



11261

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE**  
**MEXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA**  
**DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**“INMUNOSUPRESION EN EL CERDO Y SU RELACION  
CON LA CISTICERCOSIS”**

**T E S I S**

**PARA OPTAR AL GRADO ACADEMICO DE:**

**MAESTRIA EN CIENCIAS BIOMEDICAS**  
**AREA DE PARASITOLOGIA**

**PRESENTA:**

**BIOLOGA GLORIA ELENA ROJAS WASTAVINO**

**ASESORA: DRA. PAZ MARIA SALAZAR SCHETTINO**

**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.

# TESIS CON FALLA DE ORIGEN



11261

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE**  
**MEXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA**  
**DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**“INMUNOSUPRESION EN EL CERDO Y SU RELACION  
CON LA CISTICERCOSIS”**

**T E S I S**

**PARA OPTAR AL GRADO ACADEMICO DE:**

**MAESTRIA EN CIENCIAS BIOMEDICAS**  
**AREA DE PARASITOLOGIA**

**PRESENTA:**

**BIOLOGA GLORIA ELENA ROJAS WASTAVINO**

**ASESORA: DRA. PAZ MARIA SALAZAR SCETTINO**

**MEXICO, D. F.**

**1997**

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

## INDICE

Resumen-----	3
Introducción-----	4
Ciclo biológico-----	15
Hipótesis-----	17
Objetivo general-----	18
Objetivos específicos-----	18
Material y Métodos-----	19
Resultados-----	33
Discusión-----	64
Conclusiones-----	69
Referencias bibliográficas-----	70

## RESUMEN

Con el objetivo de evaluar la inmunosupresión en la cisticercosis a través de los mecanismos de infección con huevos y posoncosferas de *Taenia solium*, se llevó a cabo la siguiente investigación que consistió en: 1° suprimir la respuesta inmune del los cerdos con el corticoesteroide dexametasona, 2° infectar a los cerdos con huevos y posoncosferas de *Taenia solium*, 3° evaluar la supresión de la respuesta inmune humoral, por medio de las técnicas de hemaglutinación indirecta, inmunoensayo enzimático y por inmunoelectrotransferencia, 4° evaluar la supresión de la respuesta celular por medio del índice mitótico y la cinética de proliferación celular. Se trabajó con diez cerdos recién destetados divididos en dos cerdos testigos; dos infectados con 50,000 huevos de *T. solium*; dos cerdos infectados con posoncosferas y de los cuatro inmunosuprimidos con dexametasona, tres se infectaron con posoncosferas.

La respuesta humoral se evaluó tomando 5 ml de sangre periférica, por punción yugular, se dejó coagular a temperatura ambiente, se separó el suero por centrifugación y se guardó en congelación hasta su uso. La respuesta inmune celular se evaluó a través del cultivo de linfocitos de sangre periférica completa en presencia de fitohemaglutinina y 5-bromodesoxiuridina, por 48 horas, bajo dos parámetros: índice mitótico y cinética de proliferación celular. Los resultados de la respuesta inmune humoral mostraron títulos de hasta 1:128 en los cerdos infectados con huevos de *T. solium*, en los infectados con posoncosferas estos fueron de 1:16 y en los infectados con posoncosferas más dexametasona el título fue de 1:32 hacia el final del experimento. Las absorbancias mostradas por ELISA, confirman estos hallazgos. El análisis estadístico de los resultados del índice mitótico mostraron diferencias en todos los grupos experimentales con respecto al control, aunque estas no fueron significativas. Los porcentajes de las primeras metafases de la cinética de proliferación celular durante las primeras cuatro semanas indican una supresión de la respuesta celular de los animales infectados con huevos de *T. solium* y de los infectados con posoncosferas más dexametasona ( $p < 0.05$ ).

## INTRODUCCION.

La cisticercosis en el hombre es una enfermedad producida por la forma larvaria o metacéstodo de *Taenia solium*, también llamado *Cysticercus cellulosae* y vulgarmente como zahuate, sapo, liendrilla, granillo; aunque su huésped intermediario natural, en el ciclo de vida de este céstodo es el cerdo, siendo un problema de importancia económica para los criadores de estos animales (1), también el hombre puede llegar a jugar este papel al infectarse con los huevos de *T. solium*, transformándose en este caso en un problema de salud pública ya que en el hombre, los cisticercos pueden producir enfermedad severa y muerte. A diferencia de la cisticercosis porcina, la cisticercosis humana afecta principalmente el sistema nervioso central del hombre aún cuando a los parásitos se les ha encontrado prácticamente en todos los órganos y tejidos del cuerpo humano. Es la parasitosis más común que afecta al sistema nerviosos central, y uno de los problemas neuropatológicos más frecuentes en México y otros países en vías de desarrollo (2). En estudios llevados a cabo en Nigeria, entre 1986 y 1988 en relación a la teniasis humana y cisticercosis en cerdos, se reporta un 20.5% de cisticercosis porcina y un 8.6 % de prevalencia de teniosis humana, es curioso pero en los hospitales de la región no existen registros sobre cisticercosis humana y aunque se encuentran casos de problemas oculares y neurológicos, prevalentes en el medio, no se efectúa el diagnóstico diferencial con la cisticercosis, ya que no se asocian ambas enfermedades ( cisticercosis en el cerdo y teniasis en el humano) existiendo una grave falta de información sobre la epidemiología de la enfermedad (3). En Africa tropical (4) se desconoce la etiología con relación a los casos de epilepsia, los que podrían estar relacionados con cisticercosis. También se reporta que la incidencia de esta enfermedad es subestimada entre la población negra de habla francesa, la región

del Océano Indico tiene una de las más altas incidencias junto con Madagascar reportándose una seroprevalencia de 18% en 1994 (5). Por otro lado la incidencia y la prevalencia de la neurocisticercosis en Sudáfrica son desconocidas, sin embargo, se han llevado a cabo estudios para determinar las fuentes de infección y rutas de transmisión, para evaluar programas terapéuticos y desarrollar programas de prevención (6).

En estudios realizados en China entre 1988 y 1992, con el fin de conocer la distribución de los parásitos humanos, se encontró que la cisticercosis se encuentra en 27 provincias del país (7) y que la tendencia hacia las enfermedades transmitidas por los alimentos, entre otras, la cisticercosis, están en aumento (8). En otro estudio realizado para determinar la susceptibilidad de animales domésticos a la infección con huevos de *T. solium*, se recuperaron 162 cisticercos en cerdos y 21 en dos perros después de la inoculación experimental en la provincia de Hainan. (9).

En India, debido a los avances en el diagnóstico con radio-imágen, se está reconociendo el problema más a menudo, se evalúan las drogas que se usan en el tratamiento de neurocisticercosis, como el prazicuantel, desconocidos hasta hace una década (10). Se reporta un caso de un niño con una protuberancia en aumento en la lengua, el problema fue extirpado y el estudio histopatológico demostró que se trataba de cisticercos (11), también se informa el caso de un niño vegetariano, de 12 años, que al estudio por tomografía computarizada, mostró múltiples lesiones en forma de anillos en la fosa posterior; el suero y el líquido cefalorraquídeo fueron positivos contra el antígeno de cisticercos por medio de ELISA (12). Se ha comprobado la efectividad del albendazol en el tratamiento de la cisticercosis parenquimatosa de 29 pacientes sufriendo este mal, 14 mostraron más del 25% de reducción en el número de lesiones (13).

En Indonesia, en la isla de Irian Jaya en una muestra al azar de 242 personas se mostró que 42 de ellos tenían quistes palpables de cisticercos *T. solium* y en el

examen de la materia fecal se recuperaron huevos de *Taenia* sp.(14). Por otro lado, en la isla Bali, varios estudios indican la presencia de *T. solium*, aunque se ha reportado poco en relación a la prevalencia de anticuerpos anti-*T. solium* en asintomáticos y en individuos epilépticos. Debido a esto se llevó a cabo un estudio para determinar por inmunoblot y ELISA la frecuencia de anticuerpos anticisticercosis en 746 residentes, 94 de los cuales, fueron positivos por inmunoblot; de 74 pacientes epilépticos el 14% fueron positivos por inmunoblot y 8% por medio de ELISA , se concluye que la significativa cantidad de casos de epilepsia pueden estar asociados a la neurocisticercosis (15).

En Estados Unidos de Norteamérica la neurocisticercosis se ha transformado en un problema clínico importante debido a la inmigración desde zonas endémicas, especialmente México, Sudamérica, Sudeste de Asia, India y el Caribe (16) atacando tanto a niños como a adultos (17). Así, en una investigación sobre seroprevalencia por medio de inmunoelectrotransferencia para detectar cisticercosis en una comunidad judía ortodoxa, se encontró un valor de 1.3 % de positividad, porcentaje alto dado las características de esta comunidad, en que el consumo de carne de puerco está prohibido, el porcentaje es comparable al hallado por el mismo método en adultos asintomáticos de regiones urbanas de Perú el cual fue de 1.0-1.5 %, (en las zonas endémicas de este mismo país las prevalencias se encuentran entre 8- 10.8 %) la causa principal se atribuye a los inmigrantes que se emplean en las casas, aunque la prevalencia de teniasis entre ellos es difícil de determinar debido a que generalmente son indocumentados y como la inmigración a los Estados Unidos tiende a elevarse desde los países donde *T. solium* es endémica, es probable que este problema se incremente (18).

En América Latina, la cisticercosis no es desconocida, en un estudio llevada a cabo en Ecuador, en 123 personas afectadas con neurocisticercosis, sugieren que la enfermedad daña el comportamiento (19), por lo que se propone que la

neurocisticercosis debe ser incluida en el diagnóstico diferencial de ataques, presión intracraneal, meningitis y reacciones sicóticas, especialmente en niños (20).

En México los registros sobre el conocimiento de la teniosis o la cisticercosis se encuentran desde el siglo pasado, se reporta que desde 1894 el doctor Jesús Sánchez publicó su "Nota Acerca de la Tenia o Solitaria del Hombre en México". En 1944 el doctor Luis Mazzotti examinó 63 muestras de raspado anal obtenidas con cinta de celulosa adhesiva, observando huevos de *Taenia* sp., en el 70 % de los casos, estos porcentajes variaban cuando examinaba la materia fecal. Los estudios realizados por el doctor Mazzotti estimularon el interés en el estudio de la teniosis-cisticercosis en el país. Desde 1901 a 1944 en los estudios post mortem se encontraron 57 diagnósticos de cisticercosis. En el Hospital General de México, en 1357 autopsias practicadas hasta 1942 hubo 38 (2.8%) estudios de cisticercosis cerebral. Entre 1938 y 1944 se registraron 47 pacientes con cisticercosis ocular y de 1938 a 1944 el doctor Clemente Robles, neurocirujano del Hospital General operó 100 casos de tumor cerebral, 25 de los cuales correspondieron a cisticercosis (21).

En estudios realizados entre 1953 y 1984, de 20,206 protocolos de autopsias completas practicadas en la Unidad de Patología de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México y del Hospital General de México, se encontraron 481 casos con diagnóstico de cisticercosis, en 189 de ellos, esta parasitosis fue la causa principal de muerte, representando el 2.38% de las autopsias practicadas en el Hospital General de México (22). Estudios epidemiológicos recientes, realizados en una comunidad rural del Estado de Morelos, México, indican que el 0.3% de la población estudiada presentaron infección con huevos de *T. solium* y serológicamente el 10.8% fueron positivos a cisticercosis. Por otro lado la inspección de cerdos a través de la revisión de la lengua demostró que el 4% de ellos eran positivos a cisticercosis (23). De la misma manera en la investigación

llevada a cabo en 18 pueblos con cisticercosis porcina endémica, en el Estado de Guerrero, la positividad en los cerdos estuvo en el rango de 1.0 % a 5.4 % (24) .

En un estudio realizado por Tay y cols. en 1995, se señala un promedio de 1.3% de prevalencia de teniosis para todos los trabajos en relación a esta parasitosis (25).

Las parasitosis causadas por protozoarios o por helmintos están entre las más amplias y severas que están afectando al hombre, no solamente tienen un efecto directo perjudicial sobre el huésped (26) sino que también afectan el sistema inmune dañando la respuesta inmune a antígenos relacionados con el parásito (27). La invasión al tejido por *Entamoeba histolytica* se sugiere que debe estar precedida y asociada con algún grado de supresión de las células T (28). La inmunodepresión en la enfermedad de Chagas se ha evidenciado por la reducida producción de anticuerpos (29), la disminución en la secreción de IL-2 por linfocitos T (30), disminución de la proliferación de células T in vitro (31), así como de la actividad citolítica de los linfocitos T (32) y la baja expresión de receptores para IL-2 (33). Esta inmunodepresión se ha demostrado en la fase aguda de la enfermedad de Chagas producida por *Trypanosoma cruzi* y el efecto es producido por una proteína liberada espontáneamente por el parásito, denominada TIF (factor inmunosupresor tripanosomal), identificado con un peso molecular entre 30,000 y 100,000 Da, que inhibe la respuesta tanto de células B como T (34).

En el caso de leishmaniasis visceral hay una ausencia completa de inmunidad mediada por células a antígenos de *Leishmania* sp., por lo que hay una incontrolada parasitación del sistema fagocítico mononuclear, la cual es especialmente patente en el bazo; los pacientes que sufren leishmaniasis cutánea difusa muestran reacción negativa a la leishmanina (35), ausencia de blastogénesis de linfocitos T y producción disminuída de IL-2 y de interferón gamma en respuesta a antígenos del parásito. En hamsters infectados con *L. donovani* la inmunodepresión se demostró como una inhibición no específica de la respuesta de linfocitos de bazo a un

mitógeno para células T y como una inhibición específica de respuesta proliferativa a los antígenos del parásito, la supresión de la respuesta linfoproliferativa se pronunció más, a medida que avanzaba la infección (36).

En infecciones crónicas producidas por *Toxoplasma gondii*, en ratones, se ha reportado la supresión de linfocitos T (37), así como la disfunción de linfocitos T durante la infección aguda, la respuesta proliferativa de esplenocitos y células T enriquecidas de ratones infectados estuvo disminuida a la estimulación con Con A. También la producción de IL-2 estuvo deprimida, concluyéndose la existencia de un factor supresor activo (38).

En estudios realizados para conocer la inmunosupresión provocada por los helmintos se presenta la evidencia de un factor en el suero de pacientes con esquistosomiasis, que suprime la respuesta mediada por células inhibiendo la transformación de linfocitos estimulados con Con A (39). En esta misma parasitosis se ha observado que en ratones infectados con cercarias de *Schistosoma mansoni*, la enfermedad modifica la composición y capacidad funcional del sistema inmune del huésped, llegando a la conclusión de que esta alteración es producida por células supresoras y por complejos inmunes (40). En infecciones provocadas por *Echinococcus multilocularis*, se ha visto que la supresión a la Con-A, observada en ratones infectados es llevada a cabo por célula CD8, las cuales inhiben la producción de IL-2 (41,42). Los productos de excreción y secreción coleccionados en sobrenadantes de cultivos de larvas de los nemátodos *Anisakis simplex* y *Terranova* sp. han demostrado su acción inhibitoria citostática en células linfoides proliferativas (43).

En el cerdo cisticercoso, se ha sugerido que el parásito induce supresión de la respuesta inmune y que esta inmunosupresión está inducida por el parásito (44), y se ha reportado una correlación inversa entre el decremento de linfocitos T y el número de larvas implantadas (45). Actualmente se ha identificado una sustancia proveniente del cisticerco de *T. solium*, que decrece la proliferación de linfocitos inducida por

Con A (46). Por otro lado se ha observado que en los pacientes con neurocisticercosis, comparados con individuos del mismo nivel socioeconómico, existe un incremento en enfermedades asociadas a disfunción inmune tales como alergia a alimentos, rinitis y asma, alta frecuencia de ascariosis y teniosis, la anormalidad se relacionó con una disminución de la respuesta inmune celular, como se manifestó por las pruebas a PPD y la disminución de la respuesta de linfocitos sanguíneos a mitógenos y en alto porcentaje de células CD8+ (47). También, se reporta que en 3,424 autopsias realizadas en el Depto. de Patología del Instituto Nacional de Pediatría se encontró que de 18 niños que padecían de cisticercosis cerebral , 6 de ellos murieron a causa de esta enfermedad, cuatro casos se encontraron asociados con enfermedades infecciosas y los restantes sufrían de algún tipo de inmunodeficiencia asociadas a desnutrición sugiriendo que existe una asociación entre la enfermedad y la inmunodepresión (48).

La inmunosupresión en los animales también puede ser causada por agentes no infecciosos como: drogas, hormonas, desnutrición, estrés y el destete. Una variedad de químicos, drogas y agentes infecciosos pueden causar inmunomodulación de la respuesta inmune la cual puede ser inmunoestimuladora o inmunosupresora, por ejemplo, el levamisol causa inmunoestimulación, el cual lleva a un aumento en la producción de anticuerpos, a una incrementada fagocitosis e inhibición del crecimiento de tumores (49). Bajo ciertas condiciones los antígenos y los anticuerpos pueden tener efecto inmunosupresor (50). La expansión de clonas celulares antígeno específicas que sigue a la activación de células T está también inhibida por sustancias antiproliferativas tales como antimetabolitos, la ciclofosfamida y probablemente también los glucocorticoides (51), los cuales juegan un importante papel en la regulación endocrina de casi todas las funciones del cuerpo. El citoplasma de muchas células como, linfocitos, células de tejido conectivo, monocitos y macrófagos tienen receptores con una alta afinidad por los

glucocorticoides. Estas células tienen casi 6000 a 7000 receptores por célula. Hay dos tipos de receptores a los glucocorticoides, ambos se unen a la cortisona y uno tiene una alta afinidad por la dexametasona y otro por la aldosterona (llamado también mineralocorticoide). Entre los efectos farmacológicos, los glucocorticoides sintéticos como la dexametasona, triamcinolona y prednisona son usadas terapéuticamente en cuatro campos relacionados al sistema inmune: como inmunosupresores, como agentes antiinflamatorios, como citostáticos antilinfocítico en oncología y en el manejo de enfermedades alérgicas. El efecto sobre la distribución en las células sanguíneas se observa después de 4 a 6 horas de una simple dosis terapéutica del glucocorticoide y un incremento en el número de neutrófilos en sangre periférica. Este efecto se debe a la movilización de neutrófilos hacia la médula ósea. Todas las otras células blancas tienden a decrecer bajo la influencia de los glucocorticoides. Este decremento es más pronunciado en monocitos y en linfocitos T y B, cuatro o seis horas después de la administración del glucocorticoide y en los basófilos y eosinófilos cuatro o seis horas más tarde. La linfopenia observada después de la administración de glucocorticoides es, al menos en el hombre, no una incrementada lisis de linfocitos sino primariamente una redistribución. Bajo la influencia de los glucocorticoides, los linfocitos y en particular los linfocitos T migran dentro de la médula ósea y a un alcance menor dentro de los nódulos linfáticos. Esta migración afecta predominantemente a los linfocitos T-h (CD4+). Como con linfocitos, eosinófilos y basófilos, la redistribución dentro del conjunto de linfocitos circulantes puede ser atribuido a cambios en la membrana celular, la cual, por una afinidad incrementada por las paredes de los vasos pequeños, en particular las venas pequeñas, prolonga la residencia temporal en la periferia. Además, los glucocorticoides actúan también sobre el endotelio vascular intensificando el efecto sobre las células sanguíneas; un efecto importante es que los linfocitos y leucocitos basófilos y eosinófilos los cuales

podrían estar normalmente disponibles para una respuesta inmune mediada por células o para reacciones inflamatorias colaterales, están temporalmente bloqueados para entrar en contacto con el antígeno. Aún a concentraciones que son fácilmente dadas en la terapia, los monocitos y sus productos de diferenciación parecen ser muy sensibles a los glucocorticoides. Esto es verdadero con respecto a su distribución y reactividad quimiotáctica y su función de presentar al antígeno y reactividad quimiotáctica. Un hecho importante acerca de la función de los monocitos es que la secreción de mediadores solubles, particularmente la Interleucina-1 es inhibida por los glucocorticoides. Concentraciones altas como  $10^{-3}$  a  $10^{-4}$  M también dañan la función de C3b y receptores Fc de IgG sobre la superficie de los monocitos.

La transformación de linfocitos inducida por Con-A o PHA puede ser inhibida por glucocorticoides tanto in vitro como in vivo, en estudios con animales o humanos voluntarios, cuyos linfocitos son subsecuentemente estimulados in vitro por mitógenos, reacciones de linfocitos autólogos y alogénicos mezclados son inhibidas por corticoesteroides encontrándose una declinación de interleucina-2

(IL-2), la adición exógena de este no revierte la reacción (inhibición) de la mezcla de linfocitos. La inhibición de IL-1 inducida por glucocorticoides en monocitos y macrófagos activados y la desensibilización de los linfocitos a IL-1 puede ser importante para los efectos inmunosupresores y antiinflamatorios de los glucocorticoides. Dosis únicas escasas de glucocorticoides no tienen efecto sobre los linfocitos B, pero si se aplica un tratamiento por varios días (3 a 10) se observa una ligera declinación de los anticuerpos IgG, IgA e IgM y en muchos casos, un incremento en IgE. Estos cambios son presumiblemente causados por la inhibición de células T-supresoras específicas de IgE y se establece casi dos semanas después de que se comienza el tratamiento. La inhibición de la secreción de IgG inducida por células supresoras puede ser revertida con corticosteroides. Este fenómeno se observa en el tratamiento de la hipogammaglobulinemia y en pacientes con

sarcoidosis, quienes están inmunológicamente comprometidos debido a la actividad celular de T-supresoras específicas (52).

El uso de glucocorticoides como la dexametasona ha sido usado para inmunosuprimir a animales y observar la respuesta inmune celular que este fármaco provoca, se ha experimentado en anfibios resultando en involución del timo con destrucción masiva de linfocitos corticales, linfopenia periférica intensa con redistribución de linfocitos a la médula ósea de sangre periférica y bazo, *Rana perezii* demostró ser una especie corticosensible, aunque los efectos que inducen los corticosteroides son menos drásticos que en los mamíferos (53). En humanos se ha demostrado que inhibe la producción de IL-1 e IL-2 con daño a la blastogénesis inducida por lectinas, Con-A y PHA es suprimida por glucocorticoides in vivo e in vitro (54), en otros experimentos con el fin de evaluar interferón gamma porcino recombinante en animales inmunosuprimidos se desarrolló un modelo de inmunosupresión en cerdos inducido por dexametasona a razón de 6 mg/Kg de peso, los resultados mostraron una respuesta blastogénica inhibida a PHA y Con-A así como en la síntesis de IL-2 por los linfocitos, aunque esto depende de la dosis y edad de los animales huéspedes (55); del mismo modo, linfocitos de bovino mostraron neutrofilia y linfopenia hacia mitógenos como PHA, Con-A y PWM, al ser tratados con 0.5 mg/kg con dexametasona (56); los linfocitos de bazo de ratones inmunosuprimidos con dexametasona, 30 mg/Kg, demostraron que la administración de una sola dosis de dexametasona resulta en la inhibición de la proliferación celular y en la secreción de linfocinas, este efecto es reversible después de 24 horas (57).

El uso de prednisolona, que es un glucocorticoide sintético, en estudios sobre linfocitos de cerdo se encontraron diversos comportamientos, la sensibilidad más pronunciada se encontró en linfocitos de sangre periférica de cerdos de menos de una semana y los linfocitos de animales adultos de más de seis meses de edad fueron resistentes al esteroide. Los resultados sugieren que el cerdo adulto de seis meses de

edad, estaría clasificado como una especie esteroide resistente. Hay una sensibilidad edad dependiente a los efectos supresores del esteroide. Los linfocitos de animales de menos de cuatro meses de edad fueron más sensibles a los esteroides que los linfocitos de animales de más edad. Las células T pueden sufrir maduración más lenta en los cerdos jóvenes suministrando a la población periférica linfocitos más sensibles a los efectos supresores de los esteroides. Los resultados sugieren que los linfocitos de cerdos adultos son altamente resistentes a los efectos citolíticos e inhibitorios de los esteroides junto con el hombre, cobayos y monos puede ser una especie-esteroide-resistente-(56).

## **CICLO BIOLÓGICO DE *Taenia solium*.**

Si se toma como inicio del ciclo la ingestión de huevos de *T. solium*, al llegar estos al duodeno o yeyuno se produce la desintegración del embrióforo, lo que se traduce en la eclosión de los huevos, la que sólo se produce cuando tras sufrir los efectos del jugo gástrico, entran en contacto con el intestinal ( tripsina y sales biliares), liberando un embrión hexacanto, que por acción mecánica y enzimática penetra hasta los capilares para diseminarse a distintos tejidos u órganos y desarrollarse hasta la fase de cisticerco; el ciclo se completa cuando el hombre se infecta al ingerir la carne de cerdo con estas larvas, las que al llegar al intestino delgado, evaginan el escólex y se fijan al intestino por medio de ventosas y ganchos el cual después de dos meses de desarrollo llegan a la forma adulta (59).

A las formas inmediatas después de la oncosfera se les ha denominado posoncosferas y se han propuesto para sugerir otro mecanismo de infección de la cisticercosis, en la cual la inmunosupresión del individuo juega un papel fundamental. Las posoncosferas son esféricas, microscópicas de tamaño variable: de 4 hasta 28 micras de diámetro (Figura 1); presentan un mecanismo de multiplicación por gemación, su desarrollo hasta cisticerco solamente se ha presentado cuando los cerdos infectados se han inmunodeprimido (60). En estudios bioquímicos, no publicados, se ha encontrado que las oncosferas de *T. solium* contienen menor cantidad de proteínas (14%) que las posoncosferas, las oncosferas contienen menor cantidad de proteasas ( 33%) en relación a las posoncosferas, las proteasas en ambas, fueron serina proteasas, en las oncosferas (100% ) y en las posoncosferas (97%), concluyendo que las posoncosferas al carecer de ganchos deben su penetración sólo a su función enzimática. El primer reporte sobre este nuevo mecanismo se publicó en 1984, el material utilizado fue carne cisticercosa

decomisada de rastro en cuyo macerado se observaron estructuras redondas de diferentes diámetros (denominadas más tarde, posoncosferas) y que sirvieron para infectar a cerdos recién destetados, los resultados mostraron, en el cerdo que recibió 10 dosis de prednisona de 10 mg cada una, el hallazgo de formas vesiculares de 1mm que hicieron sospechar que se trataba de pequeños cisticercos en evolución, en la revisión microscópica de los cortes se encontraron, en músculo esquelético, cisticercos en diversos grados de evolución así como un cisticerco en ojo (60). Un segundo estudio, llevado a cabo bajo las mismas condiciones, pero usando en este caso dexametasona (Decadron), prednisona y ciclofosfamida a diferentes dosis y en diferentes lotes de cerdos se logró nuevamente, demostrar la presencia de cisticercos (61).

Con base en estos resultados y debido al hecho de que no se tiene la evidencia sobre la inmunosupresión provocada por los fármacos usados, que estarían favoreciendo la infección con posoncosferas, se plantea esta investigación con el objetivo de evaluar la supresión de la respuesta inmune en cerdos, humoral y celular, así como verificar la presencia de los cisticercos en los animales inmunosuprimidos con un fármaco, dexametasona, e infectados con posoncosferas.

## **HIPOTESIS**

La inmunodepresión en el cerdo favorece el desarrollo de la cisticercosis por infección con posoncosferas.

## **OBJETIVO GENERAL**

Evaluar la supresión de la respuesta inmune natural e inducida en cerdos infectados con huevos y posoncosferas de *Taenia solium*.

## **OBJETIVOS ESPECIFICOS**

Suprimir la respuesta inmune con dexametasona.

Infectar a los cerdos con huevos y posoncosferas de *T. solium*.

Evaluar la supresión de la respuesta inmune humoral, por hemaglutinación indirecta y ELISA.

Evaluar la supresión de la respuesta celular, por medio del índice mitótico y la cinética de proliferación celular.

Comprobar la infección.

## **MATERIAL Y METODO.**

### **1.- Animales**

Se utilizaron diez cerdos, de 30 días, raza York-Landrace, comprados a la granja controlada de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM y se mantuvieron en las instalaciones de la misma facultad en condiciones óptimas de alimentación, durante todo el experimento. Antes de comenzar el estudio se les tomó una muestra de sangre para serología contra cisticercos, la cual resultó negativa.

### **2.- Obtención de huevos de *Taenia solium***

Se obtuvo un estróbilo de *Taenia sp.*, por tamizado de heces de una paciente que había recibido tratamiento antihelmíntico (Niclosamida). Se lavó varias veces con agua hervida estéril y después se mantuvo en solución salina isotónica estéril, 0.85 %. Los proglótidos grávidos fueron seleccionados de la región terminal del estróbilo y a falta de escólex se hizo la identificación contando el número de ramas uterinas, para ello se aclararon con alcohol formol ácido-acético (AFA) y más tarde se tiñeron con tricrómico de Gomori. El conteo de las ramas uterinas estuvo en el rango de 8 a 10, con lo cual se logró identificar como *Taenia solium*. Los proglótidos grávidos se colocaron en solución salina isotónica estéril 0.85 % y con agujas de disección y pinzas sin dientes se extrajeron los huevos de las ramas uterinas; comprobada su integridad se contaron en cámara de Neubauer.

### **3.- Obtención de las posoncosferas**

Para obtener las posoncosferas se utilizaron 300 gramos de carne de cerdo, fresca, sin refrigerar, se cortaron en trozos pequeños y se colocaron en frascos de boca ancha con solución salina isotónica estéril (0.85 %); se dejaron en refrigeración durante 16 horas a una temperatura de 5°C. Al término de este tiempo se filtraron a través de cuatro capas de gasas para obtener solo el líquido, éste fue centrifugado durante 5 minutos a 2000 rpm; se decantó el sobrenadante y del sedimento se tomó una muestra con pipeta de Thoma para leucocitos, diluyéndose con lugol, para la observación y conteo de las posoncosferas en el hemocitómetro.

### **4.-Esquema de inmunosupresión en los cerdos**

El esquema de supresión que se utilizó en los cerdos para facilitar la infección por posoncosferas y desarrollarse, éstas, hasta la fase de cisticerco se llevó a cabo en tres cerdos que fueron inyectados por vía intramuscular con Dexametasona a razón de dos dosis semanales durante ocho semanas, las dosis fueron en aumento en relación al incremento de peso de los animales. Las dosis experimentales se muestran en la Tabla 1.

Esquema de inmunosupresión con dexametasona.

<b>SEMANA</b>	<b>1ª DOSIS</b>	<b>2ª DOSIS</b>
1	60 mg	80 mg
2	100 mg	120 mg
3	140 mg	160 mg
4	180 mg	200 mg
5	220 mg	240 mg
6	260 mg	280 mg
7	300 mg	320 mg
8	340 mg	360 mg

Se incluyó un animal testigo inmunosuprimido y no infectado. Con este animal se siguió el mismo esquema de inmunosupresión.

## **5. Infección de los animales.**

5.1 Dos animales fueron infectados con una dosis única de 50,000 huevos de *Taenia solium*, por vía oral, con cánula y resuspendidos en solución salina isotónica 0.85 %, para evitar el rechazo y asegurar la infección. Se incluyeron además dos cerdos como testigos sanos que no recibieron ningún tratamiento ni fueron infectados.

5.2 Dos animales fueron infectados con posoncosferas, con una dosis de  $44 \times 10^{-6}$  por ml, por vía oral, dos veces por semana, durante ocho semanas, estos animales comieron la carne que se utilizó para obtener las posoncosferas y no recibieron tratamiento con el corticosteroide.

5.3 Tres cerdos fueron infectados con posoncosferas, recibieron las mismas dosis que los cerdos del experimento anterior, al mismo tiempo fueron inyectados por vía intramuscular con dexametasona, dos veces por semana, durante ocho semanas. Estos animales también comieron la carne que se utilizó para obtener las posoncosferas.

## **6. Evaluación de la respuesta inmune.**

6.1 Respuesta inmune humoral.

6.2 Respuesta inmune celular.

La respuesta inmune humoral se evaluó por medio de dos métodos:

6.1.1 Hemaglutinación indirecta .

6.1.2 Ensayo inmunoenzimático (ELISA).

6.1.1. Hemaglutinación indirecta: se usaron cuatro antígenos elaborados con cisticercos obtenidos de cerdos parasitados: antígeno somático completo (ASC), antígeno somático incompleto (ASI), antígeno de fluido vesicular (FV) y antígeno de secreciones y excreciones (ES).

Para ambas pruebas se tomaron 5 ml de sangre, por punción yugular, la sangre se dejó coagular a temperatura ambiente, se separó el suero por centrifugación y se guardó en congelación hasta su uso.

#### 6.1.1.1 Obtención de los antígenos para la prueba de hemaglutinación indirecta.

Obtención de los cisticercos.

Para obtener los antígenos usados en la prueba de hemaglutinación se utilizó carne de cerdo parasitada con larvas de *Taenia solium* decomisada en el rastro. Los cisticercos se obtuvieron por disección y se lavaron varias veces en solución salina isotónica (0.85%). Hecha la recolección completa de las larvas, se sometieron a tratamiento antimicrobiano, colocándolas en solución salina isotónica con penicilina (1,000,000 u/ml) y estreptomocina (1.0 g), durante una hora. Posteriormente se lavaron varias veces con el fin de eliminar los antibióticos. La cantidad de cisticercos relavados se dividió en cuatro lotes para la obtención respectiva de cada uno de los antígenos.

#### 6.1.1.2 Antígeno somático: completo e incompleto.

Preparación de antígeno somático completo por el método de sacarosa-acetona (62).

Las larvas se liofilizaron, pesaron y trituraron en un mortero. El material se resuspendió en una pequeña cantidad de sacarosa 0.24 M, se pasó al vaso del homogenizador agregando el resto de la sacarosa hasta tener un volumen de 100 ml por gramo de larvas (peso seco). La mezcla se homogenizó durante tres min. en baño

helado. Se colocaron 800 ml de acetona fría a  $-20^{\circ}\text{C}$  por cada 50 ml. de la suspensión de sacarosa. El homogenizado se aspiró con jeringa de 50 ml y aguja del N° 16. Se depositó lentamente por debajo de la superficie de acetona, se tapó y agitó vigorosamente durante un minuto. Se dejó reposar en baño helado durante 15 min. Se aspiró el sobrenadante turbio de acetona y se agregó acetona fría, en igual cantidad al volumen inicial; se agitó enérgicamente durante unos minutos y se dejó reposar en baño helado durante una hora. Pasado este tiempo, se aspiró con bomba de vacío la mayor cantidad de acetona posible, para resuspender el sedimento en 200 ml de acetona, agregando primero un pequeño volumen de ésta y agitando, para desprender algunas partículas adheridas en el fondo y las paredes del frasco, el material se homogenizó para obtener una suspensión fina y se depositó en botellas de centrifuga de 250 ml. Se centrifugó a 300 g durante 15 minutos a  $4^{\circ}\text{C}$ , colocando tapones de hule a las botellas. El sobrenadante se decantó con cuidado y los frascos con el sedimento se colocaron en baño helado para ser secados posteriormente con bomba de vacío a  $-70^{\circ}\text{C}$  durante dos horas. El polvo así obtenido se resuspendió en solución salina amortiguada de fosfatos, pH 7.2, estéril y fría en proporción de 40 ml por gramo de larvas. Esta suspensión se pasa a un baño helado en el cuarto frío durante toda la noche (16 horas) con agitación constante. Al día siguiente se centrifugó a 300 g en centrifuga refrigerada a  $4^{\circ}\text{C}$ , durante una hora. En el sobrenadante obtenido se determinó el contenido de proteínas por el método de Lowry (63), y el de carbohidratos por el método de la antrona (64). Cuando el contenido de carbohidratos fue muy elevado ( mayor de 100  $\mu\text{g}/\text{dl}$ ) se efectuó una diálisis del antígeno contra amortiguador de boratos, pH 8.4, a  $4^{\circ}\text{C}$ , durante varios días, cambiando la solución de dialisis 2 o 3 veces al día, hasta obtener una concentración de carbohidratos menor de 100  $\mu\text{g}/\text{dl}$ . Una vez que se obtuvo dicha concentración, se determinó nuevamente el contenido de proteínas por el método anteriormente citado, ajustando la concentración protéica a 3.0 mg/ml y envasando

en alícuotas de 1.0 ml en frascos de vidrio que se etiquetaron. Antes de envasar el antígeno se añadió azida de sodio como preservador ( 0.1 mg/dl) y se almacena a 4° C.

Para obtener el antígeno somático incompleto se utilizó el mismo método, pero el antígeno se obtuvo solamente del escólex.

#### 6.1.1.3 Preparación de antígeno de fluido vesicular.

Para obtener el antígeno de fluido vesicular, se les extrajo a los cisticercos el líquido vesicular, rompiendo la membrana con una aguja de disección y se recibió el líquido en un matraz. Este procedimiento se efectuó en condiciones de esterilidad. Se realizó la determinación de proteínas por el método de Lowry, ajustando la concentración final a 3.0 mg/ml de proteínas, se adicionó azida de sodio como conservador (0.1 mg/dl). Se envasó en frascos de vidrio estériles, en alícuotas de 1.0 ml se etiquetaron y almacenaron a 4° C.

#### 6.1.1.4 Preparación de antígeno de excreciones y secreciones.

Para obtener los antígenos de excreciones y secreciones, los cisticercos se incubaron a una temperatura de 37°C durante 22 horas en solución salina isotónica, añadiendo 0.1 ml por cada cisticerco. Debido a que las larvas eran viables, hubo durante este lapso la producción de cierto tipo de sustancias metabólicas con poder antigénico, las cuales se liberaron durante la incubación en la solución salina isotónica. Se separaron los cisticercos de la solución de incubación la que se consideró el antígeno de excreciones y secreciones. Se determinó la concentración de proteínas por el mismo método utilizado anteriormente. Se ajustó el contenido protéico a 3.0 mg/ml. Se añadió azida de sodio como preservador ( 0.1 mg/dl ). El antígeno se envasó en frascos de vidrio, en alícuotas de 1.0 ml se etiquetaron y almacenaron a 4°C hasta su uso.

#### **6.1.1.5 Hemaglutinación indirecta.**

La hemaglutinación indirecta se llevó a cabo en el Laboratorio de Inmunoparasitología del Departamento de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Medicina, UNAM (65).

##### **6.1.1.5.1 Tanado de glóbulos rojos.**

Los glóbulos rojos suspendidos en citrato de sodio al 3.8%, se lavaron tres veces con amortiguador, pH 7.2 y se centrifugaron a 3000 rpm durante 5 minutos cada vez. Se midió el paquete y se ajustó a una suspensión al 2.5 %, agregando 4.0 ml de PBS, pH 7.2 por cada 0.1 ml de glóbulos rojos. Se agregó un volumen igual de ácido tánico (1:20,000), se incubó la mezcla en baño María a 37°C durante 15 min y se centrifugaron a 2000 rpm durante 5 min, se decantó el sobrenadante, se resuspendió con PBS, pH 7.2 y se volvió a centrifugar. Se decantó y se midió el paquete de glóbulos rojos, ajustando a una suspensión de 2.5% con PBS, pH 6.4. Se guardaron en refrigeración a 4°C hasta su uso.

##### **6.1.1.5.2 Sensibilización de glóbulos rojos con antígeno.**

Los glóbulos rojos tanados se sensibilizaron con el antígeno agregando un volumen igual de la dilución óptima de antígeno en PBS, pH 6.4. Se incubó la mezcla en baño maría a 37°C, durante 15 min. Se retiraron las células del baño de agua y se centrifugó durante 5 min a 2,000 rpm. Se decantó el sobrenadante y se lavaron las células otras dos veces por centrifugación a 2,000 rpm por 5 min con suero normal de conejo al 1%, diluido en PBS 7.2; se volvieron a lavar por centrifugación 10 min, para obtener el paquete de glóbulos rojos. Se ajustó el paquete de células a una suspensión de 1.5% en suero normal de conejo diluido en PBS, pH 7.2. Esta suspensión es la que se empleó en las pruebas.

#### 6.1.1.5.3 Determinación de la concentración óptima de antígeno.

Se prepararon cuatro diluciones del antígeno en amortiguador, pH 6.4 : 1:20, 1:40, 1:80, 1:160. Se sensibilizaron glóbulos rojos con cada dilución de antígeno, siguiendo los primeros cinco pasos del inciso anterior. Se probaron con un suero positivo y otro negativo cada una de las diluciones. La más baja dilución de antígeno que dió el título más elevado con el suero inmune y no reaccionó con el suero negativo se consideró el óptimo.

#### 6.1.1.5.4 Prueba de hemaglutinación indirecta.

Se inactivaron los sueros problema a 56°C durante 30 minutos. A todos los pozos de fondo en "U" de la placa de microtitulación se les agregaron con una micropipeta, 0.05 ml de suero normal de conejo al 1% en PBS, pH 7.2. Se cargó el microtitulador de 0.05 ml con suero problema y se colocó en el primer pozo; se mezcló completamente y se transfirieron 0.05 ml al siguiente pozo, repitiendo este proceso hasta el último pozo de la hilera, de donde se descartaron 0.05 ml. A cada dilución del suero se le agregaron con una micropipeta, 0.025 ml de la suspensión de glóbulos rojos al 1.5%. Se colocó la placa en un vibrador o rotor, de 1 a 3 min. Se dejó reposar la placa a temperatura ambiente durante 2 a 3 h. Después de este tiempo se hizo la lectura de los resultados: la máxima dilución en la que se presentó aglutinación indicó el título de anticuerpos existentes en la muestra.

### **6.1.2 Inmunoensayo enzimático.**

El antígeno se preparó con larvas de *T. solium* de carne parasitada decomisada de rastro, a una concentración de 350 ug/mg.

#### **6.1.2.1 Técnica**

- Preparar un volumen suficiente de antígeno a una concentración adecuada. El orden de concentración puede ser entre 1-5ug/ml en buffer de carbonatos.
- Agregar 250 ul de antígeno por pozo. Incubar 3 horas a 37°C o bien, 16 horas a 4°C.
- Eliminar el sobrenadante y añadir 250ul de albúmina sérica bovina al 0.5% resuspendida en buffer de carbonatos a todos los pozos. Incubar a 37°C durante 30-40 minutos.
- Decantar el sobrenadante y lavar la placa 3 veces con PBS Tween al 0.05% 3 minutos cada vez con agitación.
- Añadir 100ml de las diluciones de los antisueros hechos en PBS Tween 0.05% en los pozos designados previamente, excepto en la corrida A1-H1, donde se añadirá PBS Tween. Incluir control positivo y control sustrato y conjugado.
- Incubar a 37°C durante 30 minutos, decantar el sobrenadante y lavar 3 veces.
- Agregar 100 ul de la dilución óptima del conjugado (antigamaglobulina-peroxidasa). A los pozos blanco y de sustrato agregar PBS Tween 0.05%. Incubar la placa a 37°C.
- Eliminar el sobrenadante y lavar.
- Añadir solución de sustrato (250 ul por pozo), a todos los pozos e incubar a temperatura ambiente durante 40 minutos, en oscuridad, resuspender en ortophenilendiamina (Sigma) 0.4 mg/ml. Al momento de agregar el sustrato se adicionan 2ul/ml de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 3%.
- Detener la actividad enzimática con 25 ul/pozo de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2.5 .

Leer en lector de microelisa con filtro 490nm.

## **6.2 Respuesta inmune celular**

Para evaluar la respuesta celular, después de cada tratamiento, los diez animales fueron sangrados una vez por semana, durante 15 semanas. Para el cultivo de linfocitos, se tomaron 5 ml de sangre por punción de la vena yugular con jeringas heparinizadas estériles. Los cultivos de linfocitos se hicieron por duplicado en tubos cónicos de 15 ml, estériles. En cada uno se colocaron 0.5 ml de sangre completa, se agregaron 0.6 ml de medio de cultivo RPMI-1640, suplementado con 1 ml de L-Glutamina y 1 ml de aminoácidos no esenciales por cada 100 ml de medio. Se agregaron 0.3 ml de 5-bromodesoxiuridina (BrdU), como marcador. Se estimularon con 0.2 ml de fitohemaglutinina y se incubaron a 37°C, en oscuridad, durante 48 horas. Dos horas antes de cosechar la células se adicionaron 0.2 ml de colchicina y se incubaron otras 2 horas. Completadas las 48 h los cultivos se centrifugaron durante 10 min a 1200 rpm, se eliminó el sobrenadante y las células se resuspendieron en un vortex hasta tener una suspensión homogénea y sosteniendo el tubo en el vortex, se agregaron 5 ml de KCl 0.075 M a 37°C, para separar los cromosomas. Las células se volvieron a incubar por 30 minutos a 37° C. Pasado este tiempo se centrifugaron 10 min a 1200 rpm. se eliminó el sobrenadante y se fijaron con una solución de metanol-ácido 3:1. Las células se lavaron varias veces con el fijador hasta observar que el botón se encontrara limpio de eritrocitos. Se dejaron 24 horas en fijador a 4°C, después de este tiempo se volvieron a centrifugar por 10 min a 1200 rpm, se eliminó el sobrenadante y se agregaron 0.5 ml de fijador, procediendo de inmediato a la preparación de las laminillas.

Para evaluar los resultados, se depositaron con pipeta Pasteur en cada portaobjetos 2 o 3 gotas del material, previamente resuspendido y se secaron a la flama. Se guardaron, en oscuridad, por 24 horas. Pasado este tiempo, se tiñeron de

acuerdo a la técnica de fluorescencia más Giemsa. Se determinó el índice mitótico, cinética de proliferación celular e índice de replicación. El índice mitótico representa la proporción de células en mitosis entre 2000 células contadas. Su valor se obtiene utilizando la siguiente fórmula:

$$I.M. = N^{\circ} \text{ total de metafases} / 20,000 \text{ núcleos totales.}$$

La cinética de proliferación celular se evaluó en las primeras 100 metafases observadas a 100X, se determinó la proliferación de acuerdo con su patrón de tinción como M1 si se dividieron una vez, M2 si se dividieron dos veces y M3 si se dividieron tres veces y el índice de replicación se calculó de acuerdo a la fórmula:

$$I.R. = 1(\# \text{ de M1}) + 2(\# \text{ de M2}) + 3(\# \text{ de M3}) / 100. \quad (66).$$

El fundamento de esta técnica consiste en que cuando una población celular crece en presencia de BrdU, las células que han duplicado una vez su ADN, incorporan el análogo en una de las hebras de la molécula en ambas cromátidas (sustitución monofilar). Después de teñirse por fluorescencia más Giemsa, se observa al microscopio un patrón de coloración oscuro en ambas cromátidas de todos los cromosomas (M-1). Cuando las células han pasado por un segundo ciclo de duplicación, una cromátida de cada cromosoma ha incorporado en sus dos hebras el análogo (sustitución bifilar), mientras la otra lo ha hecho sólo en una. En el microscopio se observa una cromátida más clara que la otra en todos los cromosomas metafásicos (M-2). Finalmente, cuando las células han duplicado su ADN tres o más veces, presentan cromosomas de dos tipos: con ambas cromátidas sustituidas bifilarmente, por lo tanto se ven ambas claras al microscopio y aquellas que tienen una sustituida monofilamente (oscura) y una bifilarmente sustituida y por lo tanto clara (M-3). De esta forma se puede evaluar en un cultivo el porcentaje de células que se han dividido una, dos y tres o más veces, con lo que se pueden calcular algunos índices que dan información acerca de la historia duplicativa de las poblaciones celulares (67).

#### **7. Sacrificio de los animales: controles y los que recibieron tratamiento.**

Al término de la fase de experimentación, todos los animales se sacrificaron, con choque eléctrico, en la sala de Patología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM. Durante la necropsia, se hizo una minuciosa revisión macroscópica de cada animal, para la búsqueda de cisticercos. Al mismo tiempo, se tomaron muestras de cerebro, lengua, espaldillas, músculos intercostales, piernas, corazón y pulmones; se pesaron porciones de 250 g o menos según el órgano para la cuantificación de cisticercos y búsqueda en fresco y por histopatología de posoncosferas.

#### **Análisis Estadístico.**

Para analizar el índice mitótico y el índice de replicación, se aplicó la prueba de t de Student para muestras independientes con varianza heterogénea y la prueba de ji cuadrada para determinar las diferencias, en semanas entre los animales controles y los sometidos a los diferentes tratamientos (68).

## **RESULTADOS.**

### **Respuesta inmune humoral.**

#### **1.- Hemaglutinación Indirecta**

Por medio de este método, los diez animales se evaluaron al comienzo de la investigación y después a partir de la sexta semana. Se consideraron como títulos positivos los correspondiente a 1:16 en adelante. En las Tablas 1 y 2 se muestran los resultados obtenidos de los sueros de los cerdos testigos (cerdos A y B) en los que se observa que los títulos de anticuerpos para todos los antígenos y para todos los tiempos estudiados fueron negativos. Las tablas 3 y 4 muestran los resultados obtenidos con los sueros de los cerdos infectados con huevos de *Taenia solium* y que desarrollaron cisticercosis. Los títulos más altos se obtuvieron con el antígeno extraído del fluido vesicular, en ambos cerdos. El suero del cerdo C (macho) se encontró positivo a partir de la 14ª semana (1:64), mientras que en el D (hembra) este hecho ocurrió a partir de sexta semana, con el antígeno de fluido vesicular. El título más alto de anticuerpos para este animal (D) se encontró en la semana 14ª (1:128) y a la semana 17ª fué positivo para todos los antígenos (Tabla 4). Estos animales se sacrificaron a los 4 meses después de la infección, observando que tenían una carga parasitaria importante, aunque ésta fué más alta en la hembra parasitada en la que se encontraron 2500 cisticercos y en el macho sólo 206 larvas (Gráfica 1).

TABLA 1

Título de anticuerpos del cerdo testigo A.

SEMANA	ASC	ASI	FV	ES
0	1 : 4	1 : 4	1 : 4	1 : 4
6ª	1 : 4	1 : 4	1 : 4	1 : 4
9ª	1 : 4	1 : 4	1 : 8	1 : 4
11ª	1 : 8	1 : 4	1 : 8	1 : 8
14ª	1 : 8	1 : 4	1 : 8	1 : 8
16ª	1 : 8	1 : 4	1 : 8	1 : 4
17ª	1 : 8	1 : 4	1 : 8	1 : 4

TABLA 2

Títulos de anticuerpos del cerdo testigo B.

SEMANAS	ASC	ASI	FV	ES
0	1 : 4	1 : 2	1 : 4	1 : 4
6ª	1 : 8	1 : 4	1 : 8	1 : 8
9ª	1 : 4	1 : 4	1 : 8	1 : 4
11ª	1 : 8	1 : 4	1 : 8	1 : 8
14ª	1 : 8	1 : 4	1 : 8	1 : 8
16ª	1 : 8	1 : 8	1 : 8	1 : 8
17ª	1 : 8	1 : 4	1 : 8	1 : 4

ASC : Antígeno somático completo.

FV : Antígeno del fluido vesicular.

ES : Antígeno de excreciones y secreciones

ASI : Antígeno somático incompleto

TABLA 3

Título de anticuerpos del cerdo infectado con huevos de *T. solium* (C).

SEMANAS	ASC	ASI	FV	ES
0	1 : 2	1 : 2	1 : 4	1 : 4
6ª	1 : 4	1 : 8	1 : 8	1 : 4
9ª	1 : 4	1 : 4	1 : 8	1 : 4
11ª	1 : 4	1 : 4	1 : 8	1 : 4
14ª	1 : 8	1 : 4	1 : 64	1 : 8
16ª	1 : 4	1 : 4	1 : 8	1 : 4
17ª	1 : 8	1 : 8	1 : 16	1 : 16

TABLA 4

Título de anticuerpos del cerdo infectado con huevos de *T. solium*. (D)

SEMANAS	ASC	ASI	FV	ES
0	1 : 4	1 : 2	1 : 2	1 : 2
6ª	1 : 8	1 : 8	1 : 16	1 : 8
9ª	1 : 4	1 : 4	1 : 16	1 : 8
11ª	1 : 4	1 : 8	1 : 16	1 : 8
14ª	1 : 4	1 : 2	1 : 128	1 : 8
16ª	1 : 16	1 : 8	1 : 128	1 : 8
17ª	1 : 16	1 : 16	1 : 128	1 : 16

ASC : Antígeno somático completo.

ASI Antígeno somático incompleto

FV : Antígeno del fluido vesicular.

ES Antígeno de excreciones y secreciones

Los resultados de las pruebas serológicas por el método de hemaglutinación indirecta, de los dos cerdos que fueron infectados con posoncosferas, (cerdos E y F) y que además se alimentaron con la carne de la cual se obtuvieron éstas, se muestran en las Tablas 5 y 6. El cerdo E presenta títulos negativos hasta la 14ª semana. En la última semana al cumplir 4 meses de infección presenta títulos considerados positivos (1:16) con todos los antígenos excepto con el ASI, estos resultados se parecen a los encontrados en el cerdo D que fue infectado con huevos de *T.solium*, los sueros del cerdo F fueron negativos y aunque en la 14ª semana con el antígeno de excreciones y secreciones se observó un título de 1:16 que se considera positivo, se presentan títulos de 1:4 y 1:8 en las semanas siguientes. Ninguno de estos dos cerdos desarrollaron la enfermedad.

La Tabla 7 muestra los resultados de la serología del cerdo testigo inmunosuprimido con dexametasona, los títulos presentados fueron negativos durante toda la fase experimental.

En las Tablas 8, 9 y 10 se muestran los resultados obtenidos de los sueros de los tres cerdos (G, H e I) inmunodeprimidos con dexametasona e infectados con posoncosferas y alimentados con la carne de donde se obtuvieron éstas; estos tres animales no desarrollaron la cisticercosis, sin embargo, la serología muestra títulos semejantes a los observados en los cerdos cisticercosos. El cerdo G presenta títulos positivos en la 16ª y 17ª semana (1:16 y 1:32, respectivamente) con los antígenos ASC y FV y sólo de 1:16 con ASI y ES, en la 17ª semana. El suero del cerdo H, fué negativo hacia todos los antígenos hasta la semana 16ª y hacia el final del experimento presentó un título de 1:16, con los antígenos ASC, FV, y ES, considerándose como positivo. El suero del cerdo I presentó títulos positivos también hacia el final del experimento entre la 16ª y 17ª semana (1:16 y 1:32, respectivamente), con los antígenos ASC y FV. Estos animales, al igual que los del

grupo anterior, no desarrollaron la parasitosis y la revisión de los cortes histopatológicos resultó negativa.

TABLA 5

Título de anticuerpos del cerdo infectado con posoncosferas ( E ).

SEMANA	ASC	ASI	FV	ES
0	1 : 4	1 : 2	1 : 4	1 : 4
6ª	1 : 8	1 : 4	1 : 8	1 : 8
11ª	1 : 4	1 : 2	1 : 4	1 : 4
14ª	1 : 8	1 : 4	1 : 8	1 : 16
16ª	1 : 8	1 : 4	1 : 8	1 : 4
17ª	1 : 16	1 : 8	1 : 16	1 : 16

TABLA 6

Título de anticuerpos del cerdo infectado con posoncosferas ( F ).

SEMANA	ASC	ASI	FV	ES
0	1 : 4	1 : 2	1 : 4	1 : 4
6ª	1 : 8	1 : 4	1 : 8	1 : 8
11ª	1 : 4	1 : 2	1 : 4	1 : 4
14ª	1 : 8	1 : 4	1 : 8	1 : 16
16ª	1 : 8	1 : 4	1 : 8	1 : 4
17ª	1 : 8	1 : 8	1 : 8	1 : 8

ASC : Antígeno somático completo.

ASI : Antígeno somático incompleto.

FV : Antígeno del fluido vesicular.

ES : Antígeno de excreciones y secreciones.

TABLA 7

Título de anticuerpos del cerdo testigo para dexametasona.

SEMANA	ASC	ASI	FV	ES
0	1 : 4	1 : 2	1 : 4	1 : 4
6 <sup>a</sup>	1 : 4	1 : 4	1 : 8	1 : 8
11 <sup>a</sup>	1 : 4	1 : 2	1 : 4	1 : 4
14 <sup>a</sup>	1 : 2	1 : 2	1 : 2	1 : 2
16 <sup>a</sup>	1 : 8	1 : 4	1 : 8	1 : 4
17 <sup>a</sup>	1 : 8	1 : 8	1 : 4	1 : 8

ASC : Antígeno somático completo.

ASI : Antígeno somático incompleto.

FV Antígeno del fluido vesicular.

ES : Antígeno de excreciones y secreciones.

**TABLA 8**

**Título de anticuerpos del cerdo infectado con posoncosferas e inmunodeprimido con dexametasona ( G ).**

SEMANAS	ASC	ASI	FV	ES
0	1 : 4	1 : 2	1 : 4	1 : 4
6 <sup>a</sup>	1 : 16	1 : 4	1 : 16	1 : 16
11 <sup>a</sup>	1 : 8	1 : 2	1 : 4	1 : 4
14 <sup>a</sup>	1 : 4	1 : 2	1 : 4	1 : 4
16 <sup>a</sup>	1 : 16	1 : 8	1 : 16	1 : 8
17 <sup>a</sup>	1 : 32	1 : 16	1 : 32	1 : 16

ASC : Antígeno somático completo

ASI Antígeno somático incompleto.

FV : Antígeno del fluido vesicular.

ES : Antígeno de excreciones y secreciones.

TABLA 9

Título de anticuerpos del cerdo infectado con posoncosferas e inmunodeprimido con dexamatasona (H).

SEMANA	ASC	ASI	FV	ES
0	1 : 2	1 : 2	1 : 4	1 : 4
6 <sup>a</sup>	1 : 8	1 : 4	1 : 8	1 : 8
11 <sup>a</sup>	1 : 4	1 : 2	1 : 4	1 : 4
14 <sup>a</sup>	1 : 4	1 : 2	1 : 4	1 : 8
16 <sup>a</sup>	1 : 8	1 : 8	1 : 16	1 : 8
17 <sup>a</sup>	1 : 16	1 : 8	1 : 32	1 : 8

ASC : Antígeno somático completo

ASI Antígeno somático incompleto.

FV : Antígeno del fluido vesicular.

ES : Antígeno de excreciones y secreciones.

TABLA 10

Título de anticuerpos del cerdo infectado con posoncosferas e inmunodeprimido con dexametasona (I).

SEMANAS	ASC	ASI	FV	ES
0	1 : 4	1 : 2	1 : 4	1 : 2
6 <sup>a</sup>	1 : 8	1 : 4	1 : 8	1 : 8
11 <sup>a</sup>	1 : 4	1 : 2	1 : 4	1 : 4
14 <sup>a</sup>	1 : 4	NEG.	1 : 4	1 : 8
16 <sup>a</sup>	1 : 8	1 : 4	1 : 8	1 : 4
17 <sup>a</sup>	1 : 16	1 : 8	1 : 16	1 : 16

ASC : Antígeno somático completo

ASI : Antígeno somático incompleto.

FV : Antígeno del fluido vesicular.

ES : Antígeno de excreciones y secreciones.

## 2.- Ensayo inmunoenzimático (ELISA).

Los resultados de los sueros de los cerdos sometidos a los diferentes tratamientos que fueron evaluados a través de este ensayo se muestran en las gráficas 1 a la 6, las muestras se tomaron a partir de la semana 11ª hasta la 17ª, antes del sacrificio. El punto de corte se calculó al sumar la media más tres veces la desviación estándar de los valores de absorbancia del grupo control.

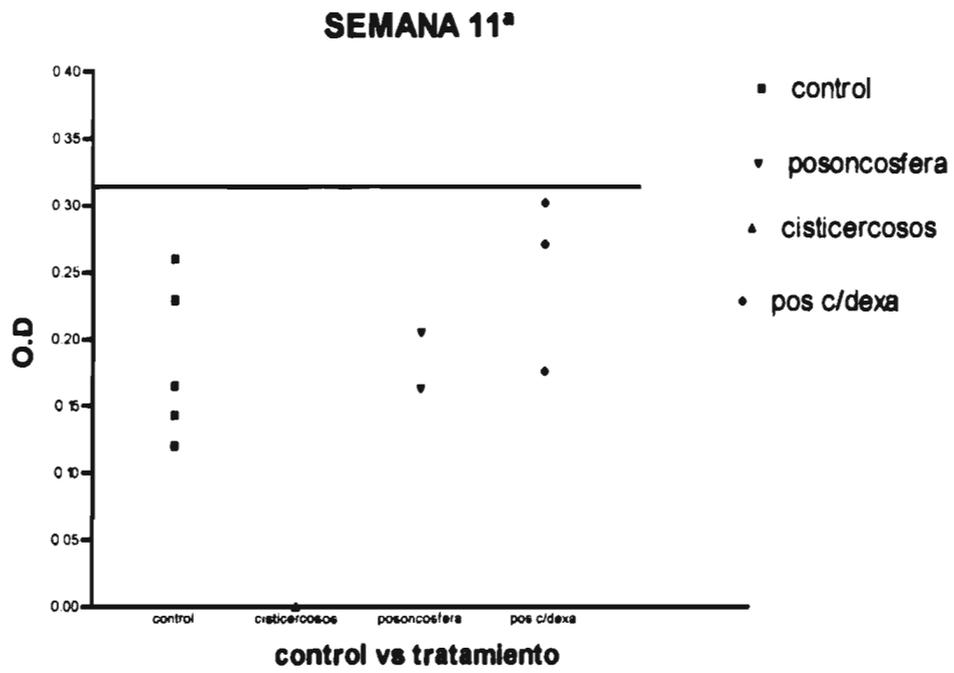
La gráfica 1 correspondiente a la semana 11ª muestra que todos los cerdos tratados fueron negativos. En la semana 14ª, gráfica 2, se observa que las absorbancias se incrementaron, aunque no son homogéneas en los dos cerdos infectados con huevos de *T. solium* y en los tres infectados con posoncosferas e inmunosuprimidos con dexametasona, en esta semana sólo uno de los cerdos que desarrolló la cisticercosis es positivo y el otro es negativo, mientras que de los tres cerdos infectados con posoncosferas e inmunosuprimido con dexametasona uno de ellos se comporta como el cerdo cisticercosis negativo y los otros dos son positivos; en esta semana sólo se evaluó el suero de uno de los cerdos infectados con posoncosferas. Los datos de la semana 16ª se muestran en la gráfica 3 los valores de absorbancia se ven aumentados, observándose que los dos cerdos infectados con posoncosferas y 2 de los infectados con posoncosferas más el inmunosupresor se comportan como uno de los cerdos cisticercosis.

En la semana 17ª como se observa en la gráfica 4, todos los animales se encuentran sobre el punto de corte, los valores de absorbancia de los animales infectados con posoncosferas y los infectados con estas formas más el glucocorticoide muestran valores relacionados a uno de los cerdos positivo a cisticercosis, el que presenta una absorbancia de 0.909.

En la gráfica 5 se muestran los valores de absorbancia obtenidos de los dos cerdos que se infectaron con huevos de *T. solium* y que desarrollaron la cisticercosis y en la

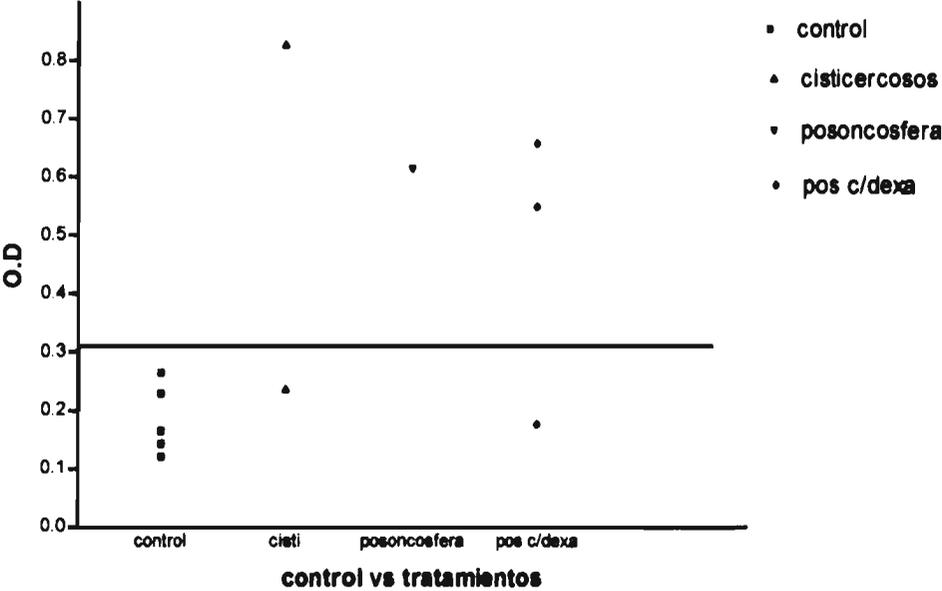
grafica 6 se observan los valores promedios de absorbancia de los tres animales infectados con posoncosferas e inmunosuprimidos con dexametasona, con respecto al control y a los cerdos que se infectaron con huevos de *T. solium*.

**Gráfica 1.**

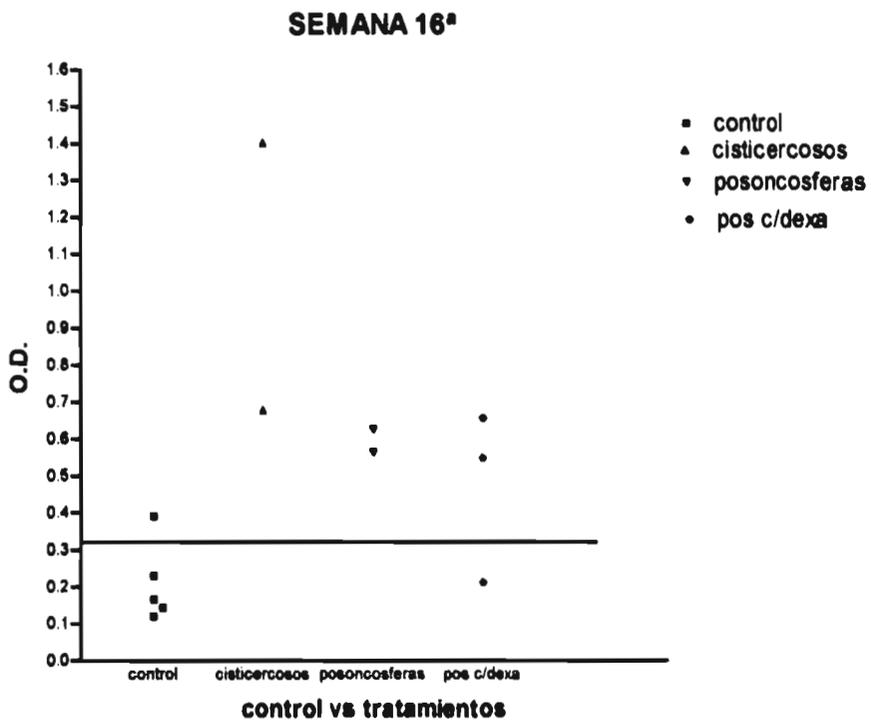


**Gráfica 2.**

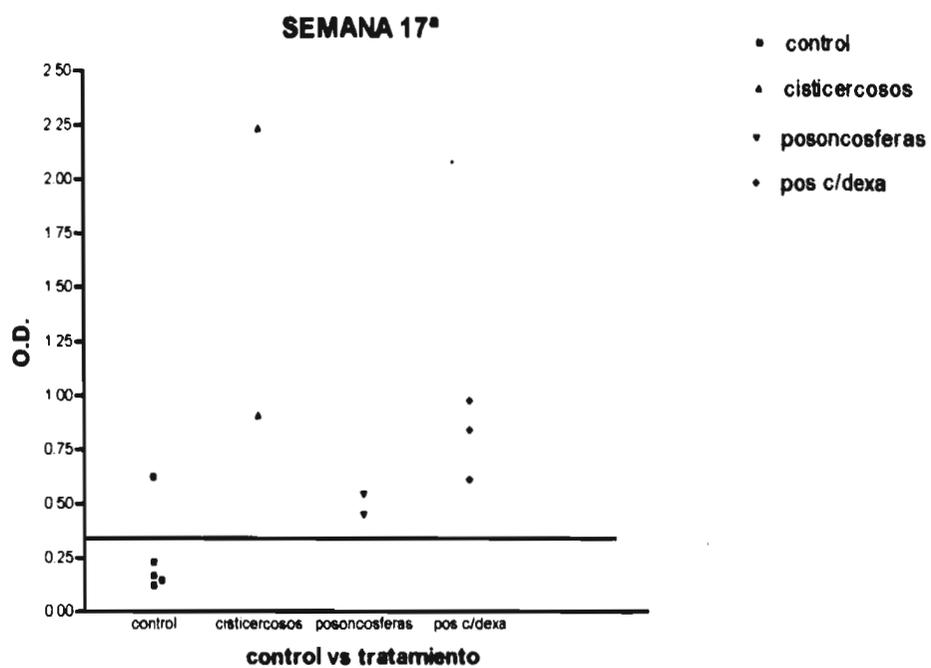
**SEMANA 14ª**



**Gráfica 3.**



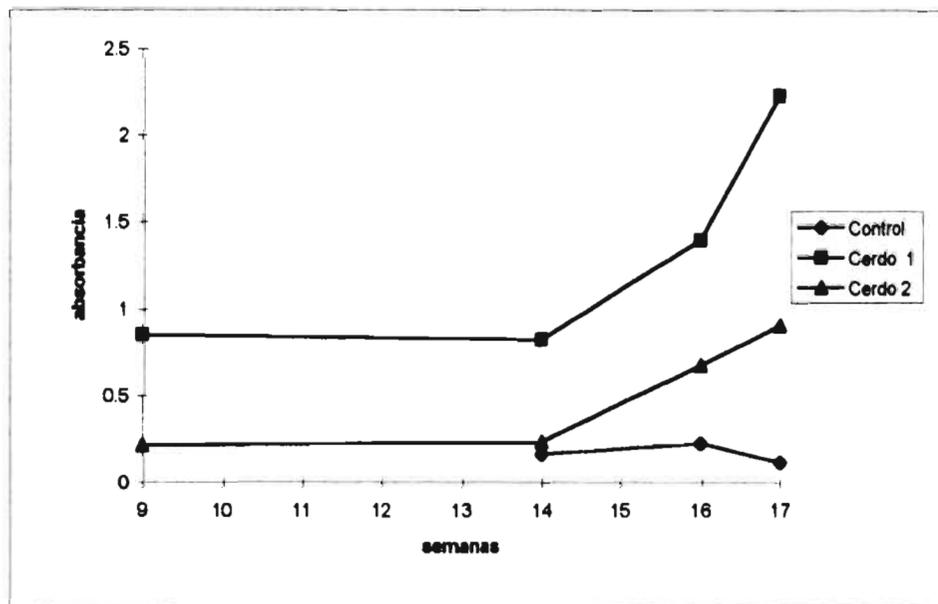
**Gráfica 4.**



GRAFICA 5

Valores de absorbancia en ELISA de sueros de cerdos controles vs los cerdos infectados con huevos de *T. solium*.

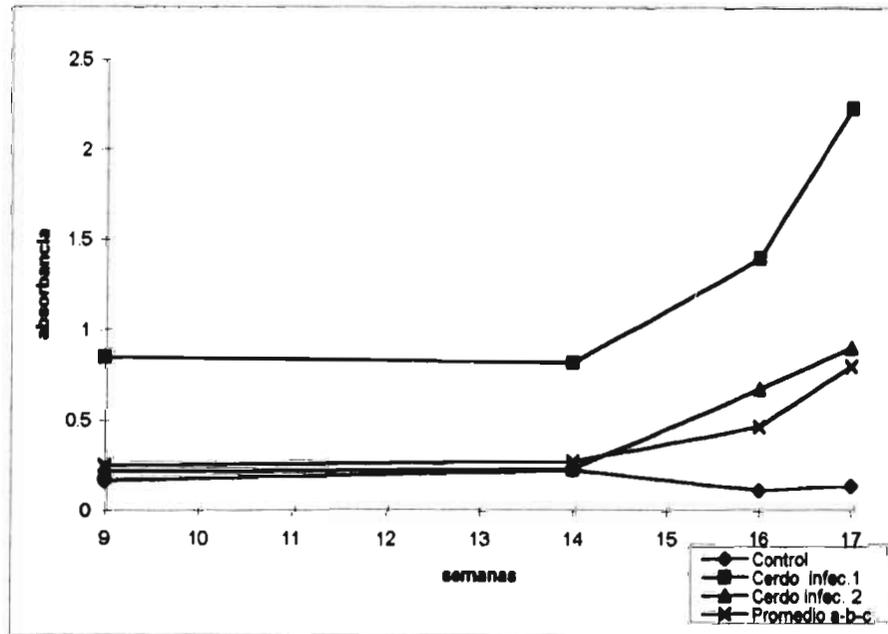
Semanas	Control	Cerdo 1	Cerdo 2
9	0.165	0.852	0.215
14	0.229	0.827	0.237
16	0.12	1.403	0.679
17	0.143	2.235	0.909



GRAFICA 6

Valores de absorbancia, en ELISA, de sueros de cerdos controles vs los sueros de los cerdos infectados con huevos de *T. solium* y el promedio de los valores de los cerdos infectados con posoncosferas e inmunodeprimidos con dexametasona.

Semanas	Control	Cerdo infec.1	Cerdo infec. 2	Promedio a-b-c.
9	0.165	0.852	0.215	0.249
14	0.229	0.827	0.237	0.28
16	0.12	1.403	0.679	0.472
17	0.143	2.235	0.909	0.808



## **Respuesta celular.**

### **Índice Mitótico ( I.M. )**

Los I.M. de los diez cerdos se presentan en las gráficas 1 a la 5, en las que se observa que la respuesta a la incorporación de BrdU entre los diferentes cerdos fue variable. La gráfica 1 muestra el promedio de los datos obtenidos de los dos cerdos testigos. En la gráfica 2 se muestran los valores del índice mitótico en los dos cerdos que se infectaron con huevos de *T. solium* y desarrollaron la cisticercosis. Las variaciones con respecto al primer valor correspondiente a la semana 0, considerado como valor promedio normal antes de la infección, son notorios y se observan disminuídos en las dos semanas subsiguientes a la infección, llegando casi a un 40% menos en la segunda semana; mientras que en las seis semanas siguientes estos valores se regularizaron e incluso se encontraron más elevados que el valor promedio normal (semanas 4, 6, 8 y 9) En la 10ª semana el I.M. disminuye considerablemente, para aumentar otra vez hacia el final del período experimental, aunque sin alcanzar los valores observados en la semana 0.

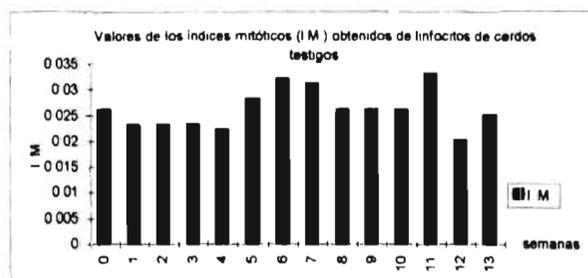
En la gráfica 3 se observan los promedios de los datos obtenidos de los dos cerdos que se infectaron con posoncosferas más la carne de la cual se obtuvieron éstas. Curiosamente el valor del I.M de las primeras semanas (0, 1, 2 y 3) se encuentran disminuídos con respecto a las siguientes semanas, aunque el valor más bajo se registró en la primera semana posinfección. A partir de la tercera semana estos animales se empiezan a recuperar ya que el porcentaje de células que están en mitosis se incrementa, aunque este incremento es variable ya que se eleva, como en las semanas 7 y 10, o baja como en las semanas 11 y 12.

En la gráfica 4 se muestran los datos obtenidos del I.M. del cultivo de linfocitos del cerdo que fue inmunodeprimido con dexametasona y no fue infectado, para poder

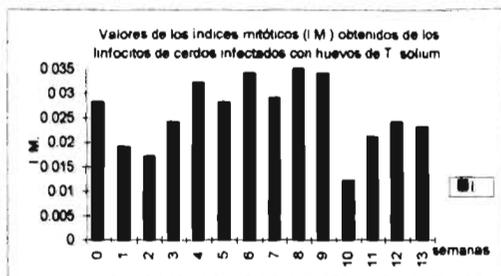
determinar como afecta el tratamiento inmunosupresor al I.M. En los valores obtenidos podemos observar que, solamente las tres primeras semanas muestran valores disminuídos respecto de la semana 0, los datos restantes aunque variables son mayores que el obtenido en la semana control.

En la gráfica 5 se muestran los valores promedio obtenidos del I.M. de los cerdos infectados con posoncosferas más dos dosis semanales de dexametasona, los porcentajes de los linfocitos que están en mitosis son variables y solamente el valor correspondiente a la primera semana después de la infección se observa disminuído (0.015). A diferencia de los valores obtenidos con los otros tratamientos estos datos son más homogéneos con respecto a la semana 0, el valor más alto corresponde a la semana 6; a partir de la novena semana se observan ligeramente disminuídos hasta llegar, en la semana 13, al valor obtenido en la semana control.

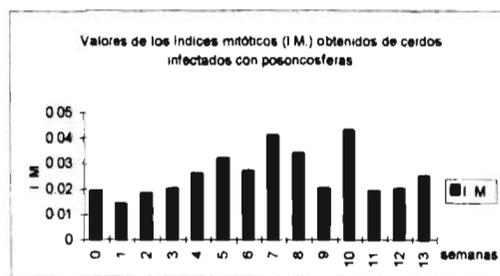
GRAFICA 1



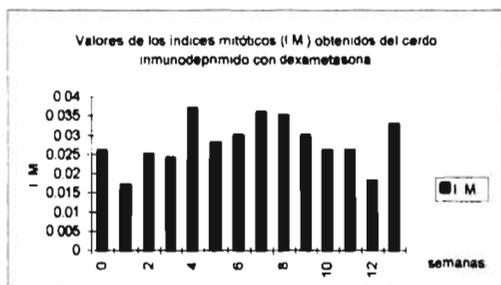
GRAFICA 2



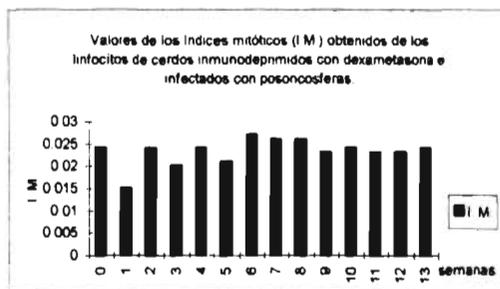
GRAFICA 3



GRAFICA 4



GRAFICA 5

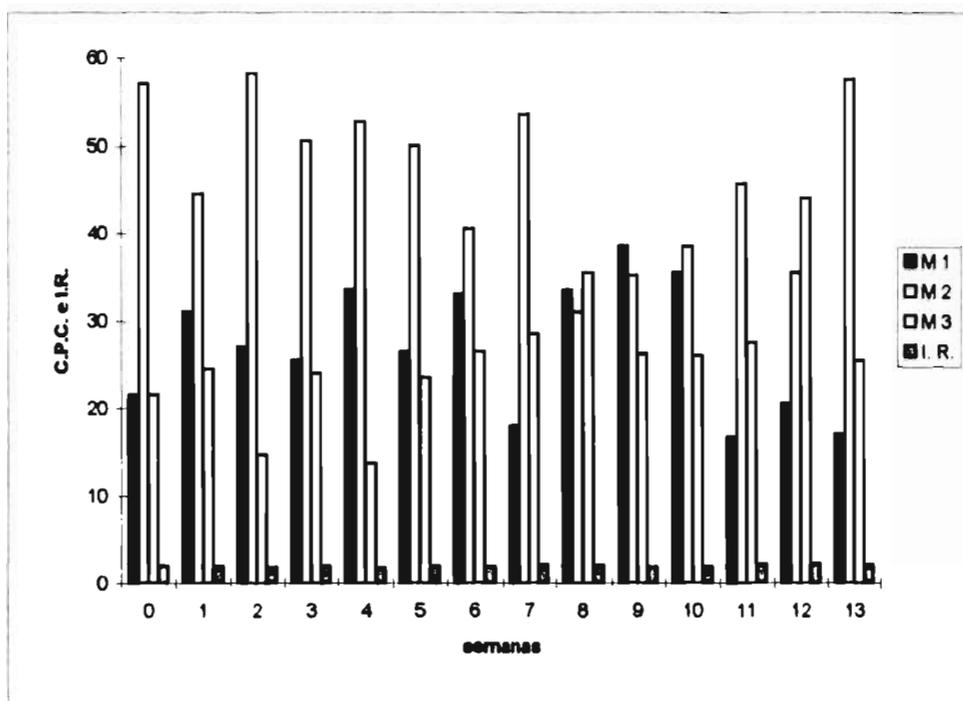


Linfocitos cultivados por 48 h, en presencia de PHA y 5-bromodesoxiuridina (BrdU).

### **Cinética de Proliferación Celular.**

La respuesta celular medida por la proliferación de linfocitos cultivados por 48 h en presencia de bromodesoxiuridina (BrdU) y estimulados con PHA, se muestra como los promedios de los valores, de las primeras (M1), segundas (M2) y terceras (M3) divisiones, así como del índice de replicación (I.R.). En la gráfica 6, se anotan los valores promedios de M1, M2 y M3 y el índice de replicación (I.R.) de los dos cerdos testigos. En la gráfica 7 se muestran los datos promedio de los dos cerdos que fueron infectados con huevos de *T. solium*, en estos animales los valores de M1 se encuentran incrementados en las semanas 1, 2 y 3 siguientes a la infección, indicando un retraso en la proliferación de los linfocitos, reflejándose este decremento en el I.R.. En las semanas siguientes los valores de M1 bajan debido a que los linfocitos se encuentran en la etapa de segunda división. Con respecto a la semana 0, considerado como el valor base, el I.R. es variable, la respuesta sólo se observa deprimida en las primeras tres semanas, la que se repite nuevamente en la semana 8, aunque en este caso se debe a un incremento de las células en segunda división y no a las que se encuentran en primera división.

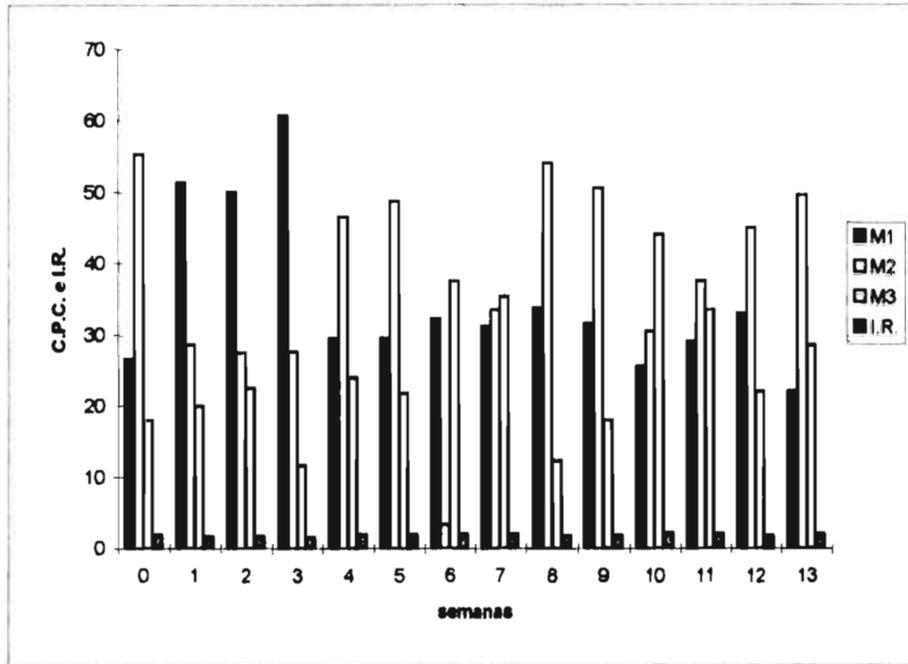
Gráfica 6.  
 Valores de las primeras (M1), segundas (M2), terceras (M3) divisiones e índice de replicación (I.R.) obtenidos de metafases de linfocitos de los cerdos testigos.



Linfocitos cultivados por 48 h en presencia de PHA y 5-bromodesoxiuridina (BrdU).

Gráfica 7.

Valores de las primeras (M 1), segunda (M2), terceras (M 3) divisiones e índice de replicación (I.R.) obtenidos de las metafases de linfocitos de cerdos infectados con huevos de *T. solium*.

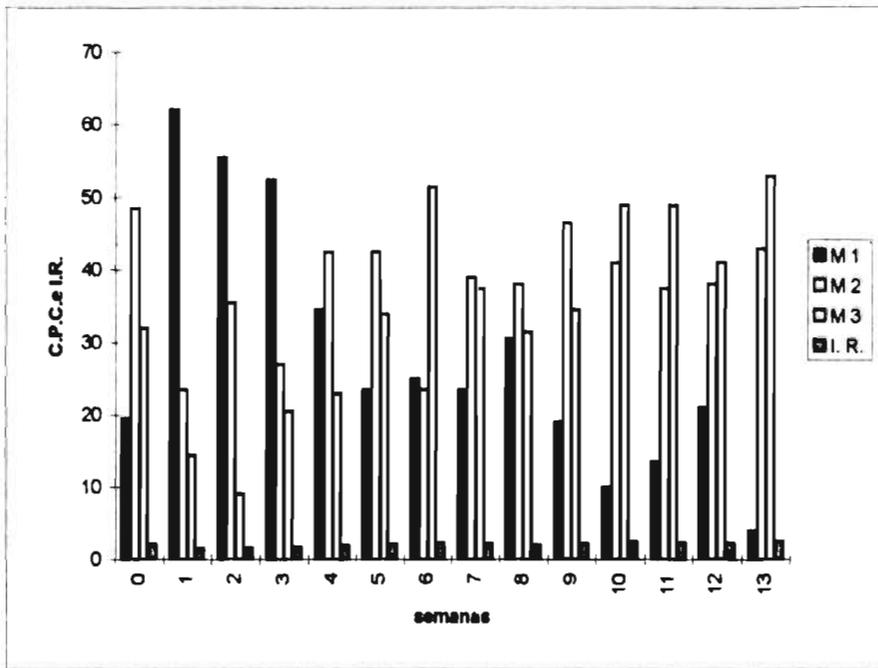


Linfocitos cultivados por 48 h en presencia de PHA y 5-bromodesoxiuridina (BrdU).

En la gráfica 8 se muestran los promedios de los datos de los dos cerdos que se infectaron con posoncosferas; la cinética de proliferación celular, como en el caso de los cerdos infectados con huevos de *T. solium*, se observa deprimida solo en las tres primeras semanas, nuevamente son las células en primera división las que denotan un retraso en la proliferación de los linfocitos, sin embargo a partir de la cuarta semana los valores de las segundas y las terceras divisiones son las que se encuentran incrementadas, los valores son variables de una semana a otra y el I. R. es más alto comparado con la semana 0.

Gráfica 8.

Valores de las primeras (M1), segundas (M2), terceras (M3) divisiones e índice de replicación (I.R.) obtenidos de las metafases de linfocitos de cerdos infectados con posoncosferas



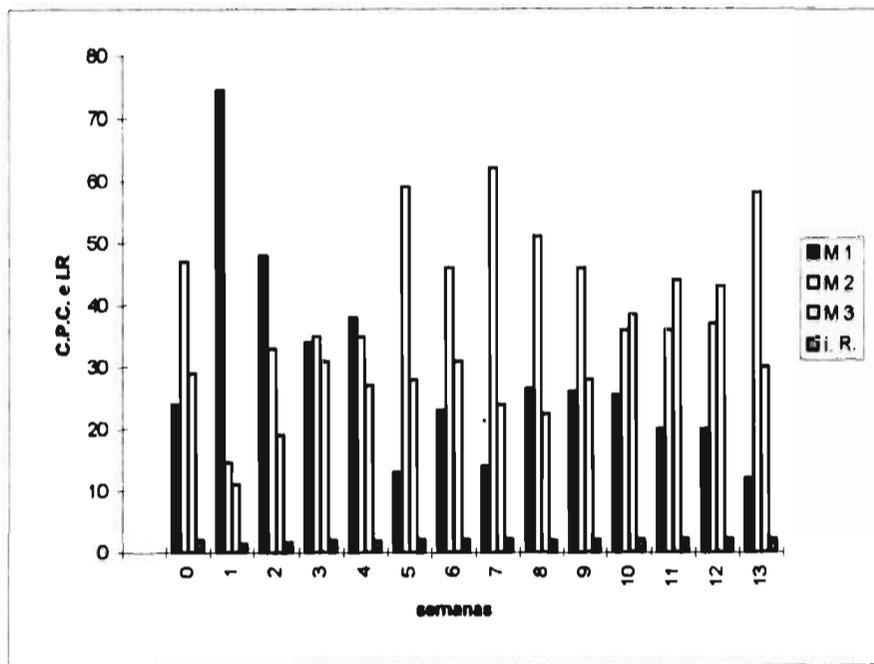
Linfocitos cultivados por 48 h en presencia de PHA y 5-bromodesoxiuridina (BrdU).

En la gráfica 9 se muestran los valores del cerdo control inmunosuprimido con dexametasona, como en los casos anteriores la respuesta celular solo se ve deprimida en las primeras cuatro semanas, siendo más acentuada en la primera semana, en que se observa una mayor proporción de linfocitos en primera división, en las semanas subsiguientes se aprecia un aumento en la velocidad de división de los linfocitos, debido principalmente a las células encontradas en segunda división.

En la gráfica 9 se muestran los valores del cerdo control inmunosuprimido con dexametasona, como en los casos anteriores la respuesta celular solo se ve deprimida en las primeras cuatro semanas, siendo más acentuada en la primera semana, en que se observa una mayor proporción de linfocitos en primera división, en las semanas subsiguientes se aprecia un aumento en la velocidad de división de los linfocitos, debido principalmente a las células encontradas en segunda división.

Gráfica 9.

Valores de las primeras (M1), segundas (M2), terceras (M3) divisiones e índice de replicación (I.R.) obtenidos de las metafases de linfocitos de cerdos inmunosuprimidos con dexametasona.

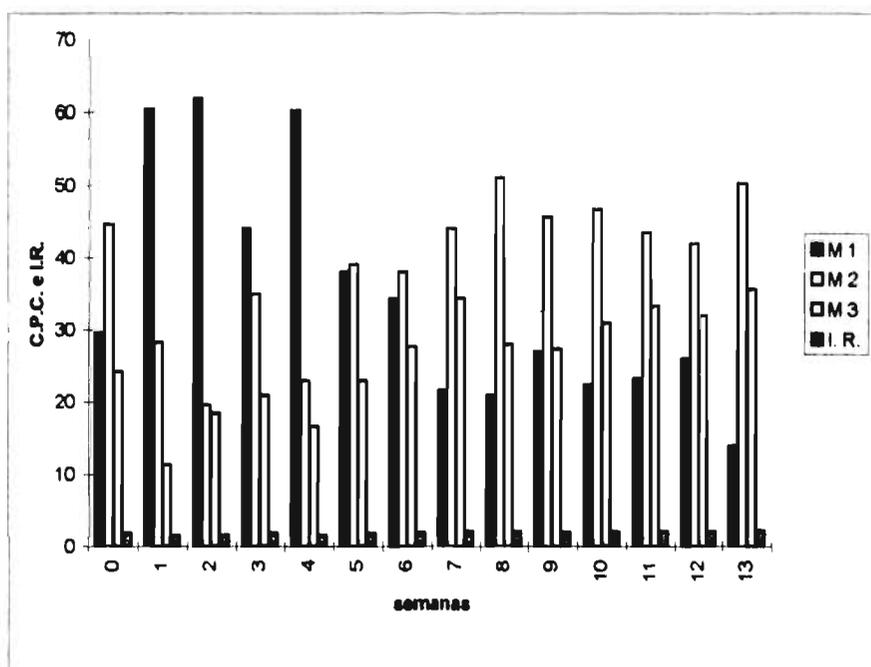


Linfocitos cultivados por 48 h en presencia de PHA y 5-bromodesoxiuridina (BrdU).

En la gráfica 10 se observan los promedios de los valores de los tres cerdos que se infectaron con posoncosferas y se inmunodeprimieron con dexametasona; el retraso en la división celular solo se observa en las semanas 1 a la 4., mostrando por lo tanto, un I.R. más bajo que en la semana 0, a partir de sexta semana el I.R. se eleva y se mantiene hasta el final de la experimentación, debido al incremento de los linfocitos que estaban en segunda división, a las 48 h de cultivo.

Gráfica 10.

Valores de las primeras (M1), segundas (M2), terceras (M3) divisiones e índice de replicación (I.R.) obtenidos de las metafases de linfocitos de cerdos infectados con posoncosferas e inmunosuprimidos con dexametasona.



Linfocitos cultivados por 48 h en presencia de PHA y 5-bromodesoxiuridina (BrdU).

Resumiendo los datos del I.M. y de la cinética de proliferación celular, se puede observar que las primeras metafases están elevadas en las primeras semanas.

Los cerdos infectados con posoncosferas no desarrollaron cisticercosis.

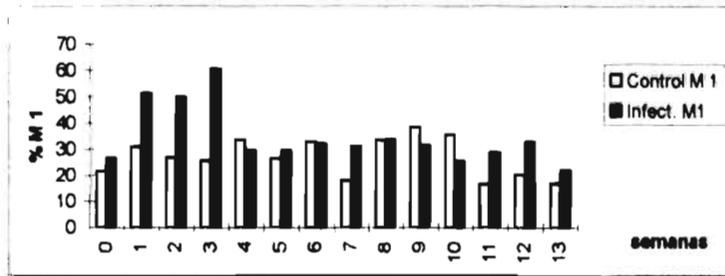
Los tres cerdos infectados con posoncosferas e inmunosuprimidos con dexametasona no desarrollaron cisticercosis.

El cerdo que fue sometido a la inmunosupresión con dexametasona, un fármaco que ha probado ser un potente inmunosupresor y que nos sirvió como control de inmunosupresión, muestra una sensible baja en la proliferación de linfocitos sólo en las primeras cuatro semanas, mostrándose sin alteraciones en las siguientes semanas, tanto en el índice mitótico como en la cinética de proliferación celular.

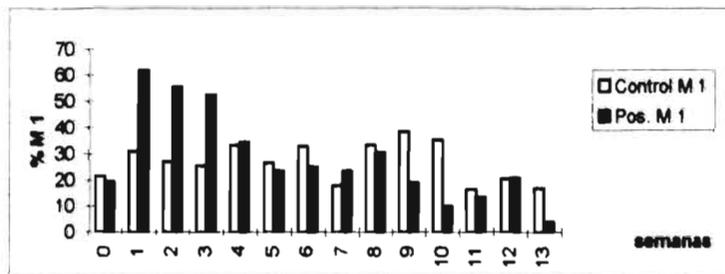
En la gráfica 11 se observan los resultados del análisis estadístico aplicando la prueba de t de Student para muestras independientes con varianza heterogénea se observan diferencias significativas sólo en las primeras cuatro semanas y de los datos obtenidos en los linfocitos que se encontraban en primera metafase, del control con respecto a los cerdos infectados con huevos de *T. solium*, a los infectados con posoncosferas y con respecto al cerdo inmunosuprimido con dexametasona ( $p < 0.05$ ) gráfica 11.

Por medio de ji cuadrada los datos de los linfocitos en M 1 sólo son significativos, ( $p < 0.05$ ) para las primeras cuatro semanas, en los cerdos inmunosuprimidos con dexametasona, y en los infectados con posoncosferas, que también es significativo en la semana 10ª, los animales que fueron infectados con posoncosferas e inmunosuprimidos con dexametasona muestran datos significativos en las semanas 8ª y 10ª. No se observan diferencias significativas en los cerdos que desarrollaron la cisticercosis.

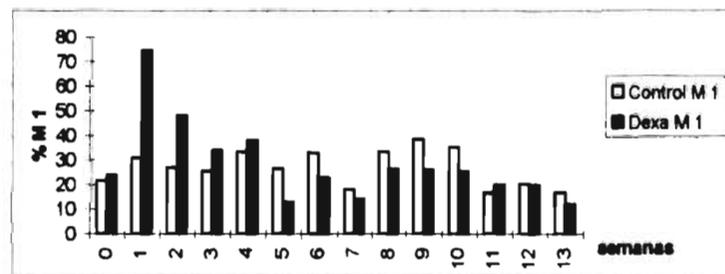
GRAFICA 11.  
Valores de M1 de los cerdos controles vs. los diferentes tratamientos.



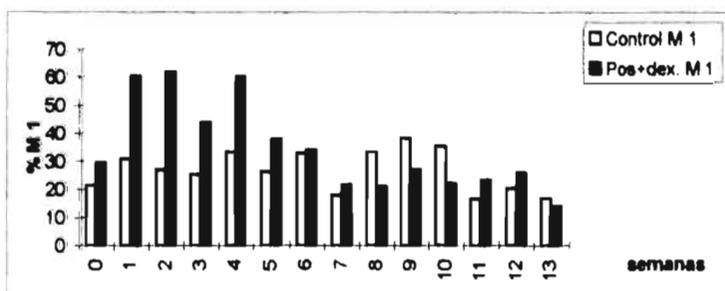
\*\*p < 0.05 (t Student)



\*p < 0.05 (X<sup>2</sup>)



\*p < 0.05 (X<sup>2</sup>) \*\*p < 0.05 (t Student)



\* p < 0.05 (X<sup>2</sup>)

## DISCUSION

El análisis del índice mitótico permitió observar que los promedios de los valores obtenidos tanto de los cerdos testigos como los de los que fueron sometidos a la infección con 50,000 huevos de *T. solium* y a la infección con posoncosferas son homogéneos:  $0.026 \pm 0.007$  y  $0.026 \pm 0.009$ , respectivamente, mientras que los testigos presentaron cifras de  $0.026 \pm 0.004$ . En cambio, el índice mitótico de los cerdos infectados con posoncosferas e inmunodeprimidos con dexametasona mostraron una respuesta más baja que el control, pero estadísticamente no es significativa. Contrariamente a lo que se esperaba, el índice mitótico del cerdo que fue sometido a las dosis de dexametasona, no presentó inmunodepresión ya que el promedio de este valor es más alto que en todos los cerdos tratados, excepto en la primera semana en que presentó un valor de 0.017 y en 12ª de 0.018, lo cual se debió probablemente a un error en la lectura de las laminillas ya que los dos valores, el que le antecede y el posterior son más altos. Como se puede observar las medias de los valores de los índices mitóticos de los grupos testigos y experimentales no mostraron diferencias significativas, lo que muestra que los tratamientos a que fueron sometidos los cerdos no fueron suficientes para alterar sus índices mitóticos.

La cinética de proliferación celular de los cerdos tratados, con respecto al control mostró diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0.05$ ) durante las primeras cuatro semanas de la fase experimental. Los cerdos infectados con huevos de *T. solium*, los infectados con posoncosferas, los infectados con posoncosferas e inmunosuprimidos con dexametasona y el cerdo control para dexametasona mostraron valores promedios altos de los linfocitos en primera división, lo que indica un retraso en el ciclo celular, sin embargo a partir de la quinta semana, los cerdos se recuperaron y con algunas variaciones este hecho se invierte y los

linfocitos se mantuvieron en segunda división, demostrando una mayor velocidad en la división celular. Esto indica que la inmunosupresión fue transitoria y la recuperación se debe a las condiciones de alimentación en que se encontraban estos animales, a diferencia de lo que podría ocurrir en el campo, en que los cerdos en condiciones de subalimentación sufren algún grado de desnutrición, observándose niveles bajos de células T (69). En las infecciones por helmintos hay varios ejemplos que indican que moléculas derivadas del parásito tienen actividades supresoras. Los productos metabólicos de los adultos de *Schistosoma mansoni* inhiben fuertemente la proliferación *in vivo* e *in vitro* de células T, particularmente la generación de células T citotóxicas en cocultivos de linfocitos, estudios citofluorográficos han demostrado que este factor inhibitorio no tiene efecto sobre células en fase G0 del ciclo celular y las células T progresan hacia la fase G1 (70), este hecho se produjo en los cultivos de linfocitos llevados a cabo en este estudio y la acción del factor inmunosupresor producido por el cisticerco de *T. solium* (44) se observa sólo en las primeras semanas.

Las dosis, según el esquema elegido para inmunodeprimir a los cerdos, no fueron suficientes para mantener este estado y favorecer el desarrollo de la cisticercosis con la infección con posoncosferas, como lo ha reportado Salazar en dos estudios previos ( 58, 59), en los que se concluye que ésta sólo se presentará si a los cerdos infectados con posoncosferas de carne cisticercosa, se les administra un inmunodepresor. En la primera investigación se infectó a un lote de 5 cerdos, un animal fué tratado con 10 inyecciones de prednisona de 10 mg cada uno, durante cuatro semanas; los resultados al momento del sacrificio mostraron formas vesiculares de 1 mm y en los cortes histológicos de músculo esquelético se encontraron cisticercos en diversos grados de desarrollo y en un cerdo se encontró un cisticerco completamente desarrollado en globo ocular.

En el segundo experimento se usaron cinco lotes de cerdos, a dos de estos se les aplicó diferentes dosis de ciclofosfamida y dexametasona, resultando en el hallazgo de cisticercos, ambos lotes se infectaron con posoncosferas obtenidas de carne cisticercosa de un lote de cerdos infectados, en el laboratorio, con huevos de *Taenia solium*.

Aunque en el actual trabajo no se encontraron los cisticercos, los datos obtenidos por hemaglutinación indirecta muestran que los títulos de anticuerpos de los lotes de cerdos desafiados con posoncosferas y con posoncosferas más dexametasona, son positivos, comparados con los títulos de anticuerpos obtenidos de los cerdos controles que desarrollaron la cisticercosis. Sin embargo, estos se positivizan al final del experimento a diferencia de los inoculados con huevos de *T. solium* que se positivizaron, uno a partir de la 6ª y el otro en la 14ª. Los datos de los resultados obtenidos por el método de ELISA corroboran esta tendencia ya que a partir de la 14ª semana y hasta la 17ª los cerdos se positivizan comportándose como los cerdos que desarrollaron la cisticercosis, esto es importante ya que está indicando que los anticuerpos antiposoncosferas son reconocidos por el antígeno de las larvas de *T. solium*, pero por otro lado se observa que las dosis administradas del inmunosupresor dexametasona no fueron suficientes para provocar la inmunosupresión en el lote de cerdos infectados con posoncosferas lo cual hubiera llevado al hallazgo de cisticercos en este grupo de animales. Es importante hacer notar que en los dos cerdos que desarrollaron la cisticercosis, el que presenta mayor títulos de anticuerpos y mayores valores de absorbancia es una hembra, este hecho ha sido reportado (71) informando que las hembras son más susceptibles que los machos en infecciones causadas por *T. crassiceps*, en un conjunto de cepas de ratones; este evento también se hace notar, en un estudio epidemiológico sobre teniasis y cisticercosis realizado en Guatemala (72), en este caso se observó que la

seropositividad detectada por electroinmunotransferencia estuvo incrementada entre las mujeres de las comunidades estudiadas.

Tal vez el hecho de no haber mantenido una inmunodepresión sostenida, especialmente en los cerdos que fueron sometidos al tratamiento con dexametasona y después infectados con las posoncosferas, evitó que la infección se realizara. Sin embargo, las dosis de dexametasona usadas en esta investigación, tanto al control como a los cerdos problema a los cuales se les aplicó este inmunosupresor, son las usadas en experimentos realizados en cerdos y otros animales. La bibliografía consultada sugiere que el efecto de los corticosteroides está en relación a la edad y a la sensibilidad de algunos animales a estos, en estudios realizados en cerdos con prednisolona se ha observado que existe una sensibilidad edad dependiente de los linfocitos a los efectos inmunosupresores de este esteroide (56). En un estudio para evaluar los cambios en la medición de las funciones inmunes, en ovejas tratadas crónicamente con dexametasona, a dosis de 0.4 mg/kg, cada 48 horas por 14 días, se encontró que la proliferación de los linfocitos estimulada por mitógenos, no fué afectada por el tratamiento con dexametasona, sin embargo no se puede desechar la posibilidad de que una supresión transitoria pudo haber sido vista si hubiera sido evaluada más frecuentemente, por ejemplo, cada 12 o 24 horas después de las primeras inyecciones, puede haber diferentes sensibilidades de subpoblaciones de linfocitos a acciones farmacológicas de dexametasona, pero también puede indicar que no siempre es un modelo apropiado de tratamiento para estudiar la inmunomodulación, en ovejas (73).

En otro estudio la dosis usada, de dexametasona, no alteró las funciones de los linfocitos, sin embargo, al aplicar 5 mg/kg se inhibió la respuesta blastogénica a la fitohemaglutinina. Con A y fitolaca, en estos experimentos las lecturas se hicieron a las 3 y a las 24 horas después de la aplicación de la dexametasona y también a las 24 horas, sin embargo, parece ser que el cerdo es mucho más resistente a la

seropositividad detectada por electroinmunotransferencia estuvo incrementada entre las mujeres de las comunidades estudiadas.

Tal vez el hecho de no haber mantenido una inmunodepresión sostenida, especialmente en los cerdos que fueron sometidos al tratamiento con dexametasona y después infectados con las posoncosferas, evitó que la infección se realizara. Sin embargo, las dosis de dexametasona usadas en esta investigación, tanto al control como a los cerdos problema a los cuales se les aplicó este inmunosupresor, son las usadas en experimentos realizados en cerdos y otros animales. La bibliografía consultada sugiere que el efecto de los corticosteroides está en relación a la edad y a la sensibilidad de algunos animales a estos; en estudios realizados en cerdos con prednisolona se ha observado que existe una sensibilidad edad dependiente de los linfocitos a los efectos inmunosupresores de este esteroide (56). En un estudio para evaluar los cambios en la medición de las funciones inmunes, en ovejas tratadas crónicamente con dexametasona, a dosis de 0.4 mg/kg cada 48 horas por 14 días, se encontró que la proliferación de los linfocitos estimulada por mitógenos, no fue afectada por el tratamiento con dexametasona, sin embargo no se puede desechar la posibilidad de que una supresión transitoria pudo haber sido vista si hubiera sido evaluada más frecuentemente, por ejemplo, cada 12 o 24 horas después de las primeras inyecciones, puede haber diferentes sensibilidades de subpoblaciones de linfocitos a acciones farmacológicas de dexametasona, pero también puede indicar que no siempre es un modelo apropiado de tratamiento para estudiar la inmunomodulación, en ovejas (73).

En otro estudio la dosis usada, de dexametasona, no alteró las funciones de los linfocitos, sin embargo, al aplicar 6 mg/Kg se inhibió la respuesta blastogénica a la fitohemaglutinina, Con A y fitolaca, en estos experimentos las lecturas se hicieron a las 3 y a las 24 horas después de la aplicación de la dexametasona y también a las 24 horas, sin embargo, parece ser que el cerdo es mucho más resistente a la

inmunodepresión por corticoides que el ganado, ya que dosis tan bajas como 0.04 mg/Kg lograron alterar las funciones de linfocitos y neutrófilos, en el ganad (74). En el estudio sobre la respuesta a dosis de 0.5 mg/Kg, de dexametasona, por 20 días, en linfocitos de bovinos jóvenes, entre 7 y 43 días de edad, se observó que a pesar de las inyecciones diarias y continuas de dexametasona, todos los animales mostraron recuperaciones transitorias en la respuesta inmune de sus linfocitos circulantes en una o más ocasiones durante el tratamiento, una posible explicación para esta supresión fué que la dexametasona estaba inhibiendo la producción de IL-2. Los cambios in vivo son el resultado de una redistribución selectiva de las células de la circulación en órganos linfoides periféricos (75).

Para determinar el efecto de la dexametasona, en ratones Balb/c, sobre la proliferación celular, se inyectaron con dosis de 30 a 60 mg/Kg de dexametasona, la evaluación se realizó a las 4, 12 o 24 horas después de la inyección, a las 12 horas después de la administración hubo reducción de esplenocitos, se suprimió la respuesta a la proliferación celular, este efecto también se observó a las 24 horas. Se sugiere que la administración cada 4 horas de 30 a 60 mg/Kg de dexametasona, puede ser usada como un modelo reversible de inmunodepresión, para ratones (76)

En el actual trabajo las lecturas para evaluar el efecto inmunosupresor de la dexametasona se hacían una vez a la semana, aunque las aplicaciones de la droga se hacían dos veces a la semana, probablemente se hubieran obtenido datos significativos si la evaluación de la respuesta celular se hubiera realizado a tiempos más cortos que los usados en este estudio.

## **CONCLUSIONES.**

1. El esquema para la administración de la dexametasona no fue el adecuado para inducir un estado de inmunosupresión sostenido en los cerdos.
2. Sólo se observó una inmunodepresión transitoria, ya que se encontraron ligeras evidencias en los linfocitos en primera división, en las primeras cuatro semanas, esta se observa tanto en los cerdos infectados con huevos de *T. solium* como en los infectados con posoncosferas.
3. Las dosis de dexametasona provocan una ligera disminución en el índice mitótico y en la cinética de proliferación celular, en linfocitos de cerdos.
4. Se observa inmunodepresión tanto en la inducida artificialmente, con dexametasona , como la provocada con huevos y posoncosferas de *Taenia solium*.
- 5.- Los títulos de anticuerpos de los cerdos infectados con huevos de *T. solium* fueron proporcionales a la carga parasitaria. A mayor carga parasitaria, los t'ulos son más altos.
- 6.- No se logró la infección en los cerdos infectados con posoncosferas.
- 7.- Respecto a los títulos de anticuerpos en los cerdos infectados con posoncosferas con y sin dexametasona se observa una semejanza con los títulos hallados en el cerdo infectado con huevos de *T. solium* que tuvo la carga parasitaria más baja.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Acevedo-Hernández, A. 1982. Economic impact of porcine cysticercosis. In: Cysticercosis: Present state of Knowledge and prespectives. Flisser, A., Willms, K., Laclette, J. P., Larralde, C., Ridaura, C., Beltrán, F. Academic Press. New York. 63-67.
2. Escobar-Izquierdo, A. 1989. Patología de la neurocisticercosis. En: Cisticercosis Humana y Porcina. Flisser, A., Malagón, F. Limusa, México.
3. Onah, D. H., Chiejina, S. N. 1995. *Taenia solium* cysticercosis and human taeniasis in the Nsukka area of Enugu State, Nigeria. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 89 (4): 399-407.
4. Adamolekun, B. 1995. The aetiologies of epilepsy in tropical Africa. *Trop Geogr Med*, 47 (3): 115-7.
5. Aubry, P., Bequet, D. Queguiner, P. 1995. La cysticercose: une maladie parasitaire frequente et redoutable. *Med Trop*, 55 (1): 79-87.
6. Mafojane, N. A. 1994. The neurocysticercosis project in Atteridgeville-Mamelodi townships. *S Afr Med J*, 84 (4): 208-11.
7. Yu, S., Xu, L., Jiang, Z., Xu, S., Han, J., Zhu, Y., Chang, J., Lin, J., Xu, F. 1994. Report on the first nationwide survey of the distribution of human parasites in

- China. 1. Regional distribution of parasite species. *Chung Kuo Chi Sheng Chung Hsueh Yu Chi Sheng Chung Ping Tsa Chih*, 12 (4): 241- 7.
8. Xu, L., Jiang, Z., Yu, S., Xu, S., Chang, J., Wu, Z., Xu, J., Zhang, X., Che, Z., Zhang, B. 1995. Characteristics and recent trends in endemicity of human parasitic diseases in China. *Chung Kuo Chi Sheng Chung Hsueh Yu Chi Sheng Chung Ping Tsa Chih*, 13 (3): 214-7.
9. Fan, P. C., Chung, W. C., Wu, J. C. 1994. Experimental infection of an isolate of *Taenia solium* from Hainan in domestic animals. *J Helminthol*, 68 (3): 265-6.
10. Srivastava, V. K., Singhal, K. C., Srivastava, A., Agrawal, A. 1993. Praziquantel therapy in neurocysticercosis. *Indian J Physiol Pharmacol*, 37 (3): 194-8.
11. Gupta, S. C., Gupta, S. C. 1995. Cysticercosis of the tongue. *Ear Nose Throat J*, 74 (3): 174-8.
12. Malnick, S. D., Geltner, D. 1996. Tapeworm disease in vegetarians. *Lancet*, 347 (9017): 1766.
13. Padma, M. V., Behari, M., Misra, N. K., Ahuja, G. K. 1995. Albendazole in neurocysticercosis. *Natl Med J India*, 8 (6): 255-8.
14. Muller, R., Lillywhite, J., Bending, J. J., Catford, J. C. 1987. Human cysticercosis and intestinal parasitism amongst the Ekari people of Irian Jaya. *J Trop Med Hyg*, 90 (6): 291-6.

15. Theis, J. H., Goldsmith, R. S., Flisser, A., Koss, J., Chioino, C., Plancarte, A., Segura, A., Widjana, D., Sutisna, P. 1994. Detection by immunoblot assay of antibodies to *Taenia solium* cysticerci in sera from residents of rural communities and from epileptic patients in Bali, Indonesia. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, 25 (3): 464-8
16. Earnest, M., Reller, B., Filley, C. and Grek, A. 1987. Neurocysticercosis in the United States: 35 cases and a review. *Reviews of infectious diseases*, 9 (5): 961-979.
17. Mitchell, W. and Crawford, T. 1988. Intraparenchymal cerebral cysticercosis in children: diagnosis and treatment. *Pediatrics*, 82 (1):76- 83.
18. Moore, A. C., Lutwick, L. I., Schantz, P. M., Pilcher, J. B., Wilson, M., Hightower, A. W., Chapnick, E. K., Abter, E I. M., Grossman, J. R., Fried, J. A., Ware, D. A., Haichou, X., Hyon. S. S., Barbour, R. L., Antar, R., Hakim, A. 1995. Seroprevalence of cysticercosis in an orthodox jewish community. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 53(5): 439-442.
19. Levav, M., Mirsky, A. F., Cruz, E., Cruz, I. 1995. Neurocysticercosis and performance on neuropsychologic test: a family study in Ecuador. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 53 (5): 552-557.
20. Ferreira, M. S., Costa-Cruz, J. M., Nishioka, S. A., Mantese, O.C., Castro, E., Gonçcalves-Pires, M. R. F., Moura, L. P. 1994. Neurocsticercosis in Brazilian children: report of 10 cases. *Trop. Med. Parasitol.*, 45: 49-50.

21. Carrada-Bravo, T. 1991. Espectro clinoepidemiológico de la teniasis cisticercosis. Avances recientes y perspectivas. *Infectología*, Año 11, Num 10:521-536.
22. Uribe, J., Olvera, J. 1988. Cisticercosis Humana. Estudio clínico y patológico de 481 casos de autopsia. *Patología*, 26 (4): 149-156.
23. Sarti, E., Schantz, P., Plancarte, A., Wilson, M., Gutierrez, I., López, A., Roberts, J., Flisser, A. 1992. Prevalence and risk factors for *Taenia solium* taeniasis and cysticercosis in humans and pigs in a village in Morelos, Mexico. *Am. J. Trop. Med. Hyg*, 46 (6):677-685.
24. Molinari, J., Soto, R., Tato, P., Rodríguez, D., Retana, A., Sepúlveda, J., Palet, A. 1993. Immunization against porcine cysticercosis in an endemic area in Mexico: a field and laboratory study. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 49 (4): 502-512.
25. Tay, J y col. 1995. Las helmintiasis intestinales en le República Mexicana. *Bol Chil Parasitol*, 50: 10-16.
26. Romero, R., Tay, J., Gutierrez, M., Gonzalez, A., Sanchez, J. 1982. Repercussion on geohelminthiasis in individual development and grow rate. *Walter de gryter and Co. New York*. pp: 371-382.
27. Nussenzweig, R. 1982. Parasitic disease as a cause of immunosuppression. *The New England Journal of Medicine*, 306:423-424.

28. Harris, W. G., Bray, R. S. 1976. Cellular sensitivity in amoebiasis. Preliminary results of lymphocytic transformation in response to specific antigen and mitogen in carrier and disease states. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 70: 340-343.
29. Reed, S. G., Roters, S. B., Goidl, E. A. 1983. Spleen cell-mediated suppression of IgG production to a non-parasite antigen during chronic *Trypanosoma cruzi* infection in mice. *J Immunol*, 131: 1978.
30. Tarleton, R. L. 1988. *Trypanosoma cruzi*-induced suppression of IL-2 production. II. Evidence for a role for suppressor cells. *J Immunol*, 140: 2769.
31. Maleckar, J. R. Kierszenbaum, F. 1984. Suppression of mouse lymphocyte responses to mitogens in vitro by *Trypanosoma cruzi*. *Int J Parasitol*, 14: 45.
32. Plata, F. 1985. Enhancement of tumour growth correlates with suppression of the tumour-specific cytolytic T-lymphocyte response in mice chronically infected by *Trypanosoma cruzi*. *J Immunol*, 134: 1312.
33. Beltz, L. A. Sztejn, M. B., Kierszenbaum, F. 1988. Novel mechanism for *Trypanosoma cruzi*-induced suppression of human lymphocytes. *J Immunol*, 141:289.
34. Kierszenbaum, F., Mejía, H., Sztejn, B. 1994. Inhibition of *Trypanosoma cruzi*-specific immune responses by a protein produced by *T. cruzi* in the course of Chagas' disease. *Immunology*, 81: 462-467.

35. Petersen, E., Neva, F., Oster, C., Díaz, H. 1982. Specific inhibition of lymphocyte-proliferation responses by adherent suppressor cells in diffuse cutaneous leishmaniasis. *The New England Journal of Medicine*, 307 (7):387-392.
36. Nickol, A., Bonventre, P. 1985. Immunosuppression associated with visceral leishmaniasis of hamsters. *Parasite Immunology*, 7: 439-449.
37. Luft, B. J., Pedrotti, P. W., Remington, J. S. 1988. In vitro generation of adherent mononuclear suppressor cells to toxoplasma antigen. *Immunology*, 63: 643-648.
38. Chan, J., Siegel, J. P., Luft, B. J. 1986. Demonstration of T-cell dysfunction during acute toxoplasma infection. *Cell Immunol*, 98: 422-433.
39. Cottrell, B., Humbre, D., Sturrock, R. 1980. Immunosuppressive factor in the serum of patients with schistosomiasis. *Transactions of the royal Society Medicine and Hygiene*, 74 (3): 415-416.
40. Attallah, A., Smith, A., Murrell, K. Fleischer, T., Woody, J., Vannier, W., Scher, I. Ahmed, A., Sell, K. 1979. Characterization of the immunosuppressive state during *Schistosoma mansoni* infection. *The Journal of Immunology*, 122 (4):1413-1420.
41. Kizaki, T., Kobayashi, S., Ogasawara, K., Day, N., Good, R. and Onoé, K. 1991. Immune suppression induced by protoscoleces of *Echinococcus multilocularis* in mice. *The Journal of Immunology*, 147 (5): 1659-1666.

42. Kizaki, T., Ishige, M., Kobayashi, S., Bingyan, W., Kumagai, M., Day, N., Good, R., Onoé, K. 1993. Suppression of T-cell proliferation by CD8+ T cells induced in the presence of protoscolices of *Echinococcus multilocularis* in vitro. *Infection and Immunity*, 61 (2):525-533.
43. Raybourne, R., Desowitz, R., Kliks, M., Deardorff, T. 1983. *Anisakis simplex* and *Terranova* sp. : Inhibition by larval excretory- secretory products of mitogen-induced rodent lymphoblast proliferation. *Experimental Parasitology*, 5: 289-298.
44. Tato, P., Valles, Y., Rolón, R., Molinari, J. 1987. Efecto de la inmunización en cerdos inmunodeprimidos, naturalmente parasitados con *Cysticercus cellulosae*. *Rev. Lat-amer. Microbiol*, 29: 67-71.
45. Molinari, J., Tato, P. y Valles, Y. 1987. Inmunodepresión de linfocitos T en cerdos, modulada por *Cysticercus cellulosae*. *Rev. Lat-amer. Microbiol*, 29: 293-300.
46. Tato, P., Castro, A., Rodríguez, D., Soto, R., Arechavaleta, F., Molinari, J. 1995. Suppression of murine lymphocyte proliferation induced by a small RNA purified from the *Taenia solium* metacestode. *Parasitol Res*, 81: 181-187.
47. Flisser, A. 1989. *Taenia solium* cysticercosis. Some mechanisms of parasite survival in immunocompetent hosts. *Acta Leidensia*, 57 (2): 259-263.
48. Ridaura, C. 1987. Host response in childhood neurocysticercosis. Some pathological aspects. *Child's Nerv Syst*, 3: 206-207.

49. Muneer, M., Farah, I., Newman, J., Goyal, S. 1988. Immunosuppression in animals. *British Veterinary Journal*, 144 (3): 288-300.
50. Drews, J. 1990. *Immunopharmacology. Principles and Perspectives*. Springer-Verlag Switzerland. pp. 129.
51. Drews, J. 1990. *Immunopharmacology. Principles and Perspectives*. Springer-Verlag. Switzerland. pp. 131.
52. Drews, J. 1990. *Immunopharmacology. Principles and Perspectives*. Springer-Verlag. Switzerland. pp. 140-142.
53. Garrido, E., Gomariz, R., Leceta, J., Zapata A. 1987. Effects of dexamethasone on the lymphoid organs of *Rana perezi*. *Developmental and comparative immunology*, 11 (2): 375-382.
54. Rupprechy, R., Wodarz, N., Kornhuber, J., Schmitz, B., Wild, K., Braner, H., Müller, O., Riederer, P. 1990. In vivo and in vitro effects of glucocorticoids on lymphocyte proliferation in man: relationship to glucocorticoid receptors. *Neuropsychobiology*, 24: 61-66.
55. Saulnier, D., Martinod, S., Charley, B. 1991. Immunomodulatory effects in vivo of recombinant porcine interferon gamma on leukocyte functions of immunosuppressed pigs. *Ann Rech Vet*, 22: 1-9.

56. Oldham, G., Howard, C. 1992. Suppression of bovine lymphocyte responses to mitogens following in vivo and in vitro treatment with dexamethasone. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 30: 161-177.
57. Kunicka, J., Talle, M., Denhardt, G., Brown, M., Prince, L., Goldstein, G. 1993. Immunosuppression by glucocorticoids: inhibition of production of multiple lymphokines by in vivo administration of dexamethasone. *Cellular Immunology*, 149: 39-49.
58. Yang, W. C., Schultz, R. D. 1986. Effect of corticosteroid on porcine leukocytes: age related effects of corticosteroid inhibition on porcine lymphocyte responses to mitogens. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 13: 19-29.
59. Beaver, P., Jung, R., Cupp, E. 1986. *Parasitología Clínica*. Salvat. Barcelona España. pp. 557.
60. Salazar S., P.M., DeHaro, I., Ruíz, A., Lobo, G. 1984. Investigación de otro probable mecanismo de infección en la cisticercosis. I. Informe de los hallazgos preliminares. *Arch. Invest. Méd.*, 15: 205-213.
61. Salazar, P. M. 1987. Estudio de otro mecanismo de infección en la cisticercosis. Tesis doctoral. Facultad de Medicina. Universidad Nacional Autónoma de México.
62. Beltrán, H. F., Gómez, P. A., Figueroa, V. V. 1974. Immunological characterization of antigenic fraction of *Trichinella spiralis* larvae. *Trichinellosis*. Ed. Charles, W. K. Intext Educational Publisher, N. Y. pp. 175-186.

63. Lowry, O. H., Rosenbrough, N. J., Farr, L. A., Randall, R. J. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193: 265-275.
64. Morrison, R. 1976. *Química Orgánica*. Tercera edición. Fondo Educativo Interamericano. pp. 1026.
65. Guzmán, M. C., Romero, V. N. 1980. Determinación de antígenos solubles de *Cysticercus cellulosae* mediante pruebas de aglutinación con partículas inertes. Tesis de licenciatura. Facultad de Química. Universidad Nacional Autónoma de México.
66. Ostrosky- Wegman, P., García, G., Montero, R., Perez, B., Alvarez, R. y Cortinas de Nava, C. 1986. Susceptibility to genotoxic effects of niclosamide in human peripheral lymphocytes exposed in vitro and in vivo. *Mut Res*, 173: 81-87.
67. Herrera, L. A. 1989. Efecto de hormonas esteroides en la proliferación de linfocitos en cultivo. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México.
68. UNAM. Facultad de Medicina. Departamento de Salud Pública. 1995. Material de apoyo para la enseñanza de la estadística descriptiva y analítica. Segundo año.
69. Tato, P., Valles, Y., Rolón, R., Molinari, J. L. 1987. Efecto de la inmunización en cerdos inmunodeprimidos, naturalmente parasitados con *Cysticercus cellulosae*. *Rev. Lat-amer. Microbiol*, 29: 67-71.
70. Warren, K. 1993. *Immunology and Molecular Biology of Parasitic Infections*. Blackwell Scientific Publications. N. Y. 3ª ed. pp. 92.

71. Sciutto, E., Fragoso, G., Díaz, M. L. Valdez, F., Montoya, R., M., Govezensky, T., Lomeli, C., Larralde, C. 1991. Mirine *Taenia crassiceps* cysticercosis: H-2 complex and sex influence on susceptibility. *Parasitology Research*, 77: 243-346.
72. García-Noval, J., Allan, J., Fletes, C., Moreno, F., Torres, R., Soto, H., Yrrita, P., Higueros, H., Mencos, F., Craig, P. 1996. Epidemiology of *Taenia solium* taeniasis and cysticercosis in two rural guatemalan communities. *Am. J. Trop. Med Hyg.*, 55 (3): 282-289.
73. Minton, J. E., Blecha, F. 1991. Cell-mediated immune function in lambs chronically treated with dexamethasone. *J. Anim. Sci*, 69: 3225-3229.
74. Saulnier, D., Martinod, S., Charley, B. 1991. Immunomodulatory effects *in vivo* of recombinant porcine interferon gamma on leukocyte functions of immunosuppressed pigs. *Ann Rech Vet*, 22: 1-9.
75. Oldham, G., Howard, C. J: 1992. Suppression of bovine lymphocyte responses to mitogens following *in vivo* and *in vitro* treatment with dexamethasone. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 30: 161-177.
76. Kunicka, J. E., Talle, M. A., Denhardt, G. H., Brown, M., Prince, L. A., Goldstein, G. 1993. Immunosuppression by Glucocorticoids: Inhibition of Production of Multiple Lymphokines by *in Vivo* Administration of Dexamethasone. *Cellular Immunology*, 149: 39-49.