se desarrolla como un cisticerco que representa el estado larvario de *T. solium* (Figs. 1 D y 1 E).

El embrión ya establecido en algún órgano aumenta considerablemente de tamaño, pues de ser una estructura microscópica, se convierte en una estructura de milímetros, fácilmente visible, que es el cisticerco o larva (Fig. 1 E), compuesto de una bolsa que contiene un fluido vesicular y al escólex invaginado (Slais, 1982); la superficie de la pared vesicular del cisticerco está cubierta de estructuras denominadas microtricas (Ramírez-Bon y cols., 1982). A través de esta superficie, ocurre el intercambio metabólico e incluso inmunológico entre el huésped intermediario y el parásito, ya que no tiene aparato digestivo.

El ciclo de vida se completa cuando el ser humano ingiere carne cruda o poco cocida de cerdos cisticercosos; debido a las condiciones gástricas e intestinales, el cisticerco se activa evaginando, y se fija a la pared del intestino para posteriormente desarrollarse en aproximadamente 4 meses en un parásito adulto (Cañedo y cols., 1982).

Con respecto al cisticerco, morfológicamente existe una variedad que sólo se ha encontrado en el encéfalo de los seres humanos, y se ha denominado como cisticerco racemoso (Fig. 1 F). Este quiste es un conjunto de vesículas unidas de tal forma que semejan a un racimo de uvas; bajo el microscopio puede observarse que este tipo de cisticerco generalmente carece de escólex y está constituido de vesículas cuyas paredes están muy desarrolladas. Se han hecho estudios para saber si el tipo celuloso y el racemoso son de la misma especie de *Taenia* y se han encontrado formas intermedias entre ambas; este tipo de larva se asocia con una patología y una reacción inflamatoria más marcada

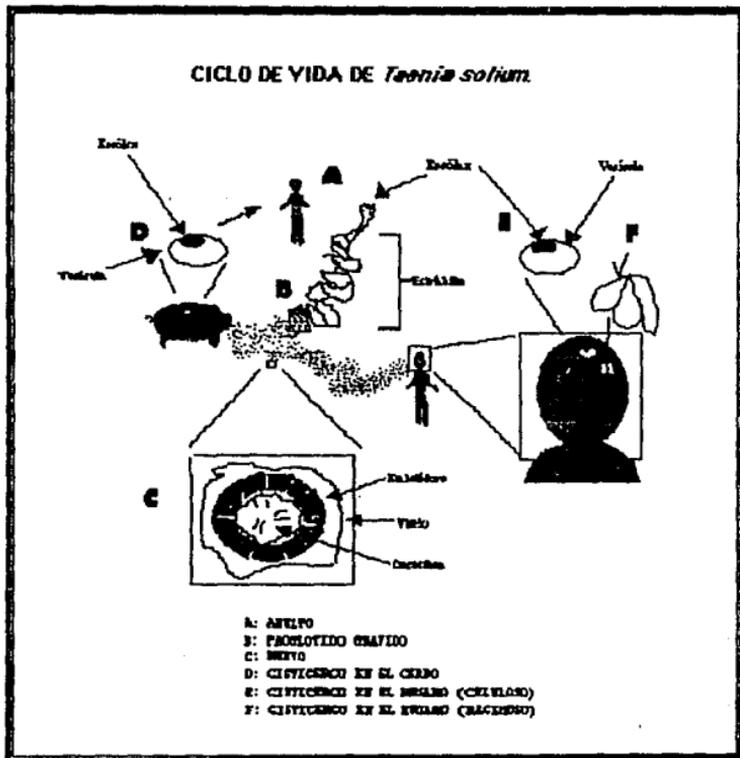


Figura 1. Ciclo de vida de *T. solium*.
 (Tomada de Correa y cols., 1991).

2. La enfermedad

La cisticercosis es una enfermedad causada por el establecimiento de larvas de *T. solium* en los tejidos de su huésped intermediario; el cerdo y accidentalmente el hombre.

Aunque el ser humano es huésped intermediario accidental de los cisticercos de *T. solium* la enfermedad conocida como cisticercosis tiene importancia desde el punto de vista de salud pública en varios países en vías de desarrollo (Schenone y cols., 1982; Mahajan, 1982); por ello, el aspecto clínico de este padecimiento ha sido el tema de mayor interés desde hace muchos años.

a) Sintomatología

El daño que puede producir el establecimiento de cisticercos en el sistema nervioso central en el ser humano puede variar, ya que se ha informado que muchos de los casos de neurocisticercosis humana son asintomáticos (Albore y Altamirano, 1971; Rabiela y cols., 1982). En el caso de los sintomáticos, hay una enorme heterogeneidad de síntomas que pueden ir desde perturbaciones sensoriales o motoras leves, hasta la presencia de crisis convulsivas, cefalea y cuadro de hipertensión endocraneana, por obstrucción de la circulación de líquido cefalorraquídeo, lo que en ocasiones provoca la muerte del paciente (Rabiela y cols., 1982; Zenteno-Alanis, 1982). Dicha heterogeneidad puede deberse al número de parásitos, al tipo de cisticerco presente (celuloso o racemoso), su viabilidad, localización y la respuesta inflamatoria que se produce.

En contraste con la cisticercosis humana, la cisticercosis porcina ha sido poco descrita desde el punto de vista clínico, y esto se debe a que aparentemente no induce, o bien, induce alteraciones muy leves a los porcinos infectados, incluso a pesar de que en el cerdo, esta parasitosis frecuentemente afecta el sistema nervioso central (Flisser y cols., 1988). Probablemente esto se deba a que la cisticercosis porcina es una parasitosis en promedio mucho más joven que la humana, pues los animales se sacrifican en promedio cuando tienen 1 año máximo de edad y en el caso de la cisticercosis humana, puede ser una infección de más tiempo; se ha calculado que en promedio es a los 7 años cuando aparecen los primeros síntomas (Dixon y Lipscomb, 1961). Existe un trabajo que apoya esta hipótesis, en el que observaron la

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

aparición de señales electroencefalográficas anormales en un cerdo con cisticercosis cerebral que se mantuvo con vida durante 1 año más de lo normal, aunque no se observaron síntomas clínicos (Flisser y cols., 1990).

b) Frecuencia

Durante mucho tiempo los datos que daban idea de la magnitud del problema de la cisticercosis humana fueron los que se obtuvieron a partir de autopsias en hospitales generales. De esos datos se calcula que entre el 1.2 y el 3.6% de los cadáveres tienen cisticercos en cerebro (Albores y Altamirano, 1971; Rabiela-Cervantes y cols., 1982). En dichos resultados la muestra estudiada no permite aceptarlos como una medida cercana a la realidad, ya que la población analizada no puede considerarse representativa de la población total, por tratarse solo de casos que requirieron y tuvieron acceso a un hospital.

Aunque no se conoce la prevalencia real de esta parasitosis, se sabe que es una enfermedad frecuente en países en vías de desarrollo de América, Asia y África (Schenone y cols., 1982; Mahajan, 1982).

En el caso de la cisticercosis porcina, la prevalencia determinada a través de inspección sanitaria en rastros varía entre el 0 y 7% pero hay que considerar que la inspección sanitaria no es muy confiable y que en nuestro país es común que los cerdos se críen en condiciones insalubres y que se sacrifican en rastros clandestinos (Aluja A., 1982).

3. Inmunología

El estudio de la respuesta inmune en diversas relaciones huésped-parásito ha demostrado ser de gran utilidad, ya que puede ayudar al diagnóstico de la enfermedad y puede servir también para determinar los componentes del parásito que inducen una respuesta protectora, las partes del sistema inmune que confieren inmunidad y los mecanismos responsables, así como las acciones que emplean los parásitos para evadir al sistema inmune. Esta información permite tomar medidas de control que pueden alterar específicamente el equilibrio de la parasitosis, o en su defecto, no tomar medidas quizás costosas, que no representen un beneficio real para el huésped.

En el estudio de la respuesta inmunológica en la cisticercosis por *T.*

EDITH MEDINA ESCUTIA

solium existen modelos experimentales en los que se ha analizado la respuesta inmune, pero las conclusiones derivadas de estos trabajos deben ser tomadas con cautela, ya que aún entre diferentes modelos los resultados varían enormemente (Mitchel, 1982; Larralde y cols., 1988). La respuesta humoral en la cisticercosis por *T. solium* se ha podido caracterizar con bastante detalle, a diferencia de la respuesta celular de la que aún es poco lo que se sabe. Los estudios básicos de la respuesta inmune han generado diversas hipótesis que realmente están empezando a ser valoradas en la actualidad, principalmente porque ya se cuenta con la metodología que hace posible estos estudios.

a) La respuesta humoral

Utilizando la técnica de la inmunoelectroforesis (IEF) se llevó al cabo, hace tiempo, la primera caracterización de la respuesta inmune humoral (Flisser y cols., 1980), en cuanto a las clases de inmunoglobulinas presentes como anticuerpos en el suero y los antígenos del parásito que estos anticuerpos reconocen, y se encontró que la IgG es la clase de inmunoglobulina predominante, y que los sueros de los pacientes reconocen hasta 8 antígenos parasitarios con distinta frecuencia y el denominado antígeno "B" (AgB) es el compuesto del cisticerco contra el cual el 84% de los sueros positivos tienen anticuerpos específicos (Espinoza y cols., 1986). Este antígeno ya ha sido purificado (Guerra y cols., 1982), y actualmente se sabe que es una glicoproteína de 95 Kd aproximadamente, presente en la superficie del parásito y que también es un producto de secreción (Laclette y cols., 1987). El AgB es un antígeno que lo presentan también otros parásitos y helmintos de vida libre filogenéticamente cercanos (Olivo y cols., 1988).

En estudios más recientes se ha caracterizado la respuesta humoral utilizando métodos más sensibles como el ELISA (del inglés Enzyme Linked Immunosorbent Assay) y la inmunoelectrotransferencia (IET).

La IET es una técnica de mayor sensibilidad y poder resolutivo que la inmunoelectroforesis (IEF); por ello, la respuesta que se ha encontrado utilizando la IET ha resultado mucho más basta y heterogénea que la encontrada anteriormente. Se reconocen entre 30 y 50 antígenos diferentes, la mayoría de ellos de reacción cruzada con otras helmintiasis (Schantz y cols., 1980; Larralde y cols., 1989).

b) La respuesta celular

La respuesta celular en la cisticercosis por *T. solium* ha sido pobremente caracterizada, pues sólo se cuenta con datos de pocos trabajos. Sin embargo, estos hallazgos han permitido sugerir la hipótesis de que el parásito es capaz de inducir inmunosupresión a su huésped humano (Correa D., 1989).

c) Interfase huésped-parásito

Las parasitosis tisulares son aquellas donde la interfase entre huésped y parásito es más obvia, pues físicamente se puede observar la región donde se localiza la membrana del tegumento parasitario y la cápsula que lo rodea (supuestamente proveniente del huésped). Esta cápsula puede contener o no componentes inflamatorios. En el caso de la cisticercosis porcina la relación huésped-parásito parece ser una simbiosis pacífica entre huésped y parásito, ya que en la superficie parasitaria se encuentra IgG porcina, pero los parásitos se encuentran morfológicamente inalterados, además de que no se ha demostrado que se deba a la presencia de anticuerpos específicos unidos por medio de reacción antígeno-anticuerpo (Willms y Arcos 1977).

Los cisticercos que se encuentran en un pedazo de carne de cerdo decomisada (Fig. 2) generalmente son homogéneos, presentan una morfología normal, y se observa un tegumento bien preservado, tanto a nivel de la larva invaginada como a nivel de la pared vesicular, y la mayoría de las larvas son capaces de evaginar (Correa y cols., 1987; Flisser, 1989). La cápsula que rodea a los parásitos provoca una reacción inflamatoria muy escasa, en la que se pueden observar eosinófilos, macrófagos y células de reacción granulomatosa (epitelioides y gigantes multinucleadas) cerca de la superficie parasitaria; además se pueden observar linfocitos y células plasmáticas presentes en la cápsula son capaces de producir anticuerpos específicos *in vivo* (Díaz, 1983). Sin embargo no se ha demostrado una relación directa entre estos anticuerpos y las inmunoglobulinas encontradas en la superficie parasitaria.

En un trabajo de análisis exhaustivo de cisticercos provenientes de parasitosis viejas y jóvenes se ideó un sistema de grados para describir los cambios inflamatorios y degenerativos que ocurren al transcurrir el



Figura 2. Fotografía de un trozo de carne de cerdo infectada con cisticercos de *T. solium*. (Tomado de Fliccer y cols., 1990).

tiempo (Aluja y Vargas 1988). Se consideró un corte histológico de un cisticerco sin reacción inflamatoria y sin cambios degenerativos (Fig. 3), como grado 0; en un corte correspondiente al grado 1 (Fig. 4) se puede observar una infiltración principalmente de células mononucleares (linfocitos y células plasmáticas) y eosinófilos; en el grado 2 la reacción inflamatoria aumenta, son linfocitos, células plasmáticas y eosinófilos las células predominantes, aunque los eosinófilos se notan más numerosos y distribuidos en forma difusa entre las demás células; un

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

corte de grado 3 muestra el inicio de la inflamación de tipo granulomatosa de intensidad variable alrededor de la cavidad larvaria y los eosinófilos se acumulan en el borde interno de la reacción y da la impresión de "una primera línea de ataque" (Fig. 5), algunos eosinófilos están adheridos a la pared vesicular de la larva y se puede observar degranulación. Los macrófagos empiezan a alinearse en forma de empalizada frente a la cavidad o a los acúmulos de eosinófilos (Fig. 6), donde los eosinófilos se adhieren a la pared vesicular, el tegumento se hincha y en la cutícula aparecen vacuolas. En el canal de entrada y en el canal espiral aparecen eosinófilos. En la cavidad del parásito se detecta material amorfo, eosinofílico. Dentro de la zona granulomatosa empiezan a formarse agregados de linfocitos; En el grado 4 la reacción inflamatoria rodea casi completamente a la cavidad que contiene al parásito. Entre las empalizadas de macrófagos y células epitelioides aparecen células gigantes. En la zona inflamatoria se notan numerosos fibroblastos. Muchos de los eosinófilos entre el parásito y las células epitelioides se han vuelto necróticos. Los agregados de linfocitos son de mayor tamaño y en ellos se detectan formas de mitosis (Fig. 7); los canales de entrada y espiral contienen numerosos eosinófilos, y su tegumento esta hinchado y vacuolado. Ya en el grado 5 el parásito esta degenerado y solo se reconocen corpúsculos calcáreos y ganchos (Fig. 8); El grado 6 se caracteriza porque el lugar que ocupa el parásito está totalmente invadido por tejido fibroso, las células inflamatorias son muy escasas pero en algunas de estas cicatrices todavía pueden encontrarse corpúsculos calcáreos y ganchos.

Estas observaciones son similares a lo que sucede en la esquistosomiasis y en otras enfermedades producidas por larvas de cestodos (Butterworth, 1979).

En un estudio de histopatología de cisticercosis porcina, utilizaron como modelo experimental cerdos infectados naturalmente después de haber sido sometidos a tratamiento con praziquantel, se observó que los eventos celulares durante la destrucción del parásito son iniciados por los eosinófilos (Flisser y cols., 1990).

El mecanismo de acción del praziquantel se desconoce; sin embargo en tremátodos, monogéneos y cestodos incubados con praziquantel se observan dos sucesos en común, considerados como efectos primarios de la droga; el primero es la rápida contracción muscular del parásito y el segundo la formación de vesículas o vacuolas en la porción del tegumento (Thomas y cols., 1982; Schmahl y Melhorn, 1985; Becker y

EDITH MEDINA ESCUTIA

cols., 1980; Pool, 1985); la contracción muscular es reversible en muchos casos; en cuanto a la vacuolización, por sí misma no es letal en el caso de *Schistosoma mansoni* ya que se ha observado que los parásitos son capaces de reparar los daños que ocasiona el praziquantel (Melhorn y cols., 1981; Shaw y Erasmus, 1983; Shaw y Erasmus, 1987); la muerte de éstos se presenta cuando el daño en el tegumento se vuelve considerable, de tal forma que los granulocitos del hospedero, especialmente eosinófilos, se pegan a las vacuolas formadas por acción de la droga en el parásito, entran a través de hoyos que se forman en el tegumento y lisan los tejidos de los parásitos (Melhorn y cols., 1981). En el estudio hecho con cerdos cisticercosos, se observaron los parásitos invadidos por células inflamatorias, principalmente eosinófilos, 5 días después de terminado el tratamiento con praziquantel (Flisser y cols. 1990). Es probable que el praziquantel, al igual que otras drogas, actúe sinérgicamente con la respuesta inmune del hospedero; la droga al dañar el tegumento, ocasiona la exposición de antígenos de los parásitos (Harnett y Kusel, 1986; Flisser, 1989; García-Domínguez, 1989) y con ello, altera sus mecanismos de evasión inmune; de esta forma la respuesta inmune puede reconocerlos y eliminarlos.

Estos datos sugieren que los parásitos sobreviven en convivencia pacífica con su huésped pero solo durante cierto tiempo, y que si se rompen los mecanismos responsables de esta relación con drogas que como el praziquantel, no matan *per se* al parásito, el huésped inicia rápidamente su destrucción.



FIGURA 3. Cisticercos sin reacción inflamatoria en el tejido vecino.

- a) Vestíbulo
- b) Pared vesicular
- c) Canal de entrada
- e) Escólex

(Tomado de Aluja, 1989).



FIGURA 4. GRADO 1. Corte de un cisticercos. Se observa el inicio de la reacción inflamatoria (flecha)

(Tomado de Aluja, 1989)



FIGURA 5. GRADO 3. La pared del cisticerco está adherida al tejido del huésped y hay una acumulación de eosinófilos en la pared vesicular (flecha).

c) Cisticerco

(Tomado de Aluja, 1989).

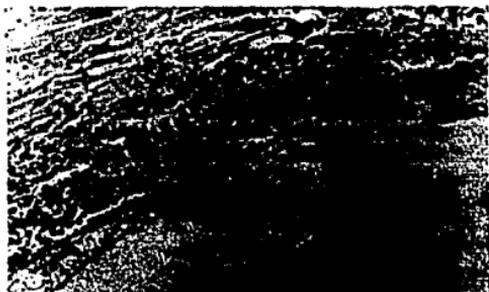


FIGURA 6. GRADO 3. Los macrófagos se colocan alrededor del parásito (flecha) El número de eosinófilos disminuye

c) Cisticerco

(Tomado de Aluja, 1989).

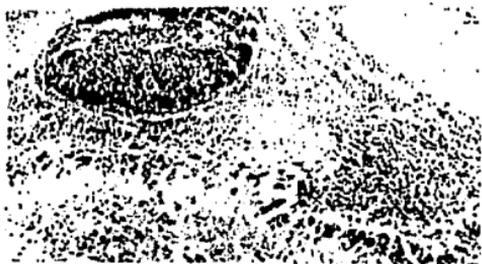


FIGURA 7. GRADO 4. Cisticerco degenerado, macrófagos acomodados en la parte inferior, la formación de nodulos(N) corresponde a linfocitos agregados.

(Tomado de Aluja, 1989).



FIGURA 8. GRADO 6 Macrófagos con corpúsculos calcáreos(M) en el lugar que ocupaba el cisticerco; muchos fibroblastos (f) rodean a esta formación.

(Tomado de Aluja, 1989).

d) Mecanismos de evasión inmune

A pesar de la presencia de anticuerpos específicos circulantes, el cisticerco de *T. solium* logra sobrevivir por periodos muy prolongados en el ser humano (Dixon y Lipscomb, 1961). Por otro lado, como ya se mencionó anteriormente, la cisticercosis porcina parece ser una convivencia pacífica entre el huésped y el parásito por lo menos durante algunos meses (Aluja, 1989); para explicar que los cisticercos y otros parásitos logran sobrevivir en huéspedes inmunocompetentes se ha postulado la existencia de mecanismos de adaptación evolutiva entre el huésped y el parásito llamados mecanismos de evasión inmune.

Actualmente se cuentan con datos que indican que ciertos mecanismos de evasión inmune posiblemente estén operando en la cisticercosis por *Taenia solium* (Fig. 9).

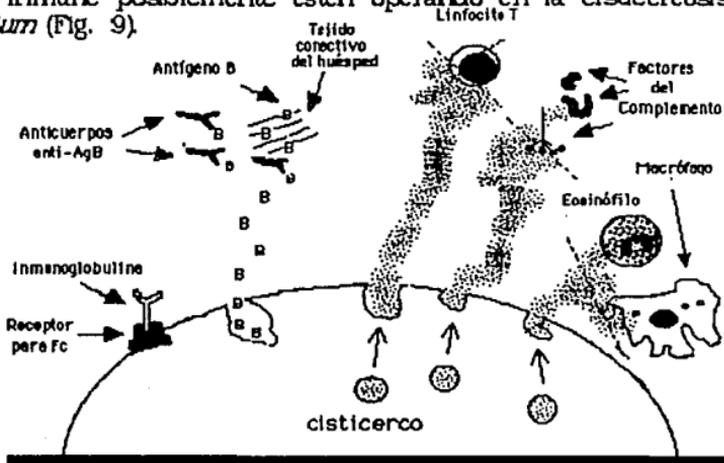


Figura 9. Posibles Mecanismos de Evasión Inmune que están operando en la cisticercosis por *Taenia solium*. (Tomado de Correa y cols., 1991).

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Se sabe que el AgB es un antígeno inmunodominante (Flisser y cols., 1980; Espinoza y cols., 1986). Uno de los hallazgos más notables fué la observación de ciertas propiedades biológicas tipo fibronectina en este antígeno, entre ellas la afinidad por la colágena y su capacidad de alinear fibroblastos transformados (Plancarte y cols., 1983). La actividad de fibronectina del AgB podría tener implicaciones importantes para la relación huésped-cisticerco. Una de ellas es que este antígeno podría estar organizando el tejido del huésped a su alrededor y se crea así un nicho favorable que disminuya el acceso de la respuesta inmune. Asimismo, su afinidad por la colágena podría hacer que la respuesta inmunológica contra este antígeno, que además es el más frecuentemente reconocido, se desvíe hacia el tejido del propio huésped.

Las inmunoglobulinas presentes en la superficie de los cisticercos tanto en humanos como en cerdos pueden ser anticuerpos unidos a través de reacción antígeno-anticuerpo, pero existe evidencia que apoya la hipótesis de que por lo menos parte de estas moléculas están unidas a través de un receptor para la fracción Fc, como mecanismo de evasión inmune por enmascaramiento (Correa y cols., 1985; Willms y Arcos 1977).

Existe evidencia que sugiere que los cisticercos de *T. solium* son susceptibles al ataque del complemento *in vitro* (Correa y cols., 1987); es por ello que se podría esperar la presencia de algún mecanismo relacionado a la inactivación del complemento que esté ocurriendo *in vivo*. En el modelo de *Taenia taeniaeformis* se encontró que hay productos de la larva que inhiben las cascadas del complemento y de la coagulación (Hammerberg y cols., 1980).

Entre los componentes del huésped más importantes que los parásitos deben evadir se encuentran los eosinófilos y los macrófagos pues como ya se mencionó, éstos son los tipos celulares que predominan en la reacción que destruye al parásito cuando por tiempo o tratamiento, se rompe el equilibrio de la relación huésped-parásito (Flisser, 1989; Aluja, 1989; Aluja y Vargas, 1988).

B. EOSINOFILOS



Figura 10. Fotografía de un granulocito eosinófilo.

1. Morfología del eosinófilo

El eosinófilo (Fig. 10), es un tipo de leucocito y, en abundancia, el segundo granulocito presente en la sangre de todos los mamíferos, después del neutrófilo; su diámetro es aproximadamente de 12 a 14 μm . El eosinófilo maduro comparte la forma polimórfica con el neutrófilo y el basófilo: su núcleo es polimorfo con heterocromatina condensada y generalmente es bilobulado, en promedio de 2 a 3 lóbulos unidos por puentes de cromatina y carece de nucleolo (Appenheim y cols., 1981; Fudenberg y cols., 1978; Claver y Saenz, 1977; Weismann, 1980) (Tabla

1). Los eosinófilos circulantes y los que se localizan en los tejidos presentan más organelos citoplásmicos, tales como retículo endoplásmico, mitocondrias y aparato de Golgi, comparado con los neutrófilos (Weismann, 1980).

La principal característica morfológica de esta célula es la presencia de gránulos citoplásmicos acidófilos y lisosomas; el nombre de eosinófilos se debe a que sus gránulos se tiñen con eosina y la afinidad de los gránulos a la eosina se debe a su elevado contenido en proteínas básicas ricas en arginina (Shalm y cols. 1975; Weismann, 1980); los gránulos ocupan casi por completo el citoplasma, que tiene un contorno irregular a causa de pseudopodos que puede presentar, o a la presencia de los gránulos mismos. El eosinófilo humano posee aproximadamente 200 gránulos grandes por célula; éstos son organelos acidófilos que contienen más de la mitad del total de proteínas de la célula, son estructuras poliédricas o biconvexas que contienen un centro electrodensito cristaloides rodeado por una matriz, y que están cubiertas de una membrana. Este centro se caracteriza por ser como una rejilla cúbica con unidades repetidas cada 30 a 40 Å. Al parecer hay gránulos maduros, inmaduros y un tercer tipo intermedio.

El estudio de las membranas del eosinófilo se ha enfocado principalmente a la identificación de los receptores membranales para IgG y algunos componentes del complemento (Tabla 1) y se ha visto que carece de receptores para IgA, IgM, e IgD. En el caso de receptores para IgG se notifica que entre el 5 y el 25 % del total de eosinófilos de la sangre en individuos normales los presentan y que hay un aumento en ese porcentaje en enfermedades, incluyendo infecciones parasitarias por helmintos (Øttesen y Cohen, 1978).

Además se ha demostrado claramente la presencia de receptores para IgE y para las proteínas C3 y C4 del complemento sobre los eosinófilos (en el 30 al 40% del total de eosinófilos de humano). El porcentaje también se ve incrementado en infecciones por helmintos.

Se ha demostrado también que la histamina y uno de los factores quimiotácticos del eosinófilo en la anafilaxis (ECF-A), pueden aumentar el porcentaje de receptores para el complemento (Anwar y Kay, 1977; Anwar y Kay, 1978).

Bajo condiciones anormales, incluyendo infecciones por helmintos, la morfología del eosinófilo es frecuentemente anormal. Las células pueden ser vacuoladas, esto puede provocar un cambio en la densidad relativa de la matriz de los gránulos, lo que sugiere que estas células pueden

EDITH MEDINA ESCUTIA

estar parcialmente degranuladas. Estas alteraciones morfológicas pueden reflejar cambios funcionales en estas células (Spry y Tai, 1977).

Existen diferencias morfológicas entre los eosinófilos de distintas especies, principalmente debidas al tamaño celular y contenido de los gránulos (Ham 1983; Shalm y cols., 1975).

TABLA 1 CARACTERISTICAS DEL EOSINOFILO
(Modificado de Appenheit 1981)

Origen	Médula ósea
Distribución	Sangre y tejidos (aprox. 1:100)
Forma	Polimorfo
Tamaño	10 a 15 μ m
Núcleo	Bilobulado

RECEPTORES MEMBRANALES

Inmunológicos	IgG, IgE, C3b, C3d, C4
Farmacológicos	Estrógenos, histamina ECF-A

GRANULOS

Grandes	Principal proteína básica de la matriz o núcleo cristaloides.
Pequeños	Presentes principalmente en los eosinófilos tisulares; arilsulfatasa y fosfatasa ácida.

PRODUCTOS

Anti-inflamatorias Histamina, quimasa, arilsulfatasa, fosfolipasa D

2. Origen del eosinófilo

El proceso mediante el cual se forman las células sanguíneas se denomina hematopoyesis (Fig. 11).

Durante la vida embrionaria y fetal no hay centros definidos donde permanentemente se lleve al cabo la formación de células de la sangre. El saco vitelino, el hígado, el bazo, el timo, los ganglios linfáticos, y la médula ósea, participan todos en diversas etapas del desarrollo, en la producción de las diferentes células sanguíneas. En términos generales se puede decir que en el adulto la médula ósea (tejido mielóide) es la responsable de la producción de eritrocitos, leucocitos granulados, mononucleares y plaquetas (Presentey y Szapiro, 1969; Tortora y Anagnostakos, 1975).

Durante la vida embrionaria ciertas células epitelioideas denominadas células reticulares primitivas, se dispersan en todo el cuerpo y más tarde se depositan en algunos órganos. Algunas células reticulares primitivas, se desplazan hacia la médula ósea y se transforman en hemocitoblastos (células inmaduras capaces de convertirse en células sanguíneas maduras). Los hemocitoblastos de la médula ósea primero dan lugar a células poco diferenciadas, las cuales más tarde se transforman en células sanguíneas específicas. Por ejemplo, los hemocitoblastos se transforman en rubroblastos o proeritroblastos los que finalmente maduran hasta glóbulos rojos, o bien los mieloblastos que maduran a neutrófilos, eosinófilos o basófilos. En el tejido linfoide otros hemocitoblastos quedan incluidos. El destino de estos hemocitoblastos difieren de la médula ósea roja. Los hemocitoblastos del tejido linfoide se transforman en células ligeramente diferenciadas las cuales más tarde se convierten también en células sanguíneas maduras, es decir, el hemocitoblasto da lugar a los linfoblastos los cuales forman linfocitos y los monoblastos que forman monocitos.

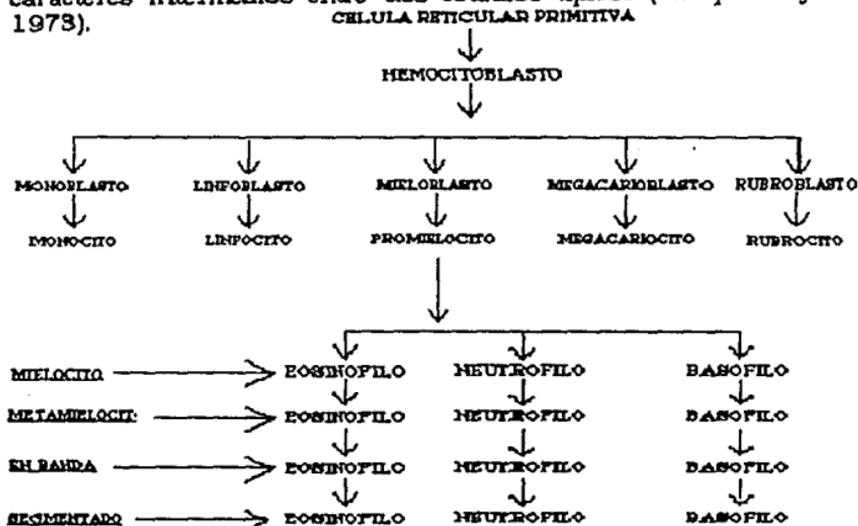
La primera célula distinguible en la serie del eosinófilo es el eosinófilo promielocito, el cual se caracteriza por la presencia de 10 pequeños gránulos eosinofílicos (Cline, 1975). La diferenciación subsiguiente de las formas de mielocito, metamielocito y en banda, proceden de una manera comparable a la de la serie del neutrófilo (Martínez-Cairo y cols., 1978).

Es probable que todas las células sanguíneas surjan, como ya se ha mencionado, de un tipo único de célula precursora denominada hemocitoblasto (teoría monofilética); sin embargo hay investigaciones

EDITH MEDINA ESCUTIA

que sugieren la existencia de varios tipos de células precursoras (teoría polifilética) (Junqueira y Carneiro, 1973).

Antes de alcanzar el estado de madurez completa, los células sanguíneas pasan por diversas etapas de diferenciación, dado que el proceso de maduración es continuo, hay a menudo células con caracteres intermedios entre dos estadios típicos (Junqueira y Carneiro, 1973).



PATRÓN DE MADURACIÓN: ELASTO HASTA MIELOCITO: RESERVA PROLIFERATIVA DE GRANULOCITOS.

METAMIELOCITO A EN BANDA: RESERVA DE GRANULOCITOS DE LA MEDULA.

EN BANDA A SEGMENTADOS: SANGRE FERRETERA.

Figura 11. Esquema en el que se muestran los precursores y las fases de maduración de los diferentes componentes de la sangre según el patrón tradicional de maduración.

(Tomado y modificado de Tortora y Anagnostakos, 1975).

3. Liberación, distribución y destino de los eosinófilos

Existen tres fases en el ciclo de vida del eosinófilo, en individuos normales; primero se desarrolla en la médula ósea, después pasa en forma breve a la circulación sanguínea y por último va a los tejidos (Butterworth y Jhon, 1981).

Aún cuando el principal sitio de eosinopoyesis es la médula ósea, se ha observado producción de eosinófilos en bazo, timo y ganglios linfáticos cervicales de animales de laboratorio (Atwal 1976).

Algunos estudios respecto al mecanismo celular que controla el desarrollo y la maduración de los eosinófilos, su distribución y su localización tisular en condiciones normales y en estado de enfermedad, apoyan la estratificación de las fases de la eosinopoyesis en: a) liberación a partir de la médula ósea con un tiempo de generación de aproximadamente 34 horas y una vida media en la circulación de 2 ó 3 h; b) compartimentalización extramedular; c) localización tisular y d) eliminación (Martinez-Cairo y cols., 1978; O'Brien y cols., 1979; Weller y Goetz, 1979; Weismann, 1980).

Cuando los eosinófilos abandonan la médula ósea, pasan unas horas en el torrente sanguíneo; después, al igual que otros leucocitos polimorfonucleares, salen de la circulación y entran en los tejidos donde residen varios días. Normalmente se localizan en el tejido conectivo laxo de los aparatos gastrointestinal y uterino inferior, de los pulmones, de la piel, del útero durante el estro y en el tejido conectivo superficial de los genitales externos. En cambio son escasos en el corazón, en el hígado y en los riñones (Weller y Goetzl, 1979).

El destino final de los eosinófilos después de su localización en los tejidos es incierto, pero existen evidencias que sugieren la simple disolución, el desprendimiento dentro de los aparatos respiratorio urinario o gastrointestinal, o la destrucción por macrófagos (Weller y Goetzl, 1979).

4. Niveles de eosinófilos en estado normal y eosinofilia

En cuanto al número de eosinófilos, la proporción de estos varía depende a la especie; sin embargo, la proporción siempre está en una proporción de 1 a 9% del total de leucocitos observados en un frotis normal; se cree que aproximadamente de 0.25 a 0.55×10^9 células/l de sangre periférica son eosinófilos en el humano (Butterworth, 1979;

EDITH MEDINA ESCUTIA

Butterworth y Jhon, 1981), pero debe recordarse que el número de células puede variar en una misma especie a lo largo del día, se alcanzan cifras máximas por la noche y mínimas por la mañana (Ham, 1983).

El número de eosinófilos se ve incrementado durante las reacciones alérgicas (hipersensibilidad de tipo I), por lo que se cree que tiene un papel importante en la modulación de reacciones de hipersensibilidad anafiláctica (Butterworth, 1979). También hay un incremento en infecciones de tipo parasitarias, y en el tejido conjuntivo donde ocurren reacciones antígeno-anticuerpo especialmente abundantes.

En el hombre los corticosteroides provocan un descenso inmediato en la concentración de los eosinófilos de la sangre periférica y en la zona de inflamación, sin que se altere la concentración de éstos en la médula ósea.

La eosinofilia se define como el aumento de eosinófilos circulantes en sangre periférica por arriba de los niveles normales. Los mecanismos por los que se produce eosinofilia no se conocen aún bien. Es común observar pacientes eosinofílicos cuando presentan alguna parasitosis, hipersensibilidad por drogas, irradiaciones, infecciones, neoplasias y en las enfermedades de la colágena (Claver y Saenz 1977; Martínez-Castro y cols., 1978).

La eosinopenia se define como la disminución de los niveles normales de eosinófilos circulantes en sangre periférica; las causas más comunes de eosinopenia son las mismas que provocan neutrofilia, (aumento del número de neutrófilos en sangre periférica) como en los casos de infecciones bacterianas, traumatismo, tensión, hemorragias, uremia y algunas neoplasias (Martínez-Castro y cols., 1978).

5. Control inmunológico de la producción de eosinófilos

Algunas evidencias sustanciales de estudios *in vivo* e *in vitro* sugieren que la producción de eosinófilos puede estar sujeta al control inmunológico ya que, al inyectar por vía intravenosa larvas de *Trichinella spiralis*, se observa una prolongada eosinofilia la cual aumenta marcadamente después de un segundo desafío con larvas (Weller y cols., 1978; Weller y Goetzl, 1979; Weller y cols., 1980). Cuando se utilizan animales timectomizados al nacimiento se evita el incremento de eosinófilos al aplicar la segunda dosis de larvas. Cuando se inyecta suero antilinfocito o se realiza drenaje crónico del ducto torácico ocurre lo mismo, lo cual sugiere una dependencia de linfocitos T. De hecho se

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

ha visto que los linfocitos T producen una sustancia que estimula la eosinopoyesis (factor estimulante de la producción de eosinófilos); esta sustancia es una linfoquina; los ratones deficientes de linfocitos T (los cuales tienen niveles normales de neutrófilos en respuesta a infecciones bacterianas) requieren de la reconstitución tímica para manifestar una respuesta eosinofílica en sangre periférica contra larvas de *T. spiralis* (Weller y Goetzl, 1979). Asimismo, se sabe que los ratones congénitamente atímicos no desarrollan una respuesta eosinofílica de la magnitud usual cuando se infectan con parásitos helmintos tales como *Schistosoma mansoni*, *Ascaris suum*, o *Trichinella spiralis* (Ruitenberg y cols., 1977).

Los eosinófilos no están totalmente ausentes en animales deficientes de linfocitos T, lo que sugiere vías para producción de eosinófilos que no dependen de la presencia de linfocitos T (Hsu y cols., 1977; Mahmoud y Stone, 1978).

Se ha sugerido que las células cebadas y los linfocitos B al producir IgE son fuentes de factores quimiotácticos y quimiocinéticos para eosinófilos (Weller y Goetzl, 1979; Appenheimer y cols., 1981).

Por último, también se ha observado que algunos procesos inflamatorios provocan una respuesta en la aceleración de la producción de eosinófilos (Bass, 1979).

6. Modulación de la migración del eosinófilo

Aunque los eosinófilos se encuentran ubicados predominantemente en los tejidos, su función la realizan después del flujo direccional y acumulación local en los sitios de reacción específica (Weller y cols., 1980).

El flujo selectivo de eosinófilos hacia el sitio de una lesión en donde son requeridos, está determinado por la actividad efectiva de diversos factores quimiotácticos y la capacidad de respuesta de los eosinófilos. Los eosinófilos son atraídos, atrapados e inmobilizados en los tejidos lesionados por los efectos de los agentes quimiotácticos y de varios inhibidores, de esta manera un número suficiente de eosinófilos se mantienen en el foco de una lesión, que generalmente es una reacción de hipersensibilidad, en donde ejercen su papel funcional y regulador (Goetzl, 1976).

Se han identificado cinco tipos de factores quimiotácticos para

EDITH MEDINA ESCUTIA

eosinófilos: 1) los que provienen de las células cebadas; 2) los que derivan de los neutrófilos; 3) los derivados de los linfocitos; 4) los derivados del suero y 5) los dependientes de la naturaleza fisicoquímica del estímulo por sí mismo (Appenheim y cols., 1981).

Un gran número de sustancias han demostrado ser quimiotácticas para eosinófilos, *in vivo*. Estas incluyen complejos antígeno-anticuerpo particularmente cuando están combinados con componentes activados del sistema del complemento, agregados macromoleculares de gammaglobulinas heterólogas, fibrina, fibrinógeno, productos liberados a partir del daño tisular, productos bacterianos e histamina (Shalm y cols., 1975; Zucker-Frankin 1978).

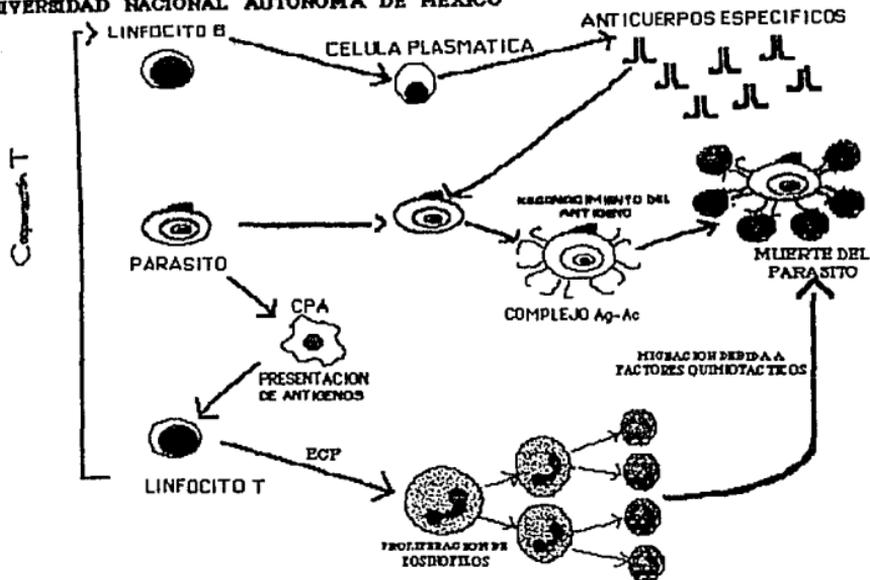
Aunque las vías inmunológicas subagudas y retardadas contribuyen como principios capaces de aumentar la migración del eosinófilo, la reacción de hipersensibilidad inmediata produce un amplio espectro de factores, los cuales influyen en forma selectiva sobre el tráfico de eosinófilos en los tejidos (Weller y cols., 1980).

7. Función de los eosinófilos

Los eosinófilos, a diferencia de los neutrófilos, no tienen amplia función fagocitaria, en lo que se refiere a bacterias, y tienen menor movilidad, pero se considera que pueden desintegrar partículas de sustancias producidas anormalmente (toxinas) sean endógenas o exógenas (Baez, 1976; Ham, 1983). Los eosinófilos una vez que son atraídos a complejos antígeno-anticuerpo tienen la capacidad de fagocitarlos (Butterworth, 1979).

Un papel de los eosinófilos es atenuar los efectos de las reacciones alérgicas locales ya que pueden intervenir en los fenómenos que circunscriben y restringen las reacciones inflamatorias localizadas, concomitantes con reacciones de hipersensibilidad, pues sus gránulos específicos contienen muchas enzimas que degradan los mediadores químicos liberados por las células cebadas.

Un dato importante es que el número relativo de eosinófilos aumenta en la sangre de individuos infectados por algunos parásitos helmintos, es por ello que se considera que los eosinófilos tienen un papel importante en la defensa contra dichos parásitos; esto se ve reforzado en trabajos donde se demuestra que los eosinófilos descargan sus enzimas lisosómicas sobre la superficie del parásito y así lo dañan directamente (Figs. 12 y 13) (Baez, 1976; Claver y Saenz, 1977;



ECF: FACTOR QUIMIOATRACTIVO DEL EOSINOFILO.
 Ag-Ac: ANTIGENO-ANTICUERPO.
 CPA: CELULA PRESENTADORA DE ANTIGENOS.

Figura 12. Efecto citotóxico antiparasitario de los eosinófilos.
 (Modificado de Martínez-Cairo y cols., 1978).

Ham, 1983; Junqueira y Carneiro, 1973; Shalm y cols., 1975).

Aunque las células fagocíticas tienen cierta actividad directa contra parásitos, la protección más eficaz en algunas parasitosis la proporciona el mecanismo de citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC). Los macrófagos, los neutrófilos y los eosinófilos pueden demostrar toxicidad directa contra parásitos previamente revestidos con anticuerpos derivados de linfocitos B activados, posiblemente con ayuda de linfocitos T cooperadores. El ejemplo más claro de ADCC se observa con la muerte *in vivo* de esquistosómulas de *Schistosoma*

EDITH MEDINA ESCUTIA

mansoni (Butterworth y cols., 1974). Las esquistosómulas pueden morir por incubación con anticuerpos y eosinófilos, pero no con eosinófilos solamente. Aunque la mayor parte de los estudios *in vivo* han demostrado la eficacia de los eosinófilos en ADCC, hay datos que indican que los neutrófilos y los macrófagos son citotóxicos en forma similar. La fijación de las células citotóxicas suele estar mediada por IgG, aunque también suele ser eficaz la IgE (Joseph, 1982). Se considera que la citotoxicidad mediada por células dependientes de anticuerpos es protectora en la triquinosis y en algunas filarías.

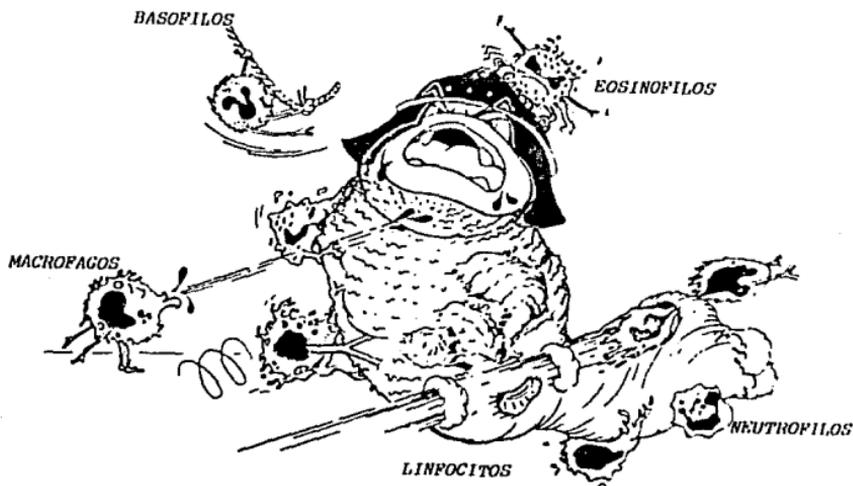


FIGURA 13. MECANISMOS CAPACES DE DESTRUIR AL PARASITO

EOSINOFILOS Y NEUTROFILOS. Dañan esquistosomulas de *Schistosoma mansoni*, mediante citotoxicidad dependiente de anticuerpos y complemento respectivamente.
FAGOCITOS MONONUCLEARES. Dañan esquistosomulas directamente a través de sus productos, el suero inmune, sin embargo maximiza la actividad citotóxica de monocitos.
BASOFILOS Y LINFOCITOS. Están involucrados en ayudar a múltiples mecanismos como son: quimiotaxis y fagocitosis, y por si solos son directamente citotóxicos.
(Tomado de Jerrald y Adel, 1982)

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
III. JUSTIFICACION

Se sabe que los cisticercos, como otros parásitos, sobreviven en huéspedes inmunocompetentes, y para explicar esto, se ha postulado la existencia de mecanismos de adaptación evolutiva entre el huésped y el parásito llamados mecanismos de evasión inmune.

Entre los componentes del huésped más importantes que los cisticercos de *Taenia solium* deben evadir, se encuentran los eosinófilos pues este tipo celular es uno de los que predominan en la reacción que destruye al parásito cuando, por tiempo o tratamiento, se rompe el equilibrio de la relación huésped-parásito.

Es por esto que se considera que se debe de analizar directamente el efecto que ejercen los productos parasitarios sobre la viabilidad y la actividad biológica de los eosinófilos.

IV. OBJETIVO GENERAL

Determinar si los productos de cisticercos de *Taenia solium* afectan la viabilidad o la quimiotaxis de los eosinófilos.

1.- OBJETIVOS PARTICULARES

1) Determinar el efecto de productos del cisticercos de *Taenia solium* sobre la viabilidad de eosinófilos *in vivo* e *in vitro*.

2) Determinar el efecto de productos de cisticercos de *Taenia solium* sobre la quimiotaxis de eosinófilos *in vivo*.

V. HIPOTESIS

1) El cisticercos produce una o varias sustancias que afectan la viabilidad de los eosinófilos.

2) El cisticercos produce una o varias sustancias que afectan la quimiotaxis de los eosinófilos.

A. PURIFICACION DE EOSINOFILOS

Se utilizaron ratones de la cepa NIH, machos, de 4-6 semanas de edad y con un peso de 20-25g. Se les inyectó intraperitonealmente 2 ml de una solución con heparina a 12.5 U/ml (Ramalho-Pinto y cols., 1978), y se dejaron durante 5 minutos para que la población de eosinófilos en peritoneo se enriqueciera. Se obtuvo el líquido peritoneal y se centrifugó a 800 xg durante 10 minutos; el botón que se obtuvo se lavó 2 veces con medio RPMI 1640 (GIBCO) a temperatura ambiente. El botón se resuspendió en 1ml de medio y se colocó en un gradiente discontinuo de densidad de metrizamida (Vadas y cols., 1979) a las concentraciones de 18, 20, 22, 23, 24 y 25% diluido en TDG, que es una solución preparada con Tyrode 10x al 10%, 90% de H₂O, 0.1% de gelatina y 0.003% de DNasa. Una vez colocada la muestra se centrifugó a 1300 x g, durante 45 minutos a temperatura ambiente (Fig. 14).

Una vez centrifugado se obtuvieron los eosinófilos de la interfase de 24-25% cuidadosamente. Esta porción fué nuevamente lavada con solución de NaCl 0.15M, amortiguada con fosfatos 0.01M, pH 7.4 (PBS) 2 a 3 veces para eliminar la metrizamida que pudiera haber quedado ya que puede ser tóxica para las células. La viabilidad de las células fué verificada por exclusión de azul tripano (GIBCO) al 0.04% diluido en PBS.

B. OBTENCION DE PRODUCTOS PARASITARIOS

Se aislaron cisticercos de carne de cerdo infectada, con cuidado de separarlos perfectamente de la cápsula inflamatoria. Los cisticercos se usaron inmediatamente o se congelaron a -70°C para su uso posterior.

1. Extracto-Crudo

Para obtener el extracto crudo (EC) se siguió la técnica descrita por Espinoza y cols., (1982); los cisticercos se homogenizaron en una solución de KCl 3M, y se incubaron 4°C en agitación toda la noche. El homogenizado se dializó 5 veces contra PBS con cambios cada 12 h, a 4°C, y se centrifugó a 20,000 xg, durante 1 hora a 4°C. Al sobrenadante

EDITH MEDINA ESCUTIA

se le determinó la concentración de proteínas con ayuda del reactivo simplificado de Bio-rad y se conservaron en viales a -70°C hasta su uso.

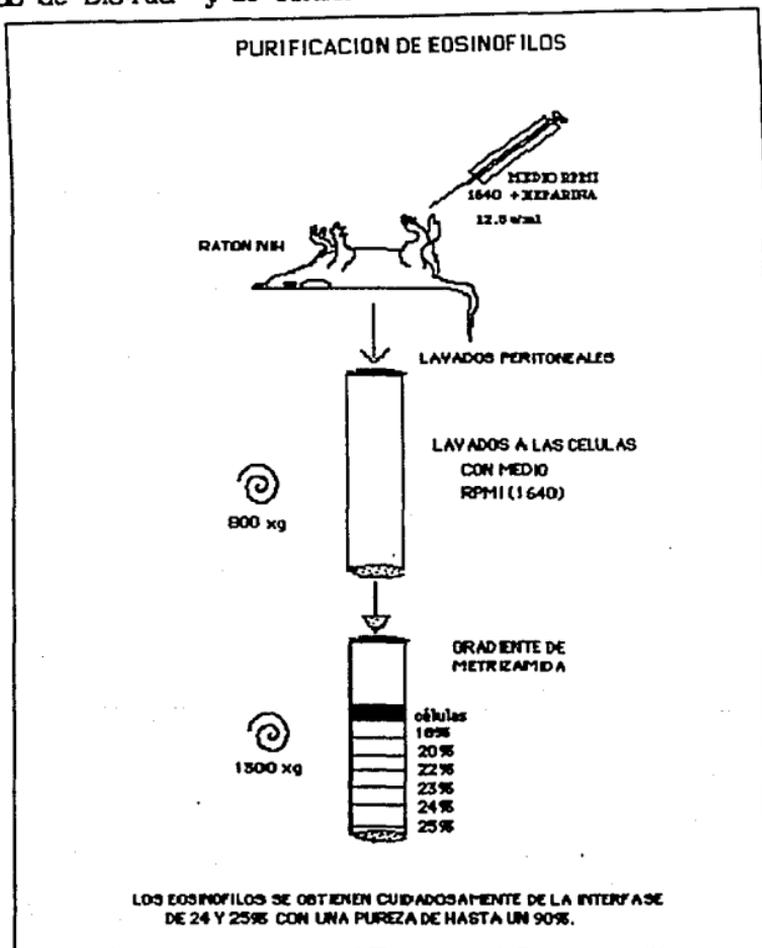


Figura 14. Esquema en que se muestra el método empleado para purificación de eosinófilos según: Vadas y cols., 1979.

2.Productos de Excreción-Secreción

Para obtener los productos de excreción-secreción (ES) se utilizaron cisticercos aislados recientemente de carne infectada. A una parte de los cisticercos se les verificó su viabilidad con billis de res al 25% en PBS durante 45-60 min, en agitación constante a 37°C, y se contó el porcentaje de cisticercos que evaginaron (Cañedo y cols., 1982). Otra porción de los cisticercos se lavó de 5 a 6 veces con medio RPMI 1640 complementado con antibióticos, todo esto bajo condiciones estériles; ya que están lavados se dejaron en placas de cultivo de 24 pozos (COSTAR), de 5 a 10 cisticercos por pozo y se les agregó 1 ml de medio; esto se mantuvo a 37°C en una atmósfera húmeda con una mezcla de 95% de aire y 5% de CO₂ durante 18 horas. Al término de este tiempo se obtuvo el sobrenadante de cada pozo, nos aseguramos que no estuviera contaminado y se determinó la concentración de proteínas con el reactivo simplificado de Bio-rad.

Los productos de ES utilizados inmediatamente se denominaron "ES-F", mientras que los productos de ES que tuvieron que ser mantenidos en congelación para su uso posterior se les denominó solo productos "ES".

C) DISEÑO EXPERIMENTAL

Viabilidad *in vitro* (Fig. 15)

Se probaron diferentes concentraciones de EC, productos ES, y ES-F, que van desde 0.001 μ g/ml hasta 1000 μ g/ml sobre la viabilidad de 1×10^6 a 1×10^8 eosinófilos/ml, durante 60 min de incubación a 37°C y agitación constante. Al término de ese tiempo, se lavaron las células y se verificó el porcentaje de viabilidad con azul tripano y ayuda de un hemocitómetro, para facilitar el conteo celular.

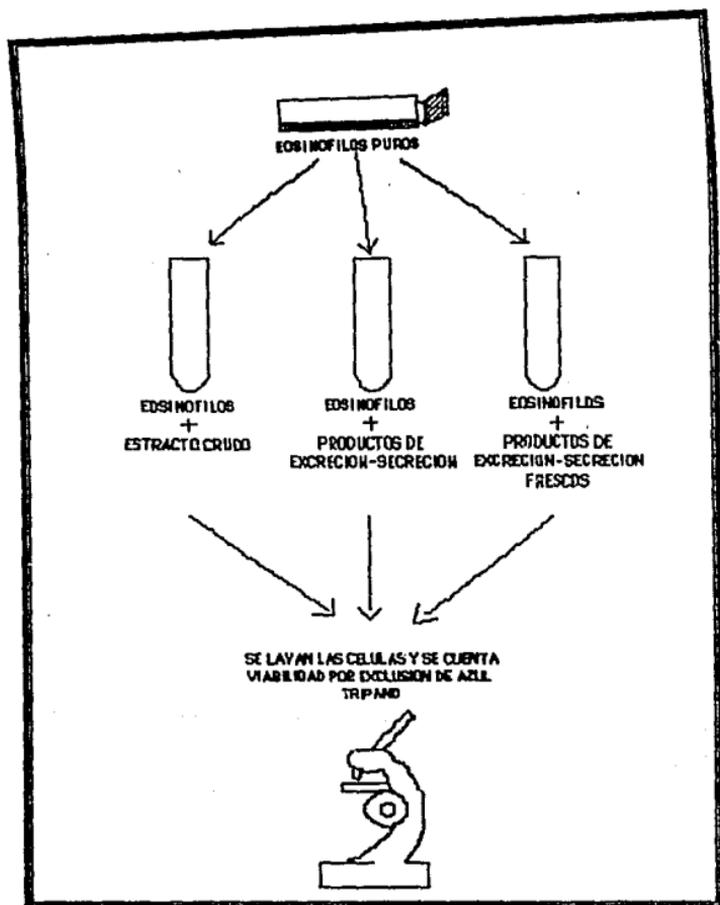


Figura 15. Esquema del método empleado para los experimentos de viabilidad *in vitro*.

Esas concentraciones también se probaron *in vivo*, ya que se inyectaron directamente al peritoneo de ratones, en 2 ml de volumen total de solución, y durante 5 minutos. Al término de este tiempo se obtuvo el líquido peritoneal que contiene a los eosinófilos y se lavaron con medio RPMI, y se verificó porcentaje de viabilidad con azul tripano.

Para saber que solo se cuenta la viabilidad de los eosinófilos, se contó la viabilidad de las células más grandes no se tomaron en cuenta las pequeñas, se hizo una laminilla con una muestra del líquido y se tiñó con un colorante diferencial, de aquí se cuenta el porcentaje de eosinófilos que realmente tenemos (también se ignoran las células pequeñas), en la muestra y se extrapola a nuestros datos.

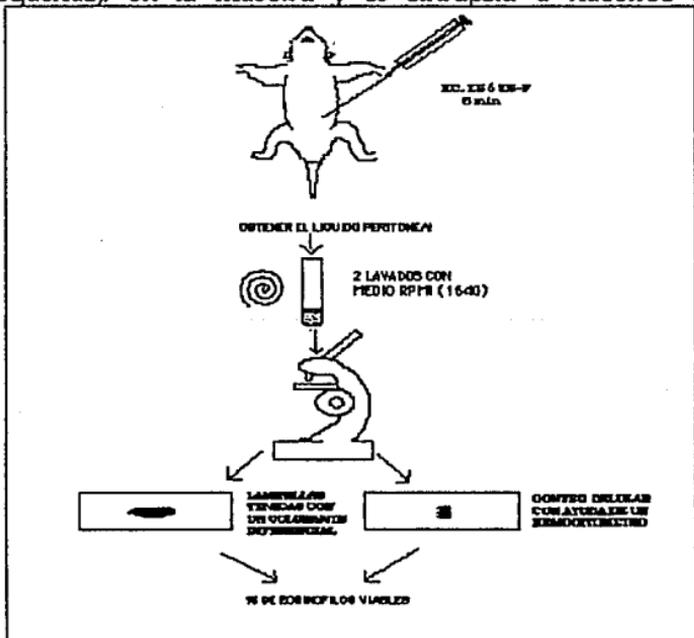


Figura 16. Esquema del método empleado para los experimentos de viabilidad *in vivo*.

Quimiotaxis *in vivo* (Fig. 17)

Se probaron diferentes concentraciones de EC, ES y ES-F sobre la quimiotaxis de eosinófilos durante 5 min. al inyectar en 2 ml de volumen total, directamente al peritoneo de ratones; al término del tiempo, se obtuvo nuevamente el líquido peritoneal, que contiene a los eosinófilos y se lavaron. De la muestra se hizo un frotis, que se tiñó con un colorante diferencial, y se contó porcentaje de eosinófilos de la muestra total.

Cabe mencionar que para realizar los experimentos *in vivo* nos basamos en los experimentos de Ramalho-Pinto y cols., (1978), al inyectar una solución de heparina a 25u/ml. en el peritoneo de ratas ellos observaron un incremento de la población de eosinófilos y requirieron de solo 3 minutos para su experimento.

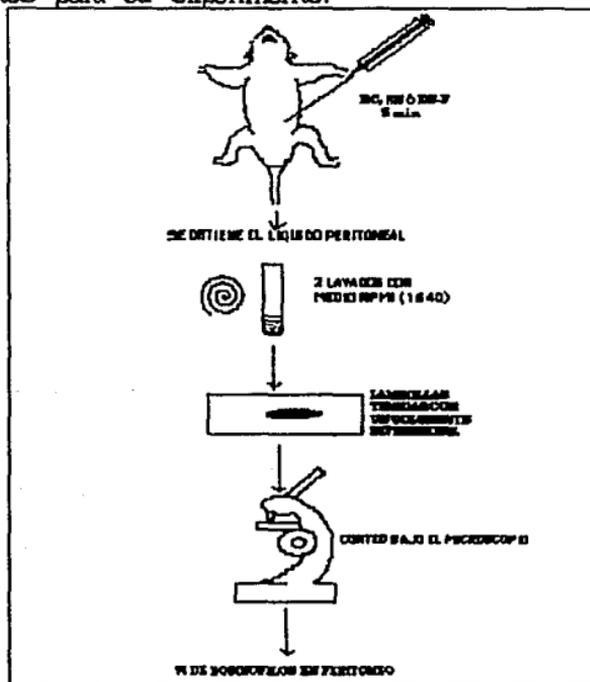


Figura 17. Esquema del método empleado para los experimentos de quimiotaxis *in vivo*.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
VII RESULTADOS

En los experimentos de viabilidad *in vitro* observamos en la tabla 2; que al probar eosinófilos con el Extracto Crudo (EC), se puede ver que la viabilidad se mantiene por arriba del 90%. Aparentemente no existe algo en el EC que afecte a los eosinófilos ya que aún en incubaciones de 1 hora y con concentraciones de hasta 1mg/ml, las células se mantienen viables.

TABLA 2.- EFECTO DEL EXTRACTO CRUDO DEL CISTICERCO DE T. solium SOBRE LA VIABILIDAD DE EOSINOFILOS in vitro.

CONC. DE EC ng/ml	% DE EOSINOFILOS VIABLES EN EL EXPERIMENTO:			PROMEDIO	Desviación estandar
	1	2	3		
⁶ 1X10	97	98	*	97.5	-
⁵ 5X10	98	*	100	99	-
⁴ 5X10	99	*	100	99.5	-
³ 5X10	*	99	99	99	-
³ 1X10	99	99	100	99.3	5.58
¹ 1X10	98	100	*	99	-
0	98	100	99	99	0.82

* NO DETERMINADO

Los resultados de los experimentos hechos *in vitro* (Tabla 3) mostraron que la inyección de diferentes concentraciones del EC, tampoco afectó a los eosinófilos ya que a una concentración de hasta 1mg/ml registramos 90% de viabilidad.

TABLA 3.- EFECTO DEL EXTRACTO CRUDO DEL CISTICERCO DE *T. solium* SOBRE LA VIABILIDAD DE EOSINOFILOS *in vivo*.

CONC. DE EC ng/ml	PROMEDIO	Desviación estandar	N
1X10 ⁶	89.7	8.49	3
5X10 ⁵	90.3	1.92	4
1X10 ⁵	92.5	3.54	6
5X10 ⁴	99.0	0.47	3
1X10 ⁴	87.0	7.31	4
5X10 ³	98.7	0.47	3
1X10 ³	94.6	6.24	5
0	98.0	3.54	7

N - NUMERO DE ENSAYOS

Con respecto a los experimentos de viabilidad con los productos de Excreción-Secreción (ES) mantenidos en congelación antes de su uso, se puede observar que los resultados fueron semejantes a los ensayos en los que se usó el EC y que tanto *in vitro* como *in vivo* (Tablas 4 y 5) los eosinófilos se mantuvieron viables en más del 90%.

TABLA 4.- EFECTO DE LOS PRODUCTOS DE EXCRECION-SECRECION DEL CISTICERCO DE *Taenia solium* SOBRE LA VIABILIDAD DE EOSINOFILOS DE RATON *in vitro*.

CONC. DE PROTEINA pg/ml	% DE EOSINOFILOS VIABLES EN EL EXPERIMENTO				Desviación estandar
	1	2	8	PROMEDIO	
100	92	90	93	91.67	1.53
50	94	89	95	92.67	3.21
10	96	93	95	94.67	1.53
5	*	96	96	96.00	-
0	95	95	96	95.33	0.58

* NO DETERMINADO

TABLA 5.- EFECTO DE LOS PRODUCTOS DE EXCRECION-SECRECION DEL CISTICERCO DE *Taenia solium* SOBRE LA VIABILIDAD DE EOSINOFILOS DE RATON *in vivo*.

CONC.DE PROTEINA µg/ml	% DE EOSINOFILOS VIABLES EN EL EXPERIMENTO			PROMEDIO	Desviación estandar
	1	2	8		
100	95	96	95	95.33	0.58
50	99	97	95	97.00	2.00
10	97	98	98	97.67	0.58
5	98	97	98	97.67	0.58
0	99	97	99	98.33	1.15

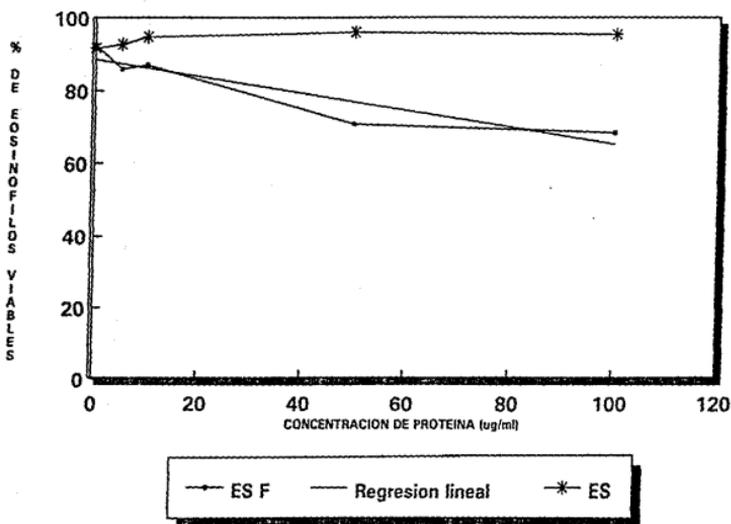
En los experimentos en los que usamos productos de Excreción-Secreción Frescos (ES F) *in vitro* (Tabla 6) se pudo observar que los cisticercos produjeron algo que aparentemente afectó a los eosinófilos, ya que desde una concentración de 50 µg/ml, se registró un decremento en la viabilidad de las células. Con 180 µg/ml de proteína la viabilidad registrada fué de 51%; al hacer el análisis de los datos que obtuvimos, estos se ajustan a un modelo lineal, con un coeficiente de correlación $r=0.8594$ lo que explica que a mayor concentración de la proteína hay menor número de células viables como se observa en la grafica 1.

TABLA 6. EFECTO DE LOS PRODUCTOS DE EXCRECION-SECRECION FRESCOS DEL CISTICERCO DE *Taenia solium* SOBRE LA VIABILIDAD DE EOSINOFILOS DE RATON *in vitro*.

CONC.DE PROTEINA µg/ml	% DE EOSINOFILOS VIABLES EN EL EXPERIMENTO:			PROMEDIO	Desviación estandar
	1	2	8		
180	51	*	*	51.0	-
100	58	67	80	68.3	11.06
50	56	75	81	70.7	13.05
10	*	82	92	87.0	-
5	85	83	90	86.0	3.61
1	*	90	96	93.0	-
0	87	95	95	92.4	4.62

* NO DETERMINADO

GRAFICA 1. Efecto de los productos de ES sobre eosinofilos in vitro.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

En cuanto a los experimentos *in vivo* (Tabla 7) al usar el mismo sobrenadante fresco, no se registró un decremento en la viabilidad ya que estaban más del 90% de los eosinófilos viables en los diferentes ensayos.

TABLA 7. EFECTO DE LOS PRODUCTOS DE EXCRECION-SECRECION FRESCOS DEL CISTICERCO DE *Taenia solium* SOBRE LA VIABILIDAD DE EOSINOFILOS DE RATON *in vivo*.

CONC. DE PROTEINA µg/ml	% DE EOSINOFILOS VIABLES EN EL EXPERIMENTO:				PROMEDIO	Desviación estandar
	1	2	3			
150	93	*			93.00	-
100	95	90	92		92.33	2.52
50	95	94	90		93.00	2.65
10	*	95	94		94.50	-
5	97	94	95		95.33	1.53
1	*	*	95		95.00	-
0	96	97	97		96.67	0.58

* NO DETERMINADO

En la Tabla 8 están registrados los resultados de quimiotaxis *in vivo* en los que usamos EC, y se observa que la población de eosinófilos en peritoneo de ratones en los diferentes ensayos, oscila entre el 3 y 11.5 %, y aparentemente no hay una tendencia hacia la disminución con respecto al grupo testigo.

TABLA 8. EFECTO DEL EXTRACTO CRUDO DEL CISTICERCO DE *Taenia solium* SOBRE LA QUIMIOTAXIS DE EOSINOFILOS DE RATON *in vivo*.

CONC. DE PROTEINA µg/ml	% DE EOSINOFILOS EN EL EXPERIMENTO:					PROMEDIO	Desviación estandar
	1	2	3	4	5		
1000	*	6	*	5.5	7	6.17	0.76
500	6	5	11.5	3.7	7.3	6.70	2.99
100	4	7	*	4	6	5.25	1.50
50	5	*	2.5	4	6.3	4.45	1.57
10	6	*	4	4.7	6	5.18	0.99
5	*	3	5	4.5	5	4.38	0.95
1	6	3	*	*	6	5.00	1.73
0	3.5	6	5	3.8	5.6	4.78	1.09

* NO DETERMINADO

EDITH MEDINA ESCUTIA

Por último en la Tabla 9 se muestran los resultados de quimiotaxis *in vivo* en los que usamos productos de ES; en estos se observa una ligera tendencia al aumento con respecto al grupo testigo.

TABLA 9. EFECTO DE LOS PRODUCTOS DE EXCRECION-SECRECION DEL CISTICERCO DE *Taenia solium* SOBRE LA QUIMIOTAXIS DE EOSINOFILOS DE RATON *in vivo*

CONC. DE PROTEINA µg/ml	% DE EOSINOFILOS EN EL EXPERIMENTO:				PROMEDIO	Desviación estándar
	1	2	3	4		
100	10.5	9.5	7	7.6	8.65	1.63
50	8.2	8.9	5	*	7.37	2.08
10	7.3	6.1	4	5.3	5.68	1.39
5	5.8	7	*	6	6.27	0.64
1	6	7.3	4	*	5.77	1.66
0.001	*	7.2	*	*	7.20	-
0	6	6.9	5	6	5.98	0.78

* NO DETERMINADO

Los helmintos son organismos que han logrado sobrevivir gracias a las características que han adquirido o modificado durante su evolución. Hoy en día los podemos encontrar ampliamente distribuidos en el mundo, sabemos que son parásitos que viven dentro de otro organismo principalmente vertebrados y para mantenerse allí han llegado a alcanzar cierto "acuerdo" con el huésped, ya que éste cuenta con herramientas que normalmente le permiten eliminar, no solo a los helmintos, si no a cualquier agente extraño. Una de las principales armas del huésped es su Sistema Inmunológico, el cual está formado por diversos tipos celulares entre los que encontramos a linfocitos, macrófagos, basófilos, neutrófilos y eosinófilos.

Los eosinófilos ante la invasión por helmintos pueden, mediante mecanismos de citotoxicidad dependiente de anticuerpos (ADCC), dañar el tegumento del parásito, así dejar al descubierto moléculas que son reconocidas como extrañas por los otros tipos celulares o por más eosinófilos; además de poder fagocitar complejos inmunitarios.

A pesar de que hay respuesta inmunológica por parte del huésped el parásito utiliza mecanismos para desviarla. En la actualidad se conocen varios mecanismos de evasión inmunológica que utilizan los parásitos.

En el presente trabajo analizamos si el cisticerco produce alguna sustancia que pudiera afectar la viabilidad o la funcionalidad de los eosinófilos, ya que sabemos que estas células son las que están más cercanas a las larvas de *T. solium* en la reacción inflamatoria que provoca su establecimiento en el organismo. Además cuando los cerdos cisticercosos son tratados con algún cestocida, como el praziquantel, los eosinófilos no solo se acercan y dañan el tegumento, sino que también se pueden introducir dentro de la larva y lisar sus tejidos y de esa forma ayudan a eliminarla (Flisser y cols., 1990; Melhorn y cols., 1981).

Inicialmente realizamos experimentos en los que probamos el efecto del EC y de productos ES del cisticerco, sobre eosinófilos; en ambos casos encontramos que esos productos no afectan la viabilidad de las células *in vitro* e *in vivo*; posteriormente probamos productos de ES recién cosechados, y en este caso se encontró que existe alguna sustancia que afecta la viabilidad de los eosinófilos.

EDITH MEDINA ESCUTIA

Estos resultados son interesantes ya que existen diversos trabajos del efecto del eosinófilo sobre diferentes parásitos (céstodos, tremátodos, nemátodos, entre otros), pero no hay reportes de trabajos que indiquen que el parásito puede afectar a su huésped produciendo agentes tóxicos que puedan dañar a los eosinófilos.

La actividad citotóxica de la sustancia que produce el parásito en cultivo sólo se detecta cuando el sobrenadante está fresco, ya que cuando los productos de ES se congelan se pierde la actividad; por lo anterior pensamos que se trata de algo termolábil y que fácilmente se pierde su actividad; podría tratarse de alguna proteína ya que algunas de éstas fácilmente se desnaturalizan con cambios de temperatura, aunque podría tratarse de otro tipo de molécula.

Un método que pensamos emplear para corroborar que realmente se trata de una proteína, es el siguiente: si el efecto tóxico realmente se debe a la presencia de una proteína, una vez que podamos cosechar el sobrenadante del cisticercos del cultivo, podemos adicionarle proteasas, posteriormente haremos los ensayos de viabilidad utilizando la misma metodología que venimos usando; si los eosinófilos se mantienen viables querrá decir que realmente se trata de una proteína; el paso siguiente sería buscar metodología para purificar proteínas.

Se hicieron ensayos *in vivo* usando productos de ES F, pero no se detectó algún efecto en contra de la viabilidad de los eosinófilos en el modelo experimental empleado. También quisimos saber si estos productos afectaban la movilidad (quimiotaxis) de los eosinófilos *in vivo* y con los resultados obtenidos observamos que aparentemente no hubo una migración significativa hacia el peritoneo del ratón. Al querer hacer un análisis estadístico de los datos y al transcurso de los ensayos nos dimos cuenta de los inconvenientes que tiene el usar ese modelo experimental, ya que debemos tomar en cuenta que el peritoneo del ratón no es un sistema cerrado; contrariamente es un sistema abierto y dinámico y se puede modificar la concentración de la proteína empleada, por el líquido que allí se encuentra; además el tiempo de duración del ensayo fue corto.

Respecto a nuestras hipótesis, podemos observar que se cumplió la primera, ya que efectivamente el cisticercos produjo algo que afectó la viabilidad de los eosinófilos. Respecto a la segunda hipótesis, nosotros esperábamos que el cisticercos produjera factores anti-quimiotácticos para los eosinófilos ya que en cortes histopatológicos, los eosinófilos

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

rodean a la larva pero no llegan a estar en contacto con ella, y se mantienen a cierta distancia (Willms y Merchant, 1980); contrariamente a lo que esperábamos, tenemos algunos datos preliminares que indican que existen factores quimiotácticos positivos para estas células; esto ya se ha visto en otros céstodos y tremátodos (Butterworth, 1979; Tanaka y Torisu, 1979). La explicación de esto puede ser, que las larvas de *T. solium* producen factores quimiotácticos para eosinófilos y una vez que los atraen hasta ellas, también producen un factor tóxico para esas células y las mata; este factor fácilmente se inactiva y esa es la razón por la que sólo los eosinófilos más cercanos son los que se mueren, entonces notamos esa distancia entre ambos en los cortes histopatológicos.

Los datos que obtuvimos amplían un campo de interés en el estudio de la relación huésped-parásito, ya que como mencionamos antes no se tenía informes de que las larvas de *T. solium* produjera un agente eosinotóxico; es importante seguir trabajando en esta área para comprender más como es que se han mantenido hasta nuestros días algunos parásitos e inclusive, en el futuro poder hacer algo para eliminarlos.

IX. CONCLUSIONES

-El cisticerco en cultivo produjo algo que afectó la viabilidad de los eosinófilos.

-Esta sustancia fácilmente se inactiva con cambios de temperatura.

-El Extracto Crudo y los productos ES que se congelaron antes de su uso no afectaron la viabilidad de los eosinófilos *in vitro*

-En los ensayos hechos *in vivo* se observó que en ninguno de los casos experimentales los eosinófilos resultaran afectados.

-El método empleado para los ensayos de quimiotaxis *in vivo* no fué satisfactorio por lo que decidimos iniciar los ensayos *in vitro*.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
X. REFERENCIAS

- ALBORES SJ, y ALTAMIRANO M (1971). Algunas consideraciones sobre 9412 autopsias realizadas en el Hospital General de México. *Rev. Invest. Salud Publ.* 31, 1-10.
- ALUJA A (1982). Frequency of porcine cysticercosis in Mexico. En: A. Flisser, K. Williams, J. P. Loelette, C. Larralde, C. Ridaura, F. Beltrán (eds.) Cysticercosis present state of knowledge and perspectives. Academic Press New York. pp. 53-62.
- ALUJA AS, y VARGAS G (1988). The histopathology of porcine cysticercosis. *Vet. Parasitol.* 28,65-77.
- ALUJA A (1989). La histopatología de la cisticercosis porcina. En: A. Flisser y F. Malagón (eds.), Cisticercosis humana y porcina. Su conocimiento e investigación en México. Limusa-Noriega, México, D.F. pp. 147-156.
- ANWAR AR E, and KAY AB (1977). Membrane receptors for IgG and complement C4, C3b and C3d on human eosinophils and neutrophils and their relation to eosinophilia. *J. Immunol.* 119, 976-982.
- ANWAR AR E, and KAY AB (1978). Enhancement of human eosinophil complement receptors by pharmacologic mediators. *J. Immunol.* 121, 1245-1250.
- APPENHEIM JJ, ROSENSTREICH DL, and POLLER M (1981). Cellular function in immunity and inflammation. Edward Arnold, Philadelphia.
- ASADA J, OTAGAKI H, KAJI F, AOKAGE K, and OCHI G (1956). On the longevity and development of the pork and beef tapeworms in human host. *Tokyo JI Shinshi* 73, 153-156.
- ATWAL OS (1976). Ultrastructural features of eosinophil leucocytes of the goat *J.Comp Pathol.* 86, 183-190.
- BAEZ VJ (1976). Hematología clínica. Talleres Gráficos de la Nación, México.
- BASS DA (1979). Behavior of eosinophil leucocyte in acute inflammation. I. Lack of dependence on adrenal function. *J. Clin. Invest.* 55,1229-1236.
- BECKER B, MELHORN H, ANDREUS P, THOMAS H, and ECKERT J (1980). Light and electron microscopic studies on the effect of Praziquantel on *Schistosoma mansoni*, *Dicrocoelium dendriticum*,

EDITH MEDINA ESCUTIA

and *Fasciola hepatica* (trematoda) *in vitro* Z. Parasitenkd 63,113-128.

BUTTERWORTH AE, STURROCK RF, and HOUBA E (1974). Antibody-dependent, cell-mediated-damage to schistosomula *in vitro* Nature 252,503-505.

BUTTERWORTH AE (1979). The eosinophil and its role in immunity to helminth infection. Current Topics in Microbiology and Immunology, 77, 127-168.

BUTTERWORTH AE, and JHON RD (1981). Eosinophil function. New Engl. J. Med. 304,154-156.

CAÑEDO L, LACLETTE J P, and MORALES E (1982) Evagination of the metacystode of *Taenia solium*. En: A. Flisser, K. Willms, J.P. Laclette, C. Laralde, C. Ridaura, F. Beltrán (eds.) Cysticercosis: present state of knowledge and perspectives. Academic. Press. New York. pp. 363-374.

CLAVER JA, y SAENZ AM (1977). Apuntes de Histopatología Veterinaria: Sangre. Hemisferio Sur, Buenos Aires, Argentina.

CLINE MD (1975). A common wealth fund Book. Harvard University Press, Massachusetts.

COX F EG (1982) Modern Parasitology. Blackwell Scientific. Publications, Oxford 159,126.

CORREA D, DALMA D, ESPINOZA B, FLANCARTE A, RABIELA MT, MADRAZO I, GORODEZKY C, and FLISSER A (1985). Heterogeneity of humoral immune components in human cysticercosis. J. Parasit 71, 535-541.

CORREA D, LACLETTE JP, RODRIGUEZ-DEL ROSAL E, MERCHANT M, and FLISSER A (1987). Heterogeneity of *Taenia solium* cysticerci obtained from different naturally infected pigs. J. Parasit, 73, 443-445.

CORREA D (1989). Cisticercosis humana: relación inmunológica huésped-parásito. En: A. Flisser, F. Malagón (eds.) Cisticercosis humana y porcina. Su conocimiento e investigación en México. Limusa-Noriega, México D.F. pp 31-44.

CORREA D, MORALES Z, MEDINA Y, GARCIA C, MEDINA E, MANDUJANO A, ORTIZ D, y MEZA A (1991). Teniasis y cisticercosis por *Taenia solium* una revisión de viejos y nuevos descubrimientos. Publicaciones técnicas del I.N.D.R.E. México D.F. 4; 1-56.

DIXON H BF, and LIPSCOMB FM (1961). Cysticercosis: An analysis and follow up of 450 cases. Privy Council Med. Res. Special Rep. Ser.

- ESPINOZA B, RUIZ-PALACIOS G, TOVAR A, SANDOVAL M A, PLANCARTE A and FLISSER A (1986). Characterization by enzyme linked immunosorbent assay of the immune response in patients with neurocysticercosis and its application in immunodiagnosis. J. Clin. Microbiol. 24, 536-541.
- ESPINOZA B, PLANCARTE A, FLISSER A and LARRALDE C. (1982). Immunodiagnosis of human Cysticercosis: ELISA and immunoelectrophoresis. En Cysticercosis: Present state of Knowledge and perspectives. Flisser A, Williams W; Laclette J; y Larralde C; Ridaura C. y Beltrán F (eds) Academic Press N.Y. pp 163-170.
- FLISSER A, WOODHOUSE E, and LARRALDE C (1980). Human cysticercosis: antigens, antibodies and non-responders. Clin. Exp. Immunol. 39, 27-37.
- FLISSER A, MADRAZO I, GONZALEZ D, SANDOVAL M, RODRIGUEZ CARBAJAL J. and DE DIOS J (1983). Comparative analysis of human and porcine neurocysticercosis by computed tomography. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 82, 739-742.
- FLISSER A (1989). Tratamiento de cisticercosis porcina con praziquantel. En: A. Flisser y F. Malagón (eds.) Cisticercosis humana y porcina. Su conocimiento e investigación en México. Limusa-Noriega, México, D.F. pp 227-230.
- FLISSER A, GONZALEZ D, SKUROVICH M, MADRAZO I, CORREA D, RODRIGUEZ-CARVAJAL E, COHEN S, RODRIGUEZ-DEL ROSAL E, COLLADO M, FERNANDEZ B, FERNANDEZ F, and ALUJA A (1990). Praziquantel treatment of porcine brain and muscle *Taenia solium* cysticercosis. I. Radiological, physiological and histopathological studies. Parasitol. Res. 76, 263-269.
- FUDENBERG HH, STITES PD, CALDWELL JL, y WELLS JW (1978). Inmunología clínica. El manual moderno. México, D.F. pp
- GOETZL EJ (1976). Modulation of human eosinophil polymorphonuclear leucocyte migration and function. Am. J. Pathol. 85, 419-436.
- GUERRA G, FLISSER A, CAÑEDO L, and LACLETTE JP (1982). Biochemical and immunological characterization of antigen B purified from cysticerci of *Taenia solium* En: A. Flisser, K. Williams, J.P. Laclette, C. Larralde, C. Ridaura, F. Beltrán (eds.) Cysticercosis: present state of knowledge and perspectives. Academic Press. New York. pp. 437-452.

EDITH MEDINA ESCUTIA

- HAM AW (1983). Tratado de histología. Ed. Interamericana, México, D.F. pp190
- HAMMERBERG B, DNAGLER C, and WILLIAMS JF (1980). *Taenia taeniiformis* chemical composition of parasite factors affecting coagulation and complement cascades. J. Parasit. 66, 569-574.
- HARNETT W, and KUSEL JR (1986). Increased exposure of parasite antigens at the surface of adult male *Schistosoma mansoni* in mice. Int. J. Parasitol. 76, 395-399.
- HSU S YL, HSU HF, ISACSON P, and CHEN HF (1977). *In vitro* schistosomucidal effect of immune serum and eosinophils, neutrophils and lymphocytes. J. Reticuloendoth. Soc. 21,153-162.
- JERROLD JE, and ADEL AF(1982). Phagocytes and worms: David and Goliath revisited. Reviews of infectious diseases 4, 698-714.
- JOSEPH M (1982). Effector function of phagocytic cells against helminths. Clin. Immunol. Allergy 2,567-590.
- JUNQUEIRA LC, y CARNEIRO J (1973). Histología Básica. Salvat editores, Barcelona, Espana, pp158.
- LACLETTE JP, MERCHANT MT, and WILLMS K (1987). Histological and ultrastructural localization of antigen B in the metacystode of *Taenia solium*. J. Parasit 73, 121-125.
- LARRALDE C, SCIUTTO E, GRUN J, DIAZ M L, GOVENZENSKY T, and MONTOYA RM (1988). Biological determinant of host-parasite relationship in mouse cysticercosis caused by *Taenia crassiceps* influence of sex, major histocompatibility complex and vaccination. En: Canedo, L.E., Todd, L., Packer, L. y Jas. J. (eds.). Cell Function and disease. Plenum Press, pp. 325-331.
- LARRALDE C, MONTOYA RM, SCIUTO E, DIAZ ML, GOVENZENSKY, T, and COLTORTI E (1989). Deciphering western blots of tapeworm antigens (*Taenia solium*, *Echinococcus granulosus* and *Taenia crassiceps*) reacting with sera from neurocysticercosis and hidatid disease patients. Am J. Trop. Med. and Hyg. 40, 284-292.
- MAHAJAN RC (1982). Geographical distribution of human cysticercosis. En: A. Flisser, K. Willms, J.P. Lacleste, C. Larralde, C. Ridaura, F. Beltrán (eds.). Cysticercosis present state of knowledge and perspectives. Academic Press, New York pp. 39-46.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

- MAHMOUND AAF, and STONE MK (1978). Eosinophilopoietin: a low molecular weight peptide stimulating eosinophil production in mice. Trans. Ass. Am. Phys. 91, 127-132.
- MARTINEZ-CAIRO CS, FRATI MA, y ESPINOZA AJ (1978). Biología del eosinófilo. Prensa Méd. Mexicana. 43, 3-10.
- MATHEW A VADAS, JOHN R DAVID, BUTTERWORTH A, T PISANI, and TIMOTHY AS (1979). A new method for the purification of human eosinophils and neutrophils, and a comparison of the ability of these cells to damage schistosomula of *Schistosoma mansoni*. The Journal of Immunology. 4, 1228-1236.
- MELHORN H, BECKER B, ANDREUS P, THOMAS H, and FRENCKEL K (1981). *In vivo* and *in vitro* experiments on the effects of Praziquantel on *Schistosoma mansoni*. Arzneim-Forsch. Drug Res. 31, 544-554.
- MITCHEL GF (1982). Genetic variation in resistance of mice to *Taenia taeniformis*: Analysis of host-protective immunity and immune evasion. En A. Flisser, K. Willms, J.P. Lacleste, C. Larralde, C. Ridaura F. Beltrán (eds). Cysticercosis present state of knowledge and perspectives, Academic Press, New York. pp. 575-584.
- O'BRIEN R, CARDENOSA G, SAMBUCETTI I, and FODOLA P (1979). Spectral characteristics of human leucocytes and their relevance to automated cell identification. Eosinophils, neutrophils and lymphocytes. Acta Cytol. 23, 231-236.
- OLIVO A, PLANCARTE A, and FLISSER A (1988). Presence of antigen B from *Taenia solium* cysticercus in other platyhelminthes. Int. J. Parasitol. 18, 543-545.
- OTTESEN EA, and COHEN SG (1978). The eosinophil, eosinophilia, and eosinophil-related disorders. Allergy 2, 584-632.
- PLANCARTE A, FLISSER A, and LARRALDE C (1983). Fibronectin-like properties in antigen B from the cysticercus of *Taenia solium*. Cytobios. 36, 83-93.
- PRESENTY B, and SZAPIRO L (1969). Hereditary deficiency in peroxidase and phospholipids in eosinophilic granulocytes. Acta Hematol. 41, 359-360.
- POOL DW (1985). The effect of Praziquantel on the pseudophyllidean cestode *Bothriocephalus adielognathi* *in vitro*. Z. Parasitenkd. 71, 603-608.
- RABIELA-CERVANTES MT, RIVAS-HERNANDEZ A, RODRIGUEZ IBARRA

EDITH MEDINA ESCUTIA

- J. CASTILLO-MEDINA S, and CANCINO FM (1982). Anatomopathological aspects of human brain cysticercosis. En: A. Flisser, K. Willms, J.P. Laclette, C. Larralde, C. Ridaura, F. Beltrán (eds.). Cysticercosis present state of knowledge and perspectives. Academic Press, New York, pp.179-200.
- RABIELA-CERVANTES MT (1989). Patología de la neurocisticercosis benigna y de la grave. En: A. Flisser y F. Malagón (eds.). Cisticercosis humana y porcina. Su conocimiento e investigación en México. Limusa-Noriega, México, D.F. pp 107-124.
- RABIELA-CERVANTES MT, and FLISSER A (1990). Morphological types of *Taenia solium* cysticerci. Parasitology Today 5, 357-359.
- RAMALHO-PINTO FJ, DIANE JM SMITHERS SR. (1978). Complement-Mediated killing of Schistosomula of *Schistosoma mansoni* by rat eosinophils *in vitro*. J. of Exp. Med. 147, 147-156.
- RAMIREZ-BON, MERCHANT MT, GONZALEZ-DEL PLIEGO M, and CAÑEDO L (1982). Neural and excretory structures of *Cisticercus cellulosae*. En: A. Flisser, K. Willms, J.P. Laclette, C. Larralde, C. Ridaura, F. Beltrán (eds.). Cysticercosis present state of knowledge and perspective. Academic Press, New York. pp. 261-280.
- RUITENBERG EJ, ELGERSMAN A, KRUIZINGA W, and LEENSTRA (1977). *Trichinella spiralis* infection in congenitally athimic (nude) mice: parasitological, serological, and haematological studies with observations on intestinal pathology. Immunology, 33, 581-587.
- SCHANTZ FM, SHANKS D, and WILSON M (1980). Serologic cross-reactions with sera from patients with ehinococcosis and cysticercosis. Am. J. Trop. Med. Hyg. 29, 609-612.
- SCHENONE H, VILLAROELO F, ROJAS A, and RAMIREZ R (1982). Epidemiology of human cysticercosis in Latin America. En: A. Flisser, K. Willms, J.P. Laclette, C. Larralde, C. Ridaura, F. Beltrán (eds.). Cysticercosis present state of knowledge and perspectives. Academic Press, New York. pp. 25-38.
- SCHMAHL G, and MELHORN H (1985). Treatment of fish parasites. 1. Praziquantel effective against Monogenea (*Dactylorhynchus vastator*, *Dactylorhynchus extensus*, *Diplozoön paradoxum*). Z. Parasitenkd. 71, 727-737.
- SHALM OW, JAIN NC, and CARROLL EJ (1975). Veterinary hematology Febiger, Philadelphia.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

- SHAW MK, and ERASMUS DA (1983). *Schistosoma mansoni* The effects of a subcurative dose of Praziquantel on the ultrastructure of worms *in vivo* Z. Parasitenkd. 69, 73-90.
- SHAW MK, and ERASMUS DA (1987). *Schistosoma mansoni* Structural damage and tegumental repair after *in vivo* treatment with Praziquantel. Parasitology. 94, 249-254
- BLAIS J(1982). Morphology of the scolex of *Cysticercus cellulosae* in brain. En: A. Flisser, K. Williams, J.P. Lacleste, C. Larralde, C. Ridaura, F. Beltrán(eds). Cysticercosis present state of knowledge and perspectives Academic. Press. New York. pp. 235-260.
- SPRY CJ F, and TAI PC (1977). Human eosinophil morphology and membrane receptors. Immunopathol. 2, 244-249.
- TANAKA JT, and TORISU MI (1979). *Ascaris* and eosinophil. II. Isolation and characterization of eosinophil chemotactic factor and neutrophil chemotactic factor of parasite in *Ascaris* antigen. J. Immunol. 122,302-308.
- THOMAS H, ANDREUS P. and MELHORN H (1982). New results on the effect of Praziquantel in experimental cysticercosis. Am. J. Trop. Med. Hyg. 31, 803-810.
- TIZARD RI(1983) Inmunología Veterinaria. Editorial Interamericana, México, D.F.
- TORTORA G.J, y ANAGNOSTAKOS NP (1975). Principios de Anatomía y Fisiología. Editorial HARLA México. D.F.
- VADAS MA, DAVID JR, BUTTERWORTH A, RISANI NT, and SIONGOK TA (1979). A new method for purification of human eosinophils and neutrophils and a comparison of the ability of these cells to damage schistosomula of *Schistosoma mansoni* J. Immunol. 122, 1228.
- WATSON JM (1960). Medical helminatology, Bailliere Tindal and Cox, London.
- WEISMAMA G (1980). The cell Biology of inflammation. Biomedical Press, Elsevier-North, Holland.
- WELLER PE, AUSTEN KF, and GOETZL EJ (1978). Lysolectinase activity in human eosinophils. Clin. Res. 26:387
- WELLER PE, and GOETZL EJ(1979). The regulatory and effector roles of eosinophils. Adv. Immunol. 27,339-371.
- WELLER PE, AUSTEN KF, and GOETZL EJ(1980). The human eosinophil. roles in host defense and tissue injury. Am. J. Pathol. 100,791-820.

EDITH MEDINA ESCUTIA

- WILLMS K. and ARCOS L (1977). *Taenia solium*: host serum proteins on the cysticercus surface identified by an ultrastructural immunoenzyme technique. Exp. Parasit. 43, 396-401.
- WILLMS K. and MERCHANT MT (1980). The inflammatory reaction surrounding *Taenia solium* larvae in pig muscle: ultrastructural and light microscopic observations. Parasite Immunol. 2, 261-268.
- ZENTENO-ALANIS OH (1982). A classification of human cysticercosis. En: A. Flisser, K. Willms, J.P. Lacroix, C. Larralde, C. Ridaura, F. Beltrán (eds.) Cysticercosis: present state of knowledge and perspectives. Academic Press. New York. pp. 107-126.
- ZUCKER-FRANKIN D (1978). The properties of eosinophils. En: Immediate hypersensitivity: modern concepts and developments. Edited por: Bach, M.K.(edit.) Marcel Dekker Inc. New York., 407-420.

XI. APENDICE

TRABAJOS NO PUBLICADOS

- DIAZ S (1983). Síntesis de anticuerpos en la reacción inflamatoria al cisticerco de *Taenia solium* en el músculo porcino (Tesis de Maestría). Facultad de Medicina. U.N.A.M. pp 45
- GARCIA DOMINGUEZ C (1989). Efecto del praziquantel sobre el cisticerco de *Taenia solium in vitro* (Tesis de Licenciatura) Facultad de Ciencias U.N.A.M. pp 54
- ZEPEDA LD (1985). La biología del eosinófilo. (Tesis de Licenciatura) Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. U.N.A.M. pp143.