



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

4
24

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA

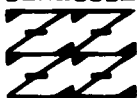
"CONTRIBUCION A LA FARMACOLOGIA DEL
LEVAMISOL EN EL PARASITO Ascaris suum"

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A :

SILVIA ARACELI / ALMOGABAR SANTAMARIA

C U R S O
F I S I C A
ZARAGOZA



LA UNAM EN
ZARAGOZA

MEXICO, D. F.

1997

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 esta 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.

SITIO EN DONDE SE DESARROLLO EL TEMA.

**SECCION DE TERAPEUTICA EXPERIMENTAL DEL DEPARTAMENTO DE
FARMACOLOGIA Y TOXICOLOGIA DEL CENTRO DE INVESTIGACION Y DE
ESTUDIOS AVANZADOS DEL INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL.**

**LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES, AREA DE QUIMICA DEL
DEPARTAMENTO DE PREPARATORIA AGRICOLA , UNIVERSIDAD
AUTONOMA CHAPINGO.**

JURADO ASIGNADO A ESTA TESIS PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

JURADO:

PRESIDENTE:	Q.F.B. VALENTIN ISLAS PEREZ.
VOCAL:	DR. ENRIQUE HONG CHONG.
SECRETARIO:	DR. ANDRES NAVARRETE CASTRO.
SUPLENTE:	Q.F.B. JOSE LUIS A. MORA GUEVARA
SUPLENTE:	M. EN C. AMADA LOPEZ GARCIA

SUSTENTANTE:

SILVIA ARACELI ALMOGABAR SANTAMARIA.

FES ZARAGOZA UNAM, MEXICO D.F., 1997.

DIRECTORES DEL TRABAJO:	DR. ENRIQUE HONG CHONG.
	DR. ANDRES NAVARRETE CASTRO.

AGRADECIMIENTOS.

SE AGRADECE AL Dr. ANDRES NAVARRETE CASTRO POR SUS VALIOSAS ENSEÑANZAS ASI COMO SU GRAN APOYO E IMPORTANTES CONSEJOS, PERO SOBRE TODO POR SU PACIENCIA EN LA REALIZACION DE ESTE PROYECTO.

SE AGRADECE AL Dr. ENRIQUE HONG CHONG POR SU AMISTAD Y POR LA OPORTUNIDAD DE INICIARME EN EL CAMPO DE LA INVESTIGACION.

SE AGRADECE AL M. EN C. BENITO REYES TREJO POR LA AYUDA BRINDADA PARA EL DESARROLLO DE ESTE TRABAJO.

POR LAS FACILIDADES BRINDADAS AL USAR SUS INSTALACIONES SE AGRADECE A LA UNIVERSIDAD AUTONOMA CHAPINGO, EN PARTICULAR AL AREA DE QUIMICA DEL LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES EN DONDE SE REALIZÓ ESTE TRABAJO.

POR LAS FACILIDADES BRINDADAS AL USAR LAS INSTALACIONES DE LA SECCION DE TERAPEUTICA EXPERIMENTAL DEL DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGIA Y TOXICOLOGIA DEL CENTRO DE INVESTIGACION Y DE ESTUDIOS AVANZADOS DEL INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL.

DEDICATORIAS.

ESTE TRABAJO ESTA DEDICADO A:

A DIOS:

POR PERMITIRME TERMINAR ESTE TRABAJO, QUE SIN SU AMPARO JAMAS
LO HUBIERA LOGRADO.

A MIS PADRES:

PEDRO Y ARACELI.

CON LA MAYOR GRATITUD POR LOS ESFUERZOS REALIZADOS PARA QUE
YO LOGRARA TERMINAR MI CARRERA PROFESIONAL, SIENDO PARA MI LA
MEJOR HERENCIA.

A MI PADRE, POR QUE DESDE PEQUEÑA HA SIDO PARA MI UN HOMBRE
GRANDE Y MARAVILLOSO, Y QUE SIEMPRE HE ADMIRADO. GRACIAS POR
GUIAR MI VIDA CON ENERGIA, ESTO ES LO QUE HA HECHO QUE SEA LO
QUE SOY.

A MI MADRE QUE ES EL SER MAS MARAVILLOSO DEL MUNDO, GRACIAS
POR EL APOYO MORAL, SU CARIÑO Y COMPRENSION QUE DESDE PEQUEÑA
ME HA BRINDADO, POR ESTAR SIEMPRE JUNTO A MI EN LOS MOMENTOS
MAS DIFICILES.

GRACIAS POR TODO LO QUE ME HAN DADO. CON AMOR, RESPETO Y
ADMIRACION.

A MI HERMANA:

ELIZABETH.

**COMO UNA MUESTRA DE CARÍÑO Y AGRADECIMIENTO, POR TODO EL
APOYO BRINDADO.**

A MI NOVIO:

GUILLERMO.

**POR SU APOYO, POR SU COMPRESION, PERO SOBRE TODO POR EL AMOR
QUE ME HA BRINDADO EN TODO MOMENTO, DEJANDO QUE REALICE
TODAS MIS METAS Y ASPIRACIONES.**

INDICE	PAGINA
RESUMEN	1
1. INTRODUCCION.	
1.1. Introducción general.....	2
2. FUNDAMENTO TEORICO.	
2.1. Los nematodos parásitos intestinales.....	3
2.2. Ascariasis.....	3
2.3. Generalidades de <i>Ascaris suum</i>	8
2.3.1. Taxonomía.....	9
2.3.2. Características anatómicas del <i>Ascaris suum</i>	10
2.3.3. Pared del cuerpo.....	13
2.4. MECANISMO DE ACCION DE LOS AGENTES ANTIHELMINTICOS.....	15
2.4.1. Fármacos que actúan sobre el metabolismo de la glucosa.....	16
2.4.2. Fármacos que alteran la coordinación neuromuscular.....	16
2.4.3. Fármacos que inhiben la función microtubular.....	17
2.5. FARMACOLOGIA DE LOS RECEPTORES EN EL <i>Ascaris suum</i>	18
2.5.1. Farmacología de los receptores al GABA.....	18
2.5.2. Farmacología de los receptores de la acetilcolina.....	20
2.6. GENERALIDADES DEL LEVAMISOL.....	25

2.6.1. Farmacocinética del levamisol.....	26
2.6.2. Efectos adversos y dosificación.....	27
2.7. FARMACOLOGIA DEL LEVAMISOL.....	27
3. JUSTIFICACION.....	30
4. OBJETIVOS.....	30
4.1. Objetivo general.....	30
4.2. Objetivos particulares.....	30
5. HIPOTESIS.....	31
6. MATERIALES Y METODOS.....	
6.1. Material biológico.....	32
6.2. Preparación de tiras musculares de <i>Ascaris suum</i>	34
6.3. Aplicación de los fármacos.....	34
6.4. Efecto contráctil del levamisol.....	36
6.5. Efecto contráctil de la acetilcolina.....	36
6.6. Efecto de los antagonistas colinérgicos sobre la respuesta contráctil al levamisol.....	36

6.7. Efecto de los antagonistas colinérgicos sobre la respuesta de la acetilcolina.....	37
6.8. Interacción de los agonistas colinérgicos sobre el levamisol.....	37
7. FARMACOS Y SUSTANCIAS DE PRUEBA.....	38
8. RESULTADOS.	
8.1. Determinación de la curva concentración-respuesta de levamisol y de la acetilcolina en tiras musculares de <i>Ascaris suum</i>	39
8.2. Efecto de los antagonistas colinérgicos sobre la respuesta contráctil provocada por levamisol en tiras musculares de <i>Ascaris suum</i>	42
8.3. Efecto de los antagonistas colinérgicos sobre la respuesta contráctil provocada por acetilcolina en tiras musculares de <i>Ascaris suum</i>	45
8.4. Interacción de los agonistas colinérgicos sobre el levamisol.....	47
8.5. Interacción del levamisol sobre los agonistas colinérgicos.....	48
9. DISCUSION DE RESULTADOS.....	50
10. CONCLUSIONES.....	53
11. BIBLIOGRAFIA.....	55

INDICE DE FIGURAS.

Figura 1. Porcentaje de enfermedades parasitarias en México.....	6
Figura 2. Número de ascariasis de 10 entidades federativas de la República Mexicana en la que la incidencia de esta parasitosis es mayor hasta la semana 37 de 1996 (DGE, 1996).....	7
Figura 3. Anatomía del <i>Ascaris suum</i> hembra.....	11
Figura 4. Esófago del <i>Ascaris suum</i>	12
Figura 5. Esquema de la célula muscular de <i>Ascaris suum</i>	14
Figura 6. Estructura del levamisol.....	25
Figura 7. Esquema de la preparación de una tira muscular del <i>Ascaris suum</i>	35
Figura 8. Curva concentración-respuesta para el efecto contráctil del levamisol en tiras musculares de <i>Ascaris suum</i>	40
Figura 9. Curva concentración-respuesta para el efecto contráctil de la acetilcolina en tiras musculares de <i>Ascaris suum</i>	41
Figura 10. Efecto del levamisol y acetilcolina en tiras musculares de <i>Ascaris suum</i> después del lavado y reposo de 10 minutos.....	42
Figura 11. Efecto antagonista de la mecamilamina, d-tubocurarina, atropina, hexametonio, DMNP y DMQP sobre las contracciones provocadas por levamisol 316 μ M en tiras musculares de <i>Ascaris suum</i>	44

Figura 12. Efecto antagonista de la mecamilamina, d-tubocurarina, atropina hexametonio, DMNP y DMQP sobre las contracciones provocadas por la acetilcolina (100 μ M) en tiras musculares de <i>Ascaris suum</i>	46
Figura 13. Efecto de los agonistas colinérgicos acetilcolina, carbacol, nicotina y DMPP sobre las tiras musculares de <i>Ascaris suum</i> precontraídas con levamisol 316 μ M.....	47
Figura 14. Efecto del levamisol 316 μ M en tiras musculares de <i>Ascaris suum</i> precontraídas con los agonistas colinérgicos acetilcolina, carbacol, nicotina y DMPP.....	49

INDICE DE TABLAS Y ESQUEMAS.

Tabla 1. Agonistas de los receptores GABAérgicos en el <i>Ascaris suum</i>	21
Tabla 2. Agonistas y antagonistas colinérgicos en el <i>Ascaris suum</i>	24
Tabla 3. Respuestas de las tiras musculares de <i>Ascaris suum</i> a los agonistas colinérgicos levamisol y acetilcolina.....	39
Tabla 4. Potencias relativas de los antagonistas colinérgicos para inhibir el efecto contráctil del levamisol 316 μ M en la preparación de tiras musculares de <i>Ascaris suum</i>	43
Tabla 5. Potencias relativas de los antagonistas colinérgicos para inhibir el efecto contráctil de la acetilcolina 100 μ M en tiras musculares de <i>Ascaris suum</i>	45
Tabla 6. Efecto del levamisol 316.22 μ M sobre tiras musculares de <i>Ascaris suum</i> precontractadas con los agonistas colinérgicos.....	48
Esquema 1. Diagrama de flujo de la metodología general para la evaluación farmacológica del levamisol.....	33

RESUMEN.

En este trabajo se evaluó la interacción del antihelmíntico levamisol, con varios agonistas colinérgicos. En cuanto al efecto de los antagonistas colinérgicos sobre la respuesta contráctil provocada por el levamisol, su potencia relativa fue: mecamilamina > DMNP > DMQP > atropina > d-tubocurarina > hexametonio y la potencia relativa sobre la respuesta contráctil provocada por la acetilcolina fue: mecamilamina > d-tubocurarina > DMNP > atropina > DMQP > hexametonio. El DMNP y el DMQP son más potentes para antagonizar las respuestas contráctiles del levamisol que para antagonizar las respuestas contráctiles de la acetilcolina en las tiras musculares de *Ascaris suum*.

El levamisol inhibió la respuesta de los agonistas colinérgicos, cuando estos se administraron en las tiras musculares del *Ascaris suum* precontraídas con levamisol y los agonistas colinérgicos inhibieron parcialmente la respuesta del levamisol, cuando este se adiciona en las tiras precontraídas con los diferentes agonistas colinérgicos.

1. INTRODUCCION.

1.1 . Introducción general.

En las células musculares del parásito *Ascaris suum* se ha descrito la presencia de receptores para GABA, acetilcolina, serotonina e histamina. Los receptores para el GABA presentes en el *Ascars*, presentan características distintas a los receptores GABA de los mamíferos, por lo que se ha clasificado como un tipo distinto de receptores denominados receptores GABA_n (Martin *et al.*, 1991). Por otro lado, se conoce la naturaleza nicotínica de los receptores de la acetilcolina presentes en el *Ascaris* y en un trabajo se describió al yoduro de 1,1-dimetil-4-(2-quinolil)-piperazinio (DMQP), como el primer antagonista selectivo de los receptores colinérgicos (receptores nicotínicos_n) de este parásito (Navarrete y Hong, 1995). Estudios sobre el mecanismo de acción del levamisol, indican que es un agonista selectivo de los receptores acetilcolina presentes en células musculares del *Ascaris suum* (Robertson y Martin, 1993), sin embargo aún se desconoce mucho de su mecanismo de acción. El presente trabajo pretende aumentar el conocimiento de la acción del levamisol sobre el receptor de la acetilcolina presente en el *Ascaris suum*.

2. FUNDAMENTO TEORICO.

2.1. Los nematodos parásitos intestinales.

Se estima que tres mil millones de seres humanos sufren de enfermedades parasitarias y es mucho mayor el número de animales domésticos y salvajes que sufren de parasitosis (Wang, 1992). En lo que se refiere a las infecciones por nemátodos intestinales, se estima que una de cada cinco personas de la población mundial esta infectada por estos parásitos (Martin, 1982). La mayoría de la población infectada corresponde a los habitantes de los países en vías de desarrollo, siendo más importante en aquellos países en los que el clima es templado y tropical y las condiciones sanitarias son deficientes, estos son factores que favorecen la infección (Markell *et al.*, 1990).

Actualmente se cuenta con fármacos efectivos para el tratamiento de la ascariasis, como el mebendazol, albendazol, tiabendazol, pirantel y piperazina. sin embargo la mayoría de los habitantes de los países pobres no tienen acceso a ellos por varias razones.

2.2. La ascariasis.

El *Ascaris lumbricoides* es el nemátodo causante de la ascariasis en los seres humanos. Los gusanos adultos viven en el intestino delgado, el número de gusanos en el intestino de un individuo puede variar entre uno y varios cientos.

La enfermedad es cosmopolita y se considera que afecta a una cuarta parte de la población mundial; principalmente a los niños. Las hembras maduras producen alrededor de 200 000 huevecillos al día, los cuales son eliminados con las heces. Los huevos fértiles sufren un período de maduración antes de hacerse infectantes. En el suelo húmedo a temperatura de 25 °C requieren de tres semanas para dar lugar a la fase infectiva. En condiciones desfavorables pueden permanecer inactivos pero viables durante años, mueren por efecto del calor y la desecación excesiva. Son capaces de sobrevivir varios meses en material fecal o en la basura (Bowman y Rand, 1984). Los huevos son ovals y miden de 50 a 75 μm de largo por 40 a 50 μm de ancho están provistos de una cáscara gruesa, la capa albuminoidea lleva proyecciones prominentes y son de color pardo amarillento (Soulsby, 1987).

La infestación suele ocurrir por ingestión de huevecillos infectantes que contaminan el agua o verduras sin cocer. Los huevecillos son tan pequeños como partículas de polvo que pueden inhalarse (Bowman y Rand, 1984). Al tragar los huevecillos completamente embrionados, estos eclosionan en el duodeno y realizan una migración por el cuerpo antes de retornar para establecerse en el intestino y alcanzar el estado adulto. En un principio la larva penetra en la pared del duodeno y se introducen en los vasos sanguíneos o linfáticos para llegar al hígado, al corazón y de ahí a la circulación pulmonar. Alcanzan los capilares del pulmón y los atraviesan para penetrar en los alvéolos, ahí crecen y realizan una muda y después de aproximadamente 20 días migran a través de los conductos respiratorios hasta alcanzar el esófago y

una vez más el intestino delgado. Dos o tres meses después de la ingestión de los huevos, los vermes maduros comienzan la puesta de huevos en el intestino (Markell, Voge y Jonh, 1990).

Las helmintiasis, constituyen una de las principales parasitosis en México, se encuentran presentes en todas las entidades federativas, predominando en algunos estados del sureste y en la península de Yucatán. La Ascariasis a diferencia de otras parasitosis, presentan un incremento en la incidencia a partir de 1985, y posteriormente se presenta un decremento (Cuevas *et al.*, 1994).

Durante el año de 1996, la Dirección General de Epidemiología (DGE) de la Secretaría de Salud, registró 584258 casos de helmintiasis en México (DGE, 1996) en ese informe, la ascariasis ocupó el primer lugar con 253870 casos (43.45 %), seguida por la oxiuriasis con 73122 casos (12.51 %), la teniasis con 2481 casos (0.42 %) y el conjunto de las otras helmintiasis registraron 224137 casos (38.36 %) (Figura 1).

Datos epidemiológicos hasta la semana 37 de 1996 indican que la Ascariasis en México tiene mayor incidencia en los estados de Guerrero y Tabasco, presentándose en Guerrero 33217 casos y en Tabasco 31207 casos (DGE, 1996). En la figura 2 se presenta el número de casos de Ascariasis para las 10 primeras entidades federativas con mayor incidencia en la República Mexicana.

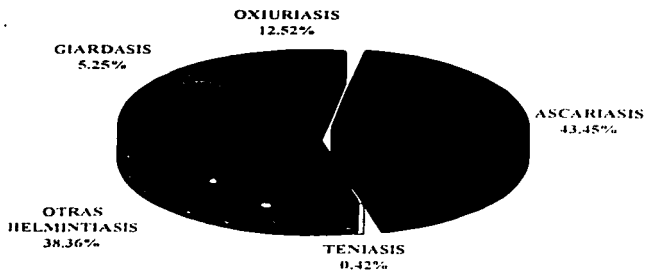


Figura 1. Porcentaje de enfermedades parasitarias en México.

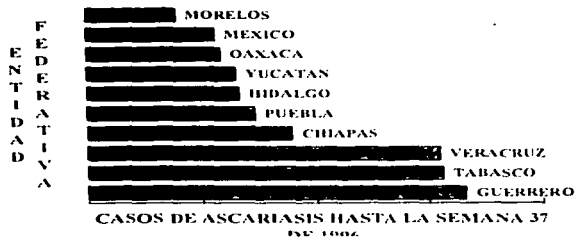


Figura 2. Número de casos de ascariasis de 10 entidades federativas de la República Mexicana en la que la incidencia de esta parasitosis es mayor hasta la semana 37 de 1996 (DGE, 1996).

Cuando los sujetos están infectados con unos cuantos gusanos adultos en su intestino, la infección puede pasar inadvertida. Sin embargo la infestación más intensa, causa dolor abdominal, pérdida del apetito, náuseas, diarrea o estreñimiento (Bowman y Rand, 1984).

2.3. Generalidades del *Ascaris suum*.

Los nemátodos de vida libre *Caenorhabditis elegans* y el parásito intestinal del cerdo *Ascaris suum* son los organismos más utilizados para el estudio *in vitro* de los mecanismos de acción y el cernimiento de agentes antihelmínticos (Jenkins, 1982; Ash y Tucker, 1966).

El *Ascaris suum* presenta algunas características favorables para utilizarlo como modelo de experimentación en el estudio del mecanismo de acción de agentes antihelmínticos. Debido a su abundancia, persiste en el intestino del cerdo y se le puede obtener relativamente fácil en rastros locales. Se mantiene vivo por algunos días en solución Tyrode a 37 ° C (Goodwin, 1958; Aubry *et al.*, 1970). Las características anatómicas y fisiológicas de este parásito, permiten hacer estudios fisiológicos, bioquímicos y farmacológicos con cierta facilidad.

El *Ascaris suum* es la especie que parasita al cerdo, durante años esta especie fue considerada sinónimo del parásito de los seres humanos *Ascaris lumbricoides*; sin embargo, hoy existen evidencias de que se trata de diferentes especies, así mismo se han descrito diferencias morfológicas en la

denticulación de los labios de las dos formas parásitarias, existen diferencias en los truncamientos axiales de los labios (Soulsby, 1987).

Los estudios epidemiológicos efectuados en áreas donde son comunes las infestaciones humanas y porcinas no se ha podido demostrar la existencia de infestaciones cruzadas; sin embargo, los cromosomas son idénticos, la gametogénesis es similar y en condiciones apropiadas, pueden inducirse con la forma humana infestaciones patentes en el cerdo (Soulsby, 1987). Un estudio reciente con técnicas de biología molecular sugiere que el *Ascaris* se transmite del cerdo hacia el hombre (Anderson, 1995).

2.3.1. Taxonomía.

La clasificación taxonómica del parásito intestinal *Ascaris suum* es la siguiente: (Brusca y Brusca, 1990; Dunn, 1983).

Filo: Nemátoda o Asquelmintos.

Clase: Secernentea o Plásmida.

Subclase: Rhabditia.

Orden: Ascaririda.

Superfamilia: Ascaroidea.

Familia: Ascarididae.

Género: *Ascaris*.

Especie: *suum*.

2.3.2. Características anatómicas del *Ascaris suum*.

El mayor número de los helmintos parásitos pertenecen al grupo de los nemátodos. Los nemátodos pertenecientes al filo *Asquelmintos*, no son segmentados, presentan generalmente forma cilíndrica aplanándose hacia los extremos y están envueltos en una fuerte cubierta protectora o cutícula. Poseen un aparato digestivo completo con orificio oral y anal. Los *Ascars suum* son gusanos largos y gruesos de color rosado encontrándose en el intestino del cerdo y muy raramente en el hombre. Los sexos están separados; los machos pueden medir de 15 a 25 cm, mientras que las hembras hasta 40 cm de largo

Los machos pueden distinguirse de las hembras por su tamaño mas pequeño y por su cola ligeramente enrroscada (Dunn, 1983) Las hembras pueden aparecer más oscuras cuando se encuentran repletas de huevos de color oscuro (Figura 3). En la parte anterior ambos sexos son más delgados pudiéndose observar un orificio bucal con tres labios, dos subventrales y uno dorsal. Cada labio lleva en su superficie interna una corona de diminutos denticulos (Soulsby, 1987). El tubo digestivo consta de una cavidad bucal y faringe estomoideales, un intestino medio o intestino propiamente dicho, terminando en recto o cloaca de origen proctodeal (Markell, Voge y John, 1990). La cavidad bucal está conectada al esófago llamada también faringe. La faringe es alargada y consta de tres partes: el cuerpo, el istmo y el bulbo terminal (Figura 4) (Brusca y Brusca, 1990) Los nemátodos carecen de aparato respiratorio y circulatorio.

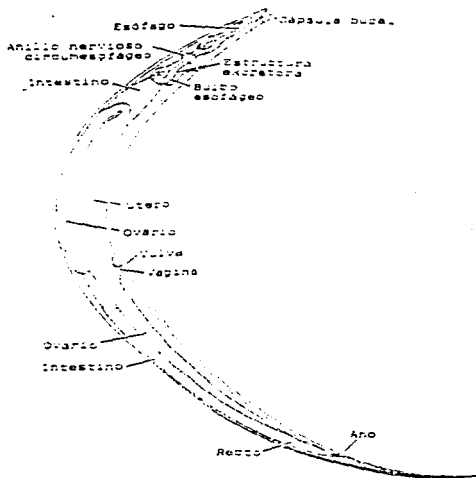


Figura 3. Anatomía del *Ascaris suum* hembra, se observa el tubo digestivo y el sistema reproductivo (Brusca y Brusca, 1990).

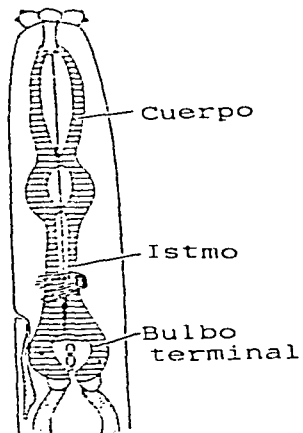


Figura 4. Esófago del *Ascaris suum*, compuesto de tres partes: el cuerpo, el istmo y el bulbo terminal (Brusca y Brusca, 1990).

2.3.3. Pared del cuerpo.

La pared del cuerpo está constituida por tres estratos: 1) cutícula, 2) hipodérmis y 3) capa muscular

1) La cutícula es una capa no celular, dividida a su vez en cuatro estratos (epicutícula, exocutícula, mesocutícula y endocutícula); el primero está compuesto por una proteína similar a la queratina y los tres restantes por colágena.

2) La hipodérmis está constituida por un sincitio cuyos núcleos se disponen en cuatro cordones longitudinales; dos laterales, uno ventral y otro dorsal, que recorren todo el cuerpo del animal. El cordón dorsal y el ventral contienen los cordones nerviosos longitudinales y los dos cordones laterales contienen los canales excretorios. La función principal de la hipodérmis es la de sintetizar las proteínas que constituyen a la cutícula.

3) La capa muscular está formada exclusivamente por fibras longitudinales (Lamothe y García, 1988; DeBell *et al.*, 1963; Brusca y Brusca, 1990). Las células musculares de *Ascaris* (Figura 5), están compuestas por tres partes:

a) El huso (spindle),

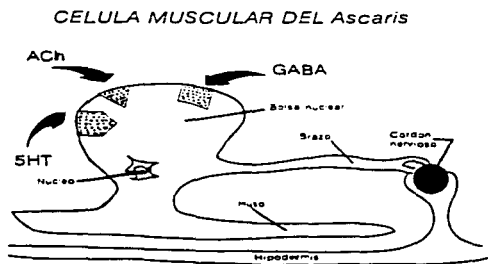


Figura 5. Esquema de la célula muscular del *Ascaris suum*.

- b) La bolsa nuclear.
- c) El brazo.

El huso es una parte fibrilar alargada y es la región contráctil, se encuentra dentro de la hipodérmis y se dispone longitudinalmente. La bolsa nuclear es una estructura en forma de balón con un diámetro de aproximadamente 200 μm en la cual se encuentran las mitocondrias, el núcleo y partículas de glucógeno (Rosebluth, 1965). El brazo es un apéndice delgado que sale transversalmente de la bolsa nuclear a uno de los cordones nerviosos que se encuentran longitudinalmente en el gusano.

Se ha demostrado la existencia de receptores extrasinápticos al GABA y a la acetilcolina localizados en la superficie de la bolsa de la célula muscular (Martin, 1980 y 1982). La acetilcolina despolariza estas células en tanto que la piperazina y el GABA la hiperpolarizan (Martin, 1980; Del Castillo *et al.*, 1964).

2.4. Mecanismo de acción de los agentes antihelmínticos.

Se denominan antihelmínticos a los medicamentos que se emplean para liberar al organismo de gusanos parásitos que reciben el nombre de helmintos.

En forma general los agentes utilizados contra los nematodos actúan por tres formas (Rew y Fetterer, 1986): 1) alterando el metabolismo de la glucosa;

2) alterando la coordinación neuromuscular y 3) inhibiendo la función microtubular (Navarrete, 1996).

2.4.1. Fármacos que actúan sobre el metabolismo de la glucosa.

Los fármacos antihelmínticos que actúan sobre el metabolismo de la glucosa de los nemátodos parásitos, pueden actuar alterando el transporte, el catabolismo o bien pueden inhibir la síntesis de glucógeno. Los fármacos que pertenecen a este grupo son: Isotiocianatos (bitoscanato), bencimidazoles (tiabendazol, mebendazol), colorantes cianinas (pirvinio, ditiazanina), compuestos de antimonio (estibofén, tioglicolato de antimónio sódico, estibocaptato, estibogluconato, tartrato de antimonio potásico), fenoles sustituidos (disofenol) y salicilanilidas (rafoxanida, closantel).

2.4.2. Fármacos que alteran la coordinación neuromuscular.

Para los nematodos parásitos la coordinación neuromuscular de sus movimientos es fundamental para mantenerse en el sitio adecuado dentro del sujeto que parasitan, para copular, desovar y alimentarse. La mayoría de los agentes antihelmínticos afectan al sistema neuromuscular de los parásitos y se ha puesto especial interés en los neurotransmisores acetilcolina y GABA (Martin *et al.*, 1991). Algunos agentes antihelmínticos actúan como agonistas colinérgicos, entre los que se encuentran: los imidazotiazoles (levamisol, butamisol), las sales de amonio cuaternarias (befenio, closilato de tenio) y las

tetrahidropirimidinas (pirantel, oxantel, morantel). La inhibición de la enzima acetilcolinesterasa, constituye otra estrategia para alterar la función neuromuscular de los nematodos. Entre los inhibidores de la colinesterasa se encuentran los compuestos organofosforados como: coumafos, triclorfón, haloxón, naftalafos y diclorvos. En realidad estos compuestos se utilizan en la agricultura para combatir insectos y nematodos, y su uso en medicina humana y veterinaria está limitado por su alta toxicidad.

El antihelmíntico piperazina, actúa como agonista selectivo de baja potencia de los receptores del GABA presentes en el *Ascaris*, sobre el cual provoca una parálisis flácida (Del Castillo *et al.*, 1964a; 1964b; Martín *et al.*, 1991).

2.4.3. Fármacos que inhiben la función microtubular.

Los bencimidazoles, como el mebendazol y el flubendazol, tienen la capacidad de unirse con gran afinidad a la tubulina de las fracciones citosólicas de embriones de *Ascaris suum* de 8 días de edad (Friedman y Platzer, 1980). El fenbendazol, parbendazol y mebendazol, presentan el mismo nivel de potencia para inhibir el ensamblaje de tubulina tanto en mamíferos como en nematodos. En tanto que, el tiabendazol y el oxbendazol son mucho más activos para inhibir el ensamblaje de tubulina en nematodos y son prácticamente inactivos en los mamíferos. Los microtubulos desarrollan una serie de actividades en las células, están presentes en la mitosis durante la formación del huso y del citoesqueleto, en donde participan en la secreción, la configuración celular y el

transporte intracelular (Gull *et al.*, 1987). Los bencimidazoles provocan la desaparición selectiva de los microtúbulos citoplasmáticos de las células tegumentarias e intestinales de los parásitos afectados y provocan la acumulación de las secreciones de las vesículas dentro de las células. Los bencimidazoles también alteran la secreción de la acetilcolinesterasa, el consumo de glucosa y agotan las reservas de glucógeno (Webster, 1991). La efectividad de los bencimidazoles radica en la mayor sensibilidad de la tubulina de los helmintos en relación a la de los mamíferos.

2.5. Farmacología de los receptores en el *Ascaris suum*.

2.5.1. Farmacología de los receptores al ácido γ -aminobutírico.

La existencia de los receptores al ácido γ -aminobutírico (GABA) en el *Ascaris*, fue demostrada por Del Castillo *et al.* (1964b, 1964c), al describir el efecto hiperpolarizante de la piperazina y del GABA en las células musculares de dicho parásito. Los receptores al GABA se encuentran en la unión neuromuscular en el sincitio y en la superficie de las diferentes partes de la célula muscular (Martin, 1980).

Los receptores al GABA del *Ascaris* presentan algunas características similares a los receptores GABA_A de los vertebrados:

1. La estereoselectividad de los receptores al GABA en el *Ascaris* es idéntica a la de los receptores GABA_A de los vertebrados, la cual fue determinada por la potencia relativa de los pares de enantiómeros del dihidromuscimol, 3-OH-GABA y del ácido 4-metil-trans-aminocrotónico.
 2. Los agonistas de los receptores GABA_A de los vertebrados son menos potentes en el *Ascaris*.
 3. Las respuestas en el receptor GABA de los *Ascaris* es mediada por un incremento en la conductancia a los iones de cloro.
 4. Existe una correlación de la potencia relativa de los agonistas de los receptores GABA en el *Ascaris* y la potencia relativa de los agonistas de los receptores GABA_A en los vertebrados.
 5. El antihelmíntico piperazina actúa como agonista selectivo de los receptores GABA en el *Ascaris*.
- Hay aún más diferencias farmacológicas entre el receptor GABA en el *Ascaris* y el receptor GABA_A de los vertebrados:
- a) Las respuestas GABAérgicas en el *Ascaris* no son potenciadas por pentobarbitona ni por flurazepan, como ocurre en los vertebrados.

b) Los antagonistas de los agentes GABAérgicos que actúan sobre los receptores GABA_a: bicuculina, picrotoxina, securinina, pirazepina y dieldrin son débiles o inactivos en el *Ascaris*.

La insensibilidad a estos fármacos presenta diferencias en la farmacología del receptor GABA del *Ascaris* en relación con el receptor GABA_a de los vertebrados. Esto ha llevado a proponer que hay un tipo distinto de receptores en nemátodos, el cual se denomina receptor GABA_n (n=no antagonizado por picrotoxina, n=nematodos) (Martin, 1991). En tabla 1 se presentan algunos de los agonistas GABAérgicos con actividad en el *Ascaris*.

2.5.2. Farmacología de los receptores de la acetilcolina.

La presencia de receptores a la acetilcolina en el *Ascaris suum* fueron encontrados inicialmente por Baldwin y Moyle (1949) y más tarde por Norton y De Beer (1957). Estos receptores fueron localizados sinápticamente en la región sincitial (Del Castillo *et al.*, 1963; Martin, 1982) y extrasinápticamente en la región de la bolsa del músculo de *Ascaris* (Martin, 1982). La acetilcolina despolariza y cambia la frecuencia y la amplitud de las espigas en las células musculares (Del Castillo *et al.*, 1963) e incrementa la conductancia no selectiva de cationes en la membrana con un potencial inverso cercano a 0 mV (Martin, 1982; Harrow y Gratton, 1985). Por estudios en células individuales se ha demostrado la presencia de la colinacetiltransferasa en las motoneuronas excitatorias presinápticas del músculo (Johnson y Stretton, 1977). La nicotina a

Tabla 1. Agonistas de los receptores GABA en el *Ascaris suum* ordenados de mayor a menor actividad de acuerdo a sus potencias relativas (Martin *et al.*, 1991).

AGONISTAS

S-(+)-dihidromuscimol

± dihidromuscimol

Acido (Z)-3-(aminoiminometil)tio-2-propenoico (ZAPA)

Acido γ -aminobutírico (GABA)

R-(-)-dihidromuscimol

Acido *trans*-aminocrotónico (TACA)

R-(-)-3-OH-GABA

Acido imidazol-4-acético (IAA)

Muscimol

Isoguvacina

S-(+)-3-OH-GABA

Acido guanido acético (GuAA)

Acido delta-aminovalérico (DAVA)

Acido *cis*-aminocrotónico (CACA)

Acido beta-guanidopropiónico (BGuPA)

4,5,6,7-tetrahidroisoxazol-[5.4c]-piridin-3-ol (THIP)

concentraciones bajas produce contracciones al igual que la acetilcolina (Onauguluchi, 1989). Los agonistas nicotínicos provocan buenas respuestas sobre los receptores a la acetilcolina del *Ascaris*, mientras que los agonistas muscarínicos son débiles o inactivos (Baldwin y Moyle, 1949; Natoff, 1969; Rozhkova *et al.*, 1980; Colquoun *et al.*, 1991).

La potencia relativa de los agonistas nicotínicos y muscarínicos en este nemátodo, tienen el orden de potencia siguiente: metahidroxifenilpropiltrimetilamonio (HPPT) > yoduro de 1,1-dimetil-4-fenilpiperazinio (DMPP) > Acetilcolina > nicotina > carbacol > tetrametilamonio (TMA⁺) > muscarina > furtretonio > arecolina > decametonio, que fue un antagonista débil también (Colquoun *et al.*, 1991; Natoff, 1969; Harrow y Gratton, 1985). El morantel, pirantel y levamisol actúan como agonistas colinérgicos potentes.

La mecamilamina y benzoquinonio son los antagonistas más potentes para antagonizar la respuesta de la acetilcolina en el *Ascaris* y son más potentes que la tubocurarina. El orden de potencia de otros antagonistas es: tetrafenilfosfonio > quinacrina > tubocurarina > pancuronio, curare > trimetofan > atropina > clorisondamina, decametonio > hexametonio > dihidro- β -eritroidina. El antagonista ganglionar potente en los vertebrados hexametonio tiene una potencia baja como antagonista en el *Ascaris* (Natoff, 1969; Martin, 1991) y el antagonista selectivo de los receptores muscarínicos, la atropina es una antagonista muy débil para antagonizar la respuesta de la acetilcolina en este nemátodo (Coulquoun *et al.*, 1991; Natoff, 1969). Las contracciones inducidas

por acetilcolina se bloquean por d-tubocurarina, pero no por atropina, así el receptor a la acetilcolina en el *Ascaris* tuvo algunas de las propiedades farmacológicas del receptor nicotínico de los vertebrados (Martin *et al.*, 1991).

Considerando el perfil de actividad los agonistas colinérgicos en el *Ascaris* se propuso que este receptor de la acetilcolina en este nematodo es de naturaleza nicotínica. Sin embargo, este receptor no se había podido clasificar de acuerdo a la nomenclatura de los vertebrados como ganglionar o como neuromuscular, debido a que se bloquea tanto por los antagonistas nicotínicos musculares, tubocurarina y benzoquinonio, como por el antagonista nicotínico ganglionar mecamilamina, pero no por el hexametonio (Martin *et al.*, 1991). Sin embargo recientemente se ha propuesto que se trata de un subtipo de receptor nicotínico denominado receptor nicotínico n (Navarrete y Hong, 1995).

El levamisol es un agonista en los receptores a la acetilcolina del *Ascaris*, en tanto que en los receptores nicotínicos de los vertebrados, tienen sólo una acción nicotínica débil. La acción selectiva del levamisol permite que este sea usado como antihelmíntico efectivo, afectando al nemátodo parásito pero no al hospedero (Harrow y Gratton, 1985). En la tabla 2 se presenta la lista de los agonistas y antagonistas colinérgicos más importantes, que tienen efecto en los receptores colinérgicos del *Ascaris*.

Tabla 2. Agonistas y Antagonistas colinérgicos en el *Ascaris suum* ordenados de mayor a menor de acuerdo a su potencia relativa (Colquhoun *et al.*, 1991; Martín *et al.*, 1991; Navarrete y Hong, 1995).

AGONISTAS	ANTAGONISTAS
Morantel	Benzoquinonio
Pirantel	Mecamilamina
DMPP ^a	Clorisondamina
Levamisol	Tetrahidrofenilfosfónio
Acetilcolina	Quinacrina
Propionilcolina	Tubocurarina
Succinilcolina	DMQP ^b
Nicotina	Pancuronio
Carbacol	Trimetofan
Trimetilamonio	Atropina
Muscarina	Decametonio
Furtoetonio	Hexametonio
Arecolina	Dihidro- β -eritroidina
Suberildicolina	
Decametonio	

^a DMPP = Ioduro de 1,1-dimetil-4-fenilpiperazinio.

^b DMQP = Ioduro de 1,1-dimetil-4-(3-quinolil)-piperazinio.

2.6. Generalidades del levamisol.

El tetramisol es una mezcla racémica de clorhidrato de 2,3,5,6-tetrahidro-6-fenil-imidazo (2,1-b) tiazol y es un antihelmintico potente de amplio espectro, (Thienpont, *et al.*, 1966), el isómero levo, conocido como levamisol (Figura 6), tiene mayor actividad que el tetramisol, el isómero levo es un inhibidor más potente del sistema fumarato-succinato que el isómero dextro (Van den Bossche y Janssen, 1969). El tetramisol es activo contra varios nemátodos, pero en el hombre se usa principalmente en el tratamiento de infestaciones por *Ascaris* (Payan y Shearn, 1991).

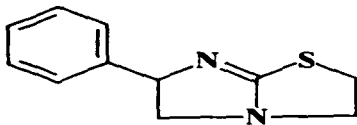


Fig. 6. Estructura de levamisol.

El levamisol altera la respuesta inmune. Al parecer, la estimula, aunque en estudios experimentales puede comportarse como inmunosupresor y como inmunoestimulante, según el momento en que se administre en relación con la

agresión antigénica. El efecto potenciador se observa en particular en la inmunidad mediada por células; tiene poca acción en la producción de anticuerpos. Al parecer, el levamisol sólo estimula la inmunidad celular cuando está deprimida (Payan y Shearn, 1991).

El levamisol acelera la quimiotaxis y la fagocitosis de macrófagos y de leucocitos polimorfonucleares y al parecer intensifica la función de los linfocitos T, particularmente en situaciones donde hay alteración de la hipersensibilidad retardada (Goldsmith, 1991). Por otro lado, el levamisol inhibe a la fumarato reductasa a nivel del músculo de *Ascaris* además de causar una inhibición estereoespecífica de las fosfatasa alcalinas humanas, excepto las que se encuentran a nivel del intestino y de la placenta. (Rollo, 1984).

2.6.1. Farmacocinética del levamisol.

El levamisol se absorbe con rapidez y en alta proporción. En el hombre, la dosis oral única, de 150 mg, produce cifras plasmáticas máximas de 0.5 µg/ml, en 2 a 4 horas. El levamisol se distribuye en muchos tejidos y alcanza concentraciones elevadas en el hígado, donde se metaboliza en forma extensa. Las cifras sanguíneas decrecen con rapidez; la vida media plasmática es de 4 horas y la eliminación es casi completa en 48 horas. Menos de 5 % de dosis administrada, se excreta sin cambio en la orina (Goldsmith).

2.6.2. Efectos adversos y dosificación.

La dosis única para adultos es de 150 mg y para niños de 3 mg/Kg. Cuando el levamisol se usa en dosis únicas para el tratamiento por *Ascaris*, los efectos secundarios son leves y pasajeros. Se incluyen: náuseas, vómitos, cólico abdominal leve, cefalea, mareos, debilidad y erupciones cutáneas (Goldsmith).

2.7. Farmacología de levamisol.

El levamisol, es un antihelmíntico potente cuyo modo de acción farmacológico todavía tiene que ser rigurosamente estudiado. El levamisol causa una contracción rápida de los músculos del nematodo seguida de una parálisis espástica y a dosis altas los gusanos mueren (Thienpont *et al*, 1966).

Estudios del modo de acción de levamisol indican que es un agonista selectivo de los receptores acetilcolina presentes en células musculares de *Ascaris suum*, causando un incremento en la conductancia y despolarización de las células musculares de este parásito (Harrow y Gratton, 1985).

Se han descrito varios efectos para el levamisol, incluyendo la inhibición de la succinato deshidrogenasa de nematodos (Van Den Bossche y Janssen, 1969), inhibición de la fosfatasa alcalina en mamíferos (Van Belle, 1972), y la restauración de la respuesta inmune citotóxica en los mamíferos (Janssen, 1976). Estos efectos ocurren a dosis mucho más altas, que aquellas a las que

contraen el músculo del nemátodo. También se ha demostrado que el levamisol inhibe al AMP cíclico en la regulación del metabolismo del glucógeno (Donahue *et al.*, 1983).

El levamisol despolariza el músculo del *Ascaris* (Aceves *et al.*, 1970), esta acción en nemátodos puede ser bloqueada por mecamilamina y pempidina, los cuales son agentes bloqueadores colinérgicos ganglionares de vertebrados (Coles *et al.*, 1974), pero no es bloqueada por d-tubocurarina ni por atropina (Aceves *et al.*, 1970; Coles *et al.*, 1974). Varios laboratorios han notado el modo de acción bifásico del levamisol: un efecto agonista inicial fuerte seguido por una relajación parcial o por una recuperación (Eyre, 1970; Coles *et al.*, 1974). La segunda fase es acompañada por una reducción de la respuesta al levamisol y a la acetilcolina (Aceves *et al.*, 1970).

En vertebrados el levamisol actúa como un agonista ganglionar (Eyre, 1970) y a concentraciones altas provoca un efecto bloqueador despolarizante en músculo esquelético (Eyre, 1970). Los antihelmínticos pirantel, befenium, metiridina y dietilcarbamicina, presentan el mismo mecanismo de acción que el levamisol (Eyre, 1970; Coles *et al.*, 1974).

La d-tubocurarina y el decametonio tienen un efecto muy débil en nemátodos. La baja actividad de la d-tubocurarina y atropina contra la acción antihelmíntica del levamisol han llevado a la realización de investigaciones en las que se propone que el levamisol actúa por medio de un mecanismo no colinérgico

(Aceves *et al.*, 1970; Coles *et al.*, 1974). Estudios posteriores demostraron que el efecto de levamisol en nematodos es atribuible a un mecanismo colinérgico (Lewis *et al.*, 1980).

Harrow y Gratton en 1985 concluyen que el antihelmintico levamisol activa el mismo canal catiónico de la acetilcolina porque activan corrientes con potenciales inversos similares.

Robertson y Martin en 1993 demostraron que el levamisol abre los canales catiónicos selectivos de las vesículas musculares de *Ascaris suum*, pero en adición produce un bloqueo de los canales abiertos y una desensibilización, concluyendo que el levamisol actúa sobre el receptor de la acetilcolina en el músculo de *Ascaris suum*, tanto abriendo y bloqueando los canales catiónicos (Robertson y Martin, 1993).

El nemátodo de vida libre *Caenorhabditis elegans*, presenta un sitio de unión de afinidad alta para un grupo de compuestos relacionados estructuralmente con el levamisol, siendo el metaminolevamisol tritiado ($[^3\text{H}]$ MAL) el derivado de mayor potencia de este grupo de compuestos. Los agonistas colinérgicos, DMPP, carbacol y nicotina, inhibieron la unión del $[^3\text{H}]$ MAL, en el mismo orden de potencia al que presentan para provocar contracciones en el tejido muscular del *Caenorhabditis elegans*. Los antagonistas mecamilamina, d-tubocurarina, atropina y hexametonio no inhibieron la unión del $[^3\text{H}]$ MAL en el *Caenorhabditis elegans* (Lewis *et al.*, 1986).

3. JUSTIFICACION.

La farmacología del levamisol en el *Ascaris* aún no es comprendida en su totalidad, por lo que el presente trabajo pretende contribuir al conocimiento de la farmacología del levamisol mediante el estudio de las interacciones con agonistas y antagonistas colinérgicos en el *Ascaris*. Conociendo mejor el comportamiento del levamisol es posible obtener información sobre el desarrollo de nuevos agentes antihelmínticos.

4. OBJETIVOS.

4.1. Objetivo general.

El objetivo general en este trabajo es:

Estudiar el comportamiento farmacológico de la interacción de levamisol con diferentes agonistas y antagonistas colinérgicos en tiras musculares del *Ascaris suum*.

4.2. Objetivos particulares.

Los objetivos particulares en este trabajo son:

4.2.1. Determinar la curva dosis-respuesta de levamisol en tiras musculares de *Ascaris suum*.

4.2.2. Determinar la curva dosis-respuesta de la acetilcolina en tiras musculares de *Ascaris suum*.

4.2.3. Evaluar el efecto de los antagonistas colinérgicos: mecamilamina, d-tubocurarina, atropina, hexametonio, DMQP y DMNP^a sobre la respuesta contráctil de levamisol.

4.2.4. Evaluar el efecto de los antagonistas colinérgicos: mecamilamina, d-tubocurarina, atropina, hexametonio, DMQP y DMNP sobre la respuesta contráctil de la acetilcolina.

4.2.5. Estudiar la interacción de levamisol con los agonistas colinérgicos: acetilcolina, carbacol, DMPP y nicotina.

5. HIPOTESIS.

El presente trabajo se desarrollará bajo las siguientes hipótesis:

1. La contracción de las tiras musculares del *Ascaris* provocadas por el levamisol serán inhibidos por los antagonistas colinérgicos en el mismo orden de actividad a como antagonizan las respuestas de la acetilcolina.

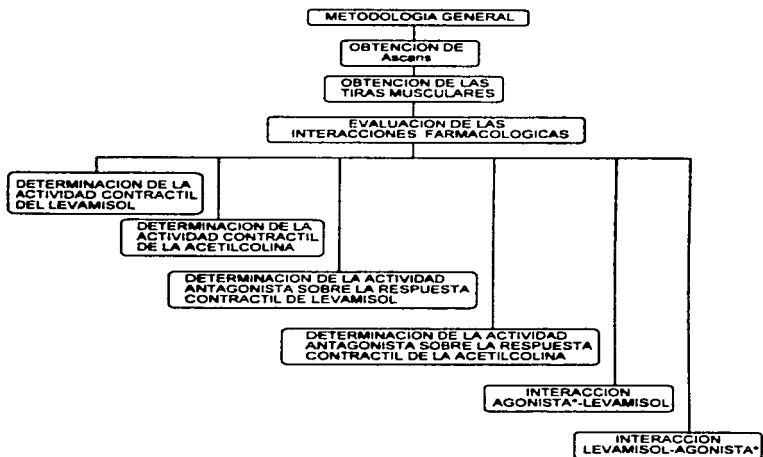
2. El levamisol al ocupar el receptor colinérgico inhibirá la respuesta de los agonistas colinérgicos cuando estos se administran después de levamisol y de la misma manera los agonistas colinérgicos inhibirán la respuesta de levamisol cuando se administren antes que este.

6. MATERIALES Y METODOS.

El método que sirvió para el desarrollo de este trabajo, fue descrito por Navarrete y Hong (1995). El diagrama de flujo de la metodología general seguida en este trabajo se resume en el esquema 1.

6.1. Material biológico.

Especímenes de *Ascaris suum* se obtuvieron del Rastro de Especies Mayores "La Aurora" de Ciudad Nezahualcóyotl, en el Estado de México. Los parásitos se colocaron y se transportaron al laboratorio en solución Tyrode a 37 °C (Onauguluchi, 1989) conteniendo (mM): cloruro de sodio 136.8; cloruro de potasio 2.68; cloruro de magnesio 0.5; cloruro de calcio 1.36; carbonato de sodio 1.78; fosfato de sodio 1.86; glucosa 27.75. Los *Ascaris* fueron utilizados para los experimentos en un período no mayor de 5 días. Se utilizaron los gusanos hembras de peso entre 4 y 6 gramos.



* Los agonistas probados fueron: acetilcolina, nicotina, carbacol y DMPP.

Esquema 1. Diagrama de flujo de la metodología general para la evaluación farmacológica de levamisol.

6.2. Preparación de tiras musculares de *Ascaris suum*.

Se utilizaron tiras musculares ventrales de 2 cm de largo de la pared muscular, obtenidas inmediatamente después del poro genital del *Ascaris* (Figura 7). Los fragmentos obtenidos se cortaron a lo largo de los conductos laterales, y la

porción dorsal fue desechada. El intestino y el útero se quitaron cuidadosamente usando unas pinzas finas. Las tiras musculares se colocaron en una cámara de órgano aislado, conteniendo 10 ml de solución Tyrode modificada a 37°C. Las preparaciones se suspendieron entre 2 ganchos, un extremo de la preparación muscular se fijó al tapón de la cámara y el extremo opuesto se unió a un transductor de desplazamiento de fuerza Grass 7 FT03 conectado a un polígrafo Grass 7D para registrar las contracciones isométricas del músculo. Las tiras se dejaron estabilizar por una hora bajo una tensión inicial de 4 g antes de la aplicación de los fármacos.

6.3. Aplicación de los fármacos.

Los fármacos se disolvieron en solución Tyrode. Todos los compuestos se prepararon diariamente y se adicionaron a la cámara de órgano aislado en un volumen de 100 μ l. La concentración de los fármacos se expresó como la concentración final en la solución del baño.

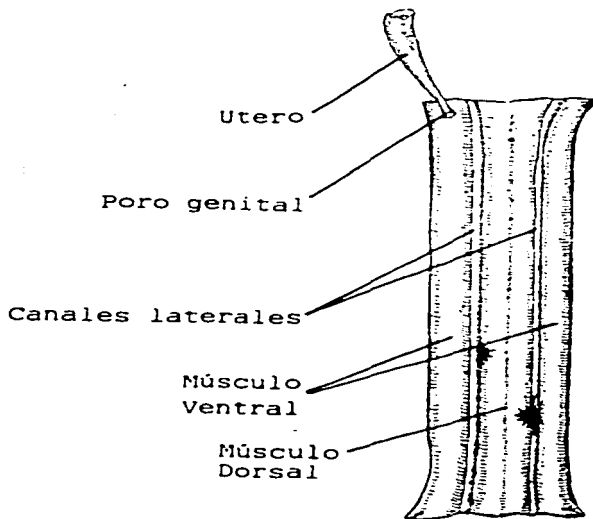


Figura 7. Esquema de la preparación de una tira muscular de *Ascaris suum*.

6.4. Efecto contráctil de levamisol.

La capacidad para producir contracción fue analizada por medio de curvas dosis-respuesta. La curva dosis-respuesta para el levamisol se realizó utilizando concentraciones acumulativas. La tensión muscular desarrollada por levamisol se expresó en gramos. Todos los resultados se expresaron como la media \pm e.e.m. de por lo menos 6 repeticiones, para este y los demás experimentos.

6.5. Efecto contráctil de la acetilcolina.

La capacidad para producir contracción de la acetilcolina fue analizada por medio de las curvas dosis-respuesta. La curva dosis-respuesta para la acetilcolina fue construida con concentraciones individuales. Las concentraciones de acetilcolina fueron adicionadas a intervalos de 15 min dejando 2 min de contacto con el tejido. La tensión muscular desarrollada por la acetilcolina fue expresada en gramos.

6.6. Efecto de los antagonistas colinérgicos sobre la respuesta contráctil de levamisol.

Los fármacos antagonistas mecamilamina, tubocurarina, atropina, hexametonio, DMQP y DMNP se adicionaron 5 minutos antes de la adición de levamisol (316 μ M) al baño del tejido con un periodo de contacto de 5 minutos.

después de la adición de éste agonista, las tiras musculares de *Ascaris* fueron retiradas. La concentración del antagonista requerida para producir el 50 % de la inhibición de la respuesta a la contracción de levamisol fue estimada por regresión no lineal.

6.7. Efecto de los antagonistas colinérgicos sobre la respuesta contráctil de la acetilcolina.

La acetilcolina a una concentración de 100 μM se adicionó al baño del tejido a intervalos de 30 minutos dejando 5 minutos de contacto. Los fármacos antagonistas mecamilamina, tubocurarina, atropina, hexametonio, DMQP y DMNP se adicionaron 10 minutos antes de la adición subsecuente de la concentración de acetilcolina. La concentración del agente antagonista requerida para producir el 50 % de la inhibición de la respuesta a la contracción de acetilcolina (100 μM) fue estimada por regresión no lineal.

6.8. Interacción de los agonistas colinérgicos sobre el levamisol.

La interacción de los agonistas colinérgicos acetilcolina (100 μM), DMPP (10 μM), carbacol y nicotina (316 μM), fue analizada en tiras precontraídas con levamisol. El levamisol en concentración submáxima (316 μM) se adicionó al baño del tejido, los fármacos agonistas se adicionaron a concentraciones submáximas correspondientes después de la respuesta máxima alcanzada por el levamisol. En otro tipo de experimentos se invirtió el orden de adición, se

adicionaron primero los agonistas colinérgicos: acetilcolina, carbacol, nicotina y DMPP, a las concentraciones antes mencionadas y después el levamisol (316 μ M).

7. FARMACOS Y SUSTANCIAS DE PRUEBA.

La acetilcolina, el levamisol, carbacol, DMPP (ioduro de 1,1-dimetil-4-fenil-piperazinio), nicotina base libre, mecamilamina, clorhidrato de atropina, bromuro de hexametonio y cloruro de tubocurarina fueron obtenidos de la compañía Sigma Chemical Co. (ST. Louis, M.O.). El ioduro de 1,1-dimetil-4-(2-quinolil)-piperazinio (DMQP) y el ioduro de 1,1-dimetil-4-(2-naftil)-piperazinio (DMNP) fueron obtenidos del acervo de compuestos perteneciente a la Sección de Terapéutica Experimental del Departamento de Farmacología y Toxicología del CINVESTAV. Las sales orgánicas utilizadas para la preparación de la solución Tyrode fueron de grado analítico y se obtuvieron de las compañías J.T. Baker y Sigma Chemical Co.

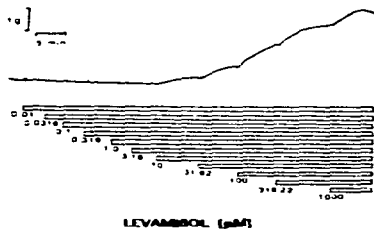
6. RESULTADOS.

6.1. Determinación de la curva concentración-respuesta de levamisol y de la acetilcolina en tiras musculares de *Ascaris suum*.

Los agonistas colinérgicos levamisol y acetilcolina provocaron contracciones de las tiras musculares, dependientes de la concentración. El levamisol y la acetilcolina provocaron el efecto máximo a la concentración de 1000 μ M respectivamente (Figura 9). Para evaluar el efecto de los antagonistas se utilizó una concentración de 316 mM de levamisol la cual dió una tensión de 2.82 ± 0.72 g y para la acetilcolina se utilizó una concentración de 100 mM dando una tensión de 3.67 ± 0.36 g. El orden de potencia para éstos dos agonistas colinérgicos fue: levamisol > acetilcolina (Tabla 3).

Tabla 3. Respuestas de las tiras musculares de *Ascaris suum* a los agonistas colinérgicos, levamisol y acetilcolina.

AGONISTAS	CE ₅₀ (mM)	E _{max} (g)
LEVAMISOL	5.01 \pm 0.45	2.98 \pm 0.76
ACETILCOLINA	14.12 \pm 0.67	4.03 \pm 0.49



LEVAMISOL (μ M)

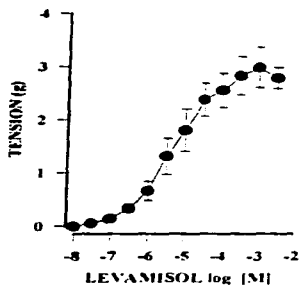


Figura 8. El trazo superior ilustra el efecto contráctil durante la adición acumulativa del levamisol sobre las tiras musculares de *Ascaris*. La gráfica inferior corresponde a la curva concentración-respuesta para el efecto contráctil de levamisol en tiras musculares de *Ascaris suum*. Cada dato representa la media \pm e.e.m. de por lo menos 6 experimentos.

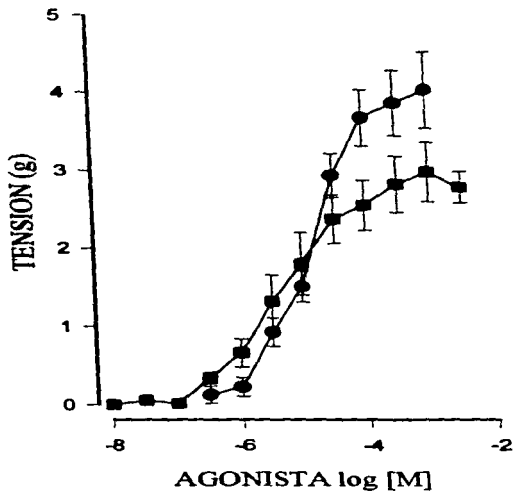


Figura 9. Curvas concentración-respuesta para el efecto contráctil de levamisol (■) y de la acetilcolina (●) en tiras musculares del *Ascaris suum*. Cada dato representa la media \pm e.e.m. de por lo menos 6 experimentos.

8.2. Efecto de los antagonistas colinérgicos sobre la respuesta contráctil provocada por el levamisol en tiras musculares de *Ascaris suum*.

Para observar el efecto de los antagonistas sobre la respuesta contráctil de levamisol y la acetilcolina, se tomó en cuenta el tiempo de recuperación de la preparación, en el caso de la acetilcolina la recuperación es de 30 min, lo cual no sucede con el levamisol donde la preparación no logra recuperarse y por lo tanto fue necesario cambiar la preparación constantemente (Figura 10). En la tabla 4 y en la figura 11 se resumen los resultados de la actividad antagonista colinérgica para inhibir las contracciones de levamisol 316 mM; el orden de potencia para estos antagonistas fue el siguiente: mecamilamina > DMNP > DMQP > atropina > d-tubocurarina > hexametonio.

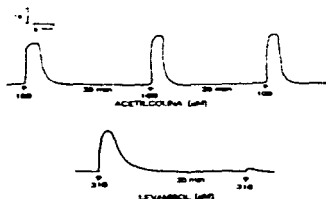


Figura 10. Efecto de levamisol y acetilcolina en tiras musculares de *Ascaris suum*, después del lavado y reposo de 30 min.

Tabla 4. Potencias relativas de los antagonistas colinérgicos, para inhibir el efecto contráctil de levamisol 316 mM en tiras musculares de *Ascaris suum*.

ANTAGONISTA	CI ₅₀ (mM)	POTENCIA RELATIVA*
Mecamilamina	0.5 ± 0.44	1
DMNP	5.01 ± 0.32	0.0998
DMQP	31.62 ± 0.51	0.0158
Atropina	50.11 ± 0.33	0.0099
Tubocurarina	501.18 ± 0.43	0.00099
Hexametonio	5011.8 ± 0.41	0.000099

* La potencia relativa se calculó por el cociente del valor de CI₅₀ de la mecamilamina entre el CI₅₀ del DMNP, DMQP, atropina, d-tubocurarina y hexametonio.

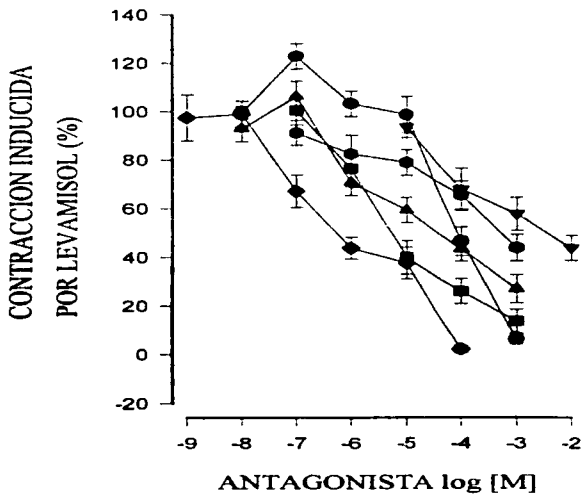


Figura 11. Efecto antagonista de la mecamilamina (◆), hexametonio (▼), atropina (●), d-tubocurarina (■), DMNP (▲) y DMNP (■) sobre las contracciones provocadas por levamisol (316 μ M) en tiras musculares de *Ascaris suum*. Los resultados se expresan como el porcentaje del efecto contráctil de levamisol a la concentración 316 μ M (2.82 ± 0.72 g). Los resultados representan a la media \pm e.e.m. de 8 experimentos.

8.3. Efecto de los antagonistas colinérgicos sobre la respuesta contráctil provocada por la acetilcolina en tiras musculares de *Ascaris suum*.

En la tabla 5 y en la figura 12 se resumen los resultados de la actividad antagonista colinérgica para inhibir las contracciones de la acetilcolina 100 mM; el orden de potencia para estos antagonistas fue el siguiente: mecamilamina > d-tubocurarina > DMNP > atropina > DMQP > hexametonio.

Tabla 5. Potencias relativas de los antagonistas colinérgicos para inhibir el efecto contráctil de la acetilcolina 100 mM en tiras musculares de *Ascaris suum*.

ANTAGONISTA	CI ₅₀ (mM)	POTENCIA RELATIVA*
Mecamilamina	0.07 ± 0.2	1
Tubocurarina	0.11 ± 0.26	0.63
DMNP	3.91 ± 0.14	0.0078
Atropina	16.54 ± 0.20	0.0042
DMQP	35.48 ± 0.08	0.0019
Hexametonio	279.14 ± 0.12	0.0002

* La potencia relativa se calculó por el cociente del valor de CI₅₀ de la mecamilamina entre el CI₅₀ de la tubocurarina, atropina, DMQP, DMNP y hexametonio.

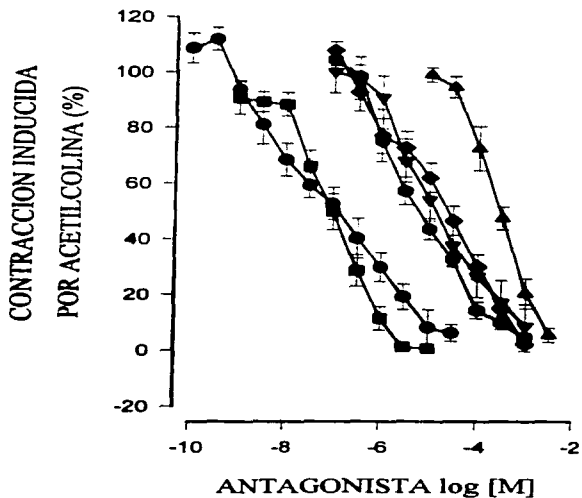


Figura 12. Efecto antagonista de la mecamilamina (●), d-tubocurarina (■), atropina (▼), hexametonio (▲), DMNP (●) y DMQP (◐) sobre las contracciones provocadas por la acetilcolina (100 μM) en tiras musculares de *Ascaris suum*. Los resultados se expresan como el porcentaje del efecto contráctil de acetilcolina a la concentración 100 μM (3.67 ± 0.36 g). Los resultados representan a la media ± e.e.m. de 8 experimentos.

5.4. Interacción de los agonistas colinérgicos sobre el levamisol.

Los agonistas colinérgicos acetilcolina (100 mM), DMPP (10 μ M), nicotina y carbacol (316 mM), no presentan efecto contráctil sobre tiras musculares de *Ascaris suum* precontraídas con levamisol 316 mM. En la figura 13 se presenta este efecto.

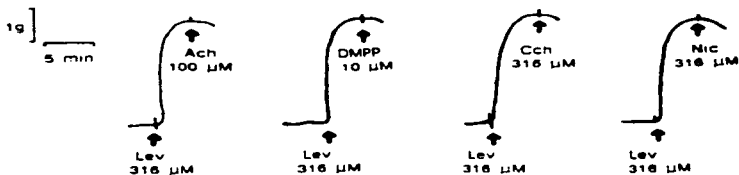


Figura 13. Efecto de los agonistas colinérgicos acetilcolina, carbacol, nicotina y DMPP sobre las tiras musculares de *Ascaris suum* precontraídas con levamisol 316 μ M.

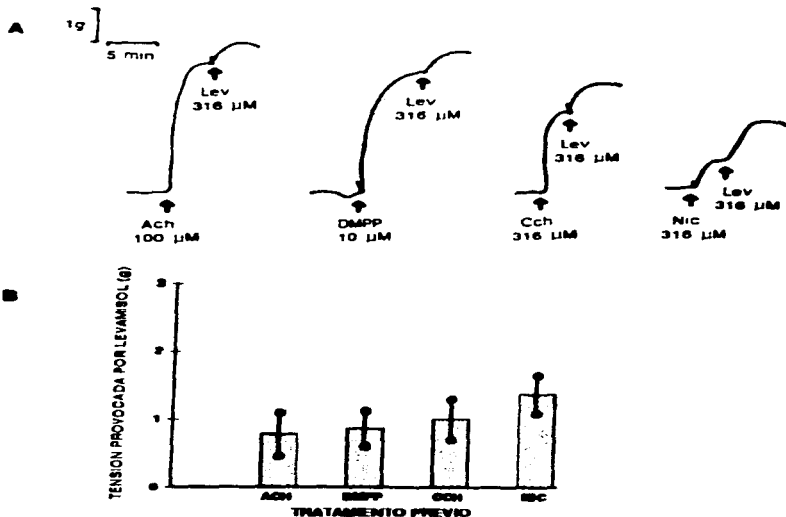
8.5. Interacción de levamisol sobre los agonistas colinérgicos.

El levamisol a una concentración de 316 mM presentó un efecto contráctil sobre tiras musculares de *Ascaris suum* precontraídas con acetilcolina (100 mM), DMPP (10 μ M), nicotina y carbacol (316 mM) (Figura 14). En la tabla 6 se presentan los resultados obtenidos para este experimento.

Tabla 6. Efecto de levamisol 316 mM sobre tiras musculares de *Ascaris suum* precontraídas con los agonistas colinérgicos.

TENSION (g)			
AGONISTA	AGONISTA SOLO	AGONISTA + LEVAMISOL	DIFERENCIA DE TENSION
CONTROL*	2.82 \pm 0.72	-	-
ACETILCOLINA	4.30 \pm 0.77	5.08 \pm 0.67	0.78 \pm 0.32
DMPP	3.40 \pm 0.20	4.26 \pm 0.73	0.86 \pm 0.26
CARBACOL	2.93 \pm 0.51	3.93 \pm 0.46	1.00 \pm 0.30
NICOTINA	0.96 \pm 0.06	2.33 \pm 0.52	1.37 \pm 0.28

* LEVAMISOL



CONTRACCION DE LEVAMISOL (316 μ M) DESPUES DE LA PRECONTRACCION CON LOS DIFERENTES AGONISTAS

Figura 14. En A se presentan los trazos del polígrafo, en donde es posible observar la contracción provocada por levamisol en la tira precontraída con los diferentes agonistas. En B se presenta la tensión desarrollada por levamisol en las tiras precontraídas.

9. DISCUSION DE RESULTADOS.

Tanto la acetilcolina como el levamisol provocan una contracción dependiente de la concentración en las tiras musculares de *Ascaris suum*. El efecto máximo para el levamisol se alcanzó a la concentración de 316 μM (2.98 ± 0.76 g), con una CE_{50} de 5.01 ± 0.45 μM . La acetilcolina se evaluó hasta la concentración de 1 mM que dió una respuesta de 4.03 ± 0.49 g con este valor considerado como máximo se evaluó la CE_{50} que fué de 14.12 ± 0.67 μM , estos datos están de acuerdo con los descritos previamente por Colquhoun *et al.*, 1991 y Aubry *et al.*, 1970.

Los resultados obtenidos con los antagonistas colinérgicos mecamilamina, atropina, d-tubocurarina, hexametonio y DMQP son acordes con los publicados anteriormente (Colquhoun *et al.*, 1991 y Navarrete 1996). Cabe mencionar que tanto la atropina como el hexametonio presentan actividad antagonista a concentraciones altas, lo que demuestra la poca sensibilidad de los receptores a estos antagonistas y no la falta de actividad como lo consideró Martin *et al.*, 1991 (Navarrete, 1996). El orden de potencia relativa de los antagonistas, para inhibir las contracciones desarrolladas por la acetilcolina fue: mecamilamina > d-tubocurarina > DMNP > atropina > DMQP > hexametonio. La baja potencia del hexametonio parece ser una característica de los invertebrados (Colquhoun *et al.*, 1991).

La potencia relativa de los antagonistas mecamilamina, atropina, hexametonio, DMQP, DMNP y d-tubocurarina sobre la respuesta contráctil de levamisol fue la siguiente: mecamilamina > DMNP > DMQP > atropina > d-tubocurarina > hexametonio. Al realizar la comparación de las potencias relativas para los antagonistas colinérgicos sobre la respuesta contráctil de la acetilcolina y levamisol se observa un cambio en el orden de las potencias relativas, el cual puede deberse a la alta afinidad de levamisol por los receptores de la acetilcolina en el *Ascaris*. El DMNP y el DMQP son más potentes para antagonizar al levamisol que a la acetilcolina, lo que puede estar relacionado con la actividad selectiva como antagonistas de los receptores del *Ascaris*.

Los agonistas colinérgicos acetilcolina, carbacol, nicotina y DMPP a las concentraciones submáximas no presentaron efectos sobre las tiras musculares del *Ascaris suum* precontraídas con levamisol (316 μ M) (Figura 13), que puede ser consecuencia del efecto del levamisol, el cual mantiene bloqueado al canal catiónico colinérgico en un estado abierto (Robertson y Martin, 1993), impidiendo que los otros agonistas colinérgicos puedan activarlo y de esta manera provocar una contracción adicional de las tiras musculares. Por otro lado, estos resultados también confirman que el levamisol ocupa el mismo receptor colinérgico en el *Ascaris suum*, como se ha indicado previamente por otros investigadores (Harrow y Gratton, 1985; Robertson y Martin, 1993). Sin embargo, esta es la primera evidencia funcional de que el levamisol ocupa el mismo receptor colinérgico en este nemátodo.

En cambio, el levamisol tiene la capacidad de contraer adicionalmente a las tiras musculares del *Ascaris suum* precontraídas con los agonistas colinérgicos acetilcolina, carbacol, nicotina y DMPP (Figura 14). Esto marca una diferencia del comportamiento de los agonistas colinérgicos anteriores y el levamisol ya que a diferencia de este, no provocan un bloqueo de la respuesta. Esto puede indicar que los agonistas colinérgicos mencionados no provocan el bloqueo de los canales cationicos como lo hace el levamisol (Robertson y Martin, 1993).

La contracción de levamisol en las tiras musculares precontraídas con los agonistas colinérgicos se inhibió más por acetilcolina y DMPP, seguida por carbacol y con nicotina se obtuvo la menor inhibición (Figura 14B). Este orden corresponde en general al orden de potencia de estos agonistas para contraer las tiras musculares del *Ascaris suum*, lo que proporciona un elemento adicional de que el levamisol y los agonistas colinérgicos actúan sobre los mismos receptores.

10. CONCLUSIONES.

De el presente trabajo se desprenden las siguientes conclusiones:

1. El orden de potencia para los agonistas colinérgicos acetilcolina y levamisol fue: levamisol > acetilcolina.
2. El orden de potencia para los antagonistas colinérgicos sobre la respuesta contráctil de la acetilcolina fue: mecamilamina > d-tubocurarina > DMNP > atropina > DMQP > hexametonio.
3. El orden de potencia para los antagonistas colinérgicos sobre la respuesta contráctil de levamisol se describe por primera vez, siendo esta: mecamilamina > DMNP > DMQP > atropina > d-tubocurarina > hexametonio.
4. El DMNP y el DMQP son más potentes para antagonizar a las respuestas contráctiles de levamisol que para antagonizar las respuestas contráctiles de la acetilcolina en las tiras musculares de *Ascaris suum*, debido tal vez a una mayor afinidad de los antagonistas por los receptores colinérgicos presentes en este nematodo.
5. El levamisol bloqueó la respuesta de los agonistas colinérgicos, cuando estos se administraron en las tiras musculares del *Ascaris suum* precontraídas con levamisol.

6. Los agonistas colinérgicos inhiben parcialmente la respuesta de levamisol, cuando este se adiciona en las tiras precontraídas con los diferentes agonistas colinérgicos. El orden de inhibición de la respuesta contráctil de levamisol en tiras musculares de *Ascaris suum* fué: acetilcolina > DMPP > carbacol > nicotina.

7. Estos resultados proporciona evidencias adicionales de que el levamisol y los agonistas colinérgicos acetilcolina, carbacol, nicotina y DMPP actúan sobre el mismo receptor en el *Ascaris suum*.

11. BIBLIOGRAFIA.

- Aceves, J., Ertij, D. y Martínez-Marañón, R. (1970). The mechanism of the paralyzing action of tetramisole on *Ascaris* somatic muscle. *Br. J. Pharmacol.* 38, 602-607.
- Anderson, T.J.C. (1995). *Ascaris* infections in human from north america: molecular evidence for cross-infection. *Parasitol.* 110, 215-219.
- Ash, A.S.F. y Tucker, J.F. (1966). Inhibition of *Ascaris* muscle by γ -aminobutyric acid: possible new assay method. *Nature.* 209, 306-307.
- Aubry, M.L., Cowell, P., Davey, M.J. y Shevde, S. (1970). Aspects of the pharmacology of new anthelmintics: pyrantel. *Br. J. Pharmacol.* 38, 332-344.
- Baldwing, E. y Moyle, V. (1949). A contribution of the physiology and pharmacology of *Ascaris lumbricoides*. *Br. J. Pharmacol.* 4, 145-152.
- Bowman, W.C. y Rand, M.J. (1984). *Farmacología. Bases bioquímicas y patológicas. Aplicaciones clínicas*. 2a. ed. Ed. Interamericana, México, pp. 37.1-37.4.
- Brusca, R.C. y Brusca, G.J. (1990). *Invertebrates*. Sanaver Associates, Inc. Publishers. Sunderland, Massachusetts. USA. pp. 350-360.

Coles, C.G., East, M.J. (1974). The mode of action of four anthelmintics. *Experientia*. 30, 11, 1625-1626.

Colquhoun, L., Holden-Dye, L. y Walker, R.J. (1991). The pharmacology of cholinceptors on the somatic muscle cells of the parasitic nematode *Ascaris suum*. *J. Exp. Biol.* 158, 509-530.

Cuevas, R., Ramírez, G., Sarti, E., Velázquez, O., Tapia, R. (1994). Epidemiología de las enfermedades parasitarias en México. *Boletín de Morbilidad y Mortalidad*. 1, 19, 1-10.

De Bell, J.T., Del Castillo, J. y Sánchez, V. (1963). Electrophysiology of the somatic muscle cells of *Ascaris lumbricoides*. *J. Cell. Comp. Physiol.* 62, 159-177.

Del Castillo, J. De Melo, W.C. y Morales, T. (1963) The physiological role of acetylcholine in the neuromuscular system of *Ascaris lumbricoides*. *Arch. Int. Physiol. Biochem.* 71, 741-757.

Del Castillo, J., De Melo, W.C. y Morales, T. (1964a). Influence of some ions on the membrane potential of *Ascaris* muscle. *J. Gen. Physiol.* 48, 129-140.

Del Castillo, J., De Melo, W.C. y Morales, T. (1964b). Inhibitory action of γ -aminobutyric acid (GABA) on *Ascaris* muscle. *Experientia*. 20, 141-143.

Del Castillo, J., De Melo, W.C. y Morales, T. (1964c). Mechanism of the paralyzing action of piperazine on *Ascaris* muscle. *Br. J. Pharmacol.*, 22, 463-477.

Dirección General de Epidemiología (DGE, 1996). Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica. *Epidemiología*. Sistema Unico de Información. Vol. 13. No. 2.

Dunn, M.A. (1983). Helminología Veterinaria. Editorial El Manual Moderno, S.A. de C.V. México. pp 9-108.

Eyre, P. (1970). Some pharmacodynamic affects of the nematicides: methyridine, tetramisole and pyrantel. *J. Pharm. Pharmac.* 22, 26-38.

Friedman, P.A. y Platzer, I.G. (1980). Interaction of anthelmintic benzimidazols with *Ascaris suum* embryonic tubulin. *Biochim. Biophys. Acta* 630, 271-278.

Goldsmith, S.R. (1991). Farmacología clínica de los antihelmínticos. In B. G., Katzung. Farmacología Básica y Clínica. 4a. ed. Ed. Manual Moderno. pp 670-684.

Goodwin, L.G. (1958). A method to recording the effect of anthelmintic on the movements of *Ascaris lumbricoides*. *Br. J. Pharmacol.* 13, 197-201.

- Gull, K., Dawson, P.J., Davis, C. y Byard, E.H. (1987). Microtubules as target organelles for benzimidazole anthelmintic chemotherapy. *Biochem. Soc. Trans.* 15, 59-60.
- Harrow, I.D. y Gratton, K.A.F. (1985). Mode of action of the anthelmintics morantel, pyrantel and levamisol on the muscle cell membrane of the nematode *Ascaris suum*. *Pestic. Sci.* 16, 662-672.
- Jansen, P.A.J. (1976). The levamisole story. *Prog. Drug Res.* 20, 341-383.
- Johnson, C.D., Stretton, A.O.W. (1977). Cellular localization of choline acetyltransferase in motoneurons from *Ascaris*. *Neuroscience Abs.* 3, 180. Society for Neuroscience. Bethesda, Maryland.
- Jenkins, D.C. (1982). *In vitro* screening tests for anthelmintics. In D. Owen (Ed.) *Animal models in parasitology*. Mc. Millan Press LTD. Gran Bretaña, pp 173-186.
- Lemothe, R. y García, L. (1988). Helminthiasis del Hombre en México. Tratamiento y profilaxis. AGT Editor, S.A., México, pp 59-129.
- Lewis, J. A., Wu, C. H., Levine, J. H. & Berg, H. (1980). Levamisole-Resistant mutants of the nematode *Caenorhabditis elegans* appear to lack pharmacological acetylcholine receptors. *Neuroscience.* 5, 967-989.

Lewis, J. A., Fleming, J. T., McLafferty, S., Murphy, H. & Wu, C. H. (1986). The levamisole Receptor, a Cholinergic Receptor of the Nematode *Caenorhabditis elegans*. *Molec. Pharmac.*, 31, 185-193.

Martin, R.J., (1980). The effect of γ -aminobutyric acid on the input conductance and membrane potential of *Ascaris* muscle. *Br. J. Pharmacol.* 71, 99-106.

Martin, R.J. (1982). Electrophysiological effects of piperazine and diethylcarbamazine on *Ascaris suum* somatic muscle. *Br. J. Pharmacol.* 77, 255-265.

Martin, R.J., Pennington, A.J., Duitoz, A.H., Robertson, S. y Kusel, J.R. (1991). The physiology and pharmacology of neuromuscular transmission in the nematode parasite, *Ascaris suum*. *Parasitol.* 102, S41-S58.

Markell, E.K., Voge, M. Jonh, D.T. (1990). *Parasitología Médica*. 6a. ed. Ed. Mc Graw-Hill. España, 219-247.

Natoff, I.L. (1969). The pharmacology of the cholinceptor in muscle preparation of *Ascaris lumbricoides var. suum*. *Br. J. Pharmacol.* 37, 251-257.

Navarrete, A. y Hong, E. (1995). A selective *Ascaris* acetylcholine receptor antagonist: 1,1-dimethyl-4-(2-quinolyl)-piperazinium iodide. *Proc. West. Pharm. Soc.* 38, 35-36.

Navarrete, A. C. (1996). Valoración farmacológica de la actividad antihelmíntica de compuestos de origen natural y sintético en el parásito *Ascaris suum*. Tesis de doctorado en ciencias, en la especialidad de farmacología. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional. Departamento de Farmacología y Toxicología, México.

Norton, S. y De Beer, E.J. (1957). Investigations on the action of piperazine on *Ascaris lumbricoides*. *Am. J. Trop. Med.* 6, 898-905.

Onuaguluchi, G. (1989). Some aspects of the pharmacology and physiology of the *Ascaris suum* muscle. *Arc. int. Pharmacodyn.* 298, 264-275.

Payan, G. D. y Shearn, A. M. (1991). Agentes antiinflamatorios, no esteroides. In B. G., Katzung. *Farmacología básica y clínica*. 4a. ed. Ed. Manual Moderno. pp 438-457.

Rew, R.S. y Fetterer, R.H. (1986). Mode of action of antinematodal drugs. In Campbell, W.C. y Rew, R.S. (Eds.) *Chemiotherapy of Parasitic Diseases*. Plenum Press, New York USA, pp 321-337.

Robertson, J.S. ., Martin, J.R., (1993). Levamisole-actived single-channel currents from muscle of the nematode parasite *Ascaris suum*. *Br. J. Pharmacol.* 108, 170-178.

Rollo, M.I. (1984). Terapia de las enfermedades parasitarias. In Goodman, A., Gilman, A. (Eds.). Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. 6a.ed. Ed. Panamericana. México, pp 997-1020.

Rosebluth, J. (1965). Ultrastructural organization of obliquely striated muscle fibres in *Ascaris lumbricoides*. *J. Cel. Biol.* 25, 495-515.

Rozhkova, E.K., Malyutina, T.A. y Shishov, B.A. (1980). Pharmacological characteristics of cholinoreception in somatic muscle of the nematode *Ascaris suum*. *General Pharmacology* 11, 141-146.

Soulsby, E.J. (1987). Parasitología y Enfermedades Parasitarias en los Animales Domésticos. 7a. ed. Ed. Interamericana. México, D.F., pp 142-148.

Thienpont, D., Vanparijs, J.F.O., Raeymaekers, M.H.A., Vandenberg, J., Demoen, A.J.P., Allewijn, N.T.F., Marsboom, H.P.R., Niemegeers, E.J.C., Schellekens, L.H.K., Janssen, J.A. (1966). Tetramisole (R 8299), a new, potent broad spectrum anthelmintic. *Nature*. 12, 1084-1086.

Van Belle, H. (1972) Kinetics and inhibition of alkaline phosphatases from canine tissues. *Biochim. Biophys. Acta.* 289, 158-168.

Van Den Bossche, H., Janssen, P.A.J. (1969). The biochemical mechanism of action of the antinematodal drug tetramisole. *Biochem. Pharmac.* 18, 35-42.

Wang, C.C. (1992). Basic principles of antiparasitic chemotherapy. In B.G. Katzung (Ed.) *Basic and clinical pharmacology*. 5th. Ed. Appleton and Lange, Connecticut USA, pp 712-722.

Webster, L.T. (1991). Fármacos usados en la quimioterapia de las helmintiasis. In Goodman, A., Rall T.W., Nies, A.S. y Taylor, P. (Eds.). *Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica*. 8va. ed. Editorial Panamericana, México. pp 935-952.