



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

00381  
4

**POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**PARTICIPACIÓN DE LAS CÉLULAS CEBADAS EN LA  
EXPULSIÓN DEL ESTADIO ADULTO DE *Taenia solium* EN  
LOS MODELOS EXPERIMENTALES DEL HAMSTER DORADO  
Y EL JERBO MONGOL**

**TESIS  
QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE  
DOCTORA EN CIENCIAS (BIOLOGÍA)**

**PRESENTA:**

**GUILLERMINA AVILA RAMÍREZ**

**DIRECTORA DE TESIS: Dra. Ana Flisser Steinbruch**

**México, D.F.**

**junio, 2003**

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

A



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.

# **PAGINACION DISCONTINUA**

## RESUMEN

*Taenia solium* es un parásito que causa dos enfermedades en el ser humano, la cisticercosis y teniosis; así como cisticercosis en el cerdo. Mientras que la relación hospedero-parásito en la cisticercosis ha sido estudiada ampliamente, la teniosis por *T. solium* es prácticamente desconocida, principalmente porque el ser humano es el único hospedero definitivo natural. *T. solium* se puede desarrollar en el hámster dorado y el jerbo mongol; en el hámster la permanencia y recuperación de tenias es mayor que en el jerbo y se desconocen los mecanismos por los cuales *T. solium* es expulsada del intestino delgado. El presente estudio se realizó con el propósito de determinar si las células cebadas y sus mediadores favorecen la expulsión de *T. solium* en el hámster dorado y el jerbo mongol. Con este fin, se infectaron jerbos y hámsteres *per os* con 8 cisticercos de *T. solium*, un grupo de jerbos fue inmunodeprimido con esteroides. Se realizaron necropsias de los animales a diferentes días postinfección (DPI), se recuperó el intestino delgado, se localizó el área de implantación de las tenias y se contó el número de parásitos. Se hicieron lavados intestinales con solución salina amortiguada con fosfatos (SSAF), los que fueron usados para determinar la concentración de histamina por medio de un ELISA comercial. Se tomaron biopsias de un cm correspondientes al área de anclaje de las tenias (duodeno-yeyuno) y del íleon; se procesaron para histología, se tiñeron con colorante de Wright o Giemsa y se contó el número de células cebadas (CC), las que se reportaron por 10 unidades de criptas. Los resultados mostraron que hubo diferencias en la eficiencia de la infección en ambos roedores, en jerbos la recuperación de tenias osciló de 12% a 27% y en hámsteres fue del 16% al 51%. También se detectó que en los roedores que se infectaron con cisticercos que tenían 70% de evaginación hubo menor recuperación de tenias en comparación con los que tenían más del 90% de evaginación, además en jerbos inmunodeprimidos la eficiencia de la infección aumentó a un 32%. En los jerbos no inmunodeprimidos las tenias que se recuperaron midieron de 1 a 2 cm y presentaban escólex y cuello, mientras que las tenias obtenidas de los hámsteres midieron hasta 40 cm y presentaban proglótidos maduros; en los jerbos inmunodeprimidos se obtuvieron parásitos de hasta 22 cm con el mismo grado de desarrollo. En los jerbos control que no fueron infectados, el número de CC en el área de anclaje de las tenias fue de 11.5 ( $\pm 0.9$ ) células en promedio y en íleon de 11.6 ( $\pm 1.1$ ) por 10 criptas. En los jerbos infectados con *T. solium* se observó incremento de CC en el área de implantación de las tenias a partir de los 9 DPI, el aumento fue 8 veces mayor con respecto al control. Con respecto a la concentración de histamina en los lavados intestinales, el promedio fue de 51.6 ( $\pm 7.2$ ) ng/ml en los jerbos no infectados, en los infectados se observó un incremento a partir de los 6 DPI, y las concentraciones más altas se registraron entre los 11 y 19 DPI, siendo éstas de 340 ( $\pm 74$ ) y 400 ( $\pm 80$ ) ng/ml respectivamente. En los jerbos inmunodeprimidos fue mínimo el número de CC observadas, las concentraciones de histamina fueron bajas, similares a las del grupo testigo no infectado. En los hámsteres infectados prácticamente no se encontraron CC. Por lo tanto, los jerbos desarrollan una respuesta más intensa en contra de la tenia a nivel intestinal, en la que las células cebadas se encuentran aumentadas y activas, participando posiblemente en la eliminación de las tenias en un menor tiempo en comparación con los hámsteres, quienes no desarrollan mastocitosis y permanecen por más tiempo infectados y con cargas parasitarias mayores.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

13

## ABSTRACT

*Taenia solium* is a cestode parasite that causes taeniosis and cysticercosis in humans as well as cysticercosis in pigs. Whereas the host-parasite relationship in human and swine cysticercosis has been thoroughly studied, it is practically unknown in teniosis due *T. solium*, mainly because human beings are the only definitive hosts of the adult stage. The development of *T. solium* adult parasites in experimental models is a useful research alternative; this tapeworm can grow in hamsters and gerbils. These two species of rodents also show differences in that hamsters are more susceptible, infections lasted more and worm burden is higher. When both rodents are immunosuppressed with corticosteroids, susceptibility to infection increases, nevertheless differences are still present. The intestinal mechanisms for *T. solium* expulsion are unknown, maybe the increase of some cellular populations in the intestinal mucosa and the liberation of their mediators favor tapeworm expulsion. The purpose of this study was to analyze if intestinal mast cells and their mediators participate in the expulsion of *T. solium* in gerbils and hamsters experimentally infected. Suppressed and non-suppressed rodents were infected *per os* with 8 cysticerci and necropsied at different times up to 35 days postinfection (DPI). The small intestine was recovered, worms were counted and the implantation site of the parasites was identified. The intestine was washed with PBS, centrifuged and supernatants were collected and used to measure the concentration of histamine by an ELISA kit. For histological examination, 1 cm long pieces at the attachment site of tapeworms (duodenum-jejunum) and of ileum were fixed in either Carnoy's fluid or in buffered formalin. Tissue sections were stained with Giemsa or Wright and mast cells were counted and reported per 10 villous crypts. There were differences in the susceptibility to infection in both rodents, in gerbils tapeworm recovery varied from 12% to 27% and in hamsters from 16% to 51%. When animals were infected with cysticerci that had 70% of evagination, tapeworm recovery was minimal as compared when infections with cysticerci with more than 90% of evagination was performed. In immunosuppressed gerbils tapeworm recovery increased to 32%. Worms measured only 1 to 2 cm in non-suppressed gerbils an up to 40 cm in hamsters, in suppressed gerbils tapeworms measured up to 22 cm, mature worms were recovered from hamsters and suppressed gerbils. In non-infected gerbils mast cells counts average in the implantation site was 11.5 ( $\pm 0.9$ ) cells and in ileum of 11.6 ( $\pm 1.1$ ) per 10 crypts. In non-suppressed and infected gerbils mast cells increased only in the implantation site of the scolices and started at 9 DPI with an eight-fold increase when cells peaked between 11 and 19 DPI. In immunosuppressed gerbils a minor increase of mast cells was observed. Histamine concentration average in intestinal fluids of non-infected gerbils was 51.6 ( $\pm 7.2$ ) ng/ml, in infected ones an increase was observed and started at 6 DPI and had a similar behavior to mast cells, higher concentrations were detected at 11 and 19 DPI with 340 ( $\pm 74$ ) and 400 ( $\pm 80$ ) ng/ml respectively. In suppressed gerbils, histamine concentration was similar to that in non-infected animals. Minimal increase of mast cells was seen in hamsters. Therefore, gerbils develop an intense intestinal response against *T. solium*, where mast cells are augmented and active, these probably allow gerbils to expel tapeworms in a shorter time as compared with hamsters, which do not develop mastocytosis and infection lasted more and tapeworm burden was higher.

Gracias a la vida.....

Y a Miguel Ángel  
Guillita  
y Miguelito

Que me han dado tanto.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

A la memoria de:

Sr. Víctor Avila Armas

Dra. María Teresa Rabiela Cervantes

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la Dra. Ana Flisser por permitirme realizar este trabajo en su laboratorio, por todos sus consejos y apoyo para continuar mi vida académica.

A la M en C Laura Aguilar Vega por su valiosa colaboración técnica durante la realización del presente trabajo.

Al Técnico Santiago Benítez Roura, por su gran ayuda en la realización de los cortes y las técnicas histológicas.

Al personal de los bioterios del INDRÉ, SSA y del CINVESTAV, IPN por su invaluable colaboración en la obtención y cuidado de los animales de experimentación.

Al MCV Miguel Ángel García Ortiz, por sus comentarios y críticas durante la elaboración del presente estudio.

A mis compañeros de laboratorio:

Laura, Pablo, Joel, Mirza, Mayra, Adriana, Benjamin, Nancy y Rosa. Por su amistad y apoyo que me han brindado durante todo este tiempo.

A las familias Avila Ramírez y García Ortiz, y en especial a Doña Chepis, por su apoyo y solidaridad durante todos estos años.



La presente tesis se realizó bajo la dirección y asesoría de la Dra. Ana Flisser, en el Departamento de Microbiología y Parasitología, en la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Este trabajo fue financiado por:  
Proyecto 28094B CONACYT, México  
Proyecto 02314 PAEP-UNAM, México

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

# INDICE

<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
Morfología y ciclo de vida de <i>Taenia solium</i>	1
Relación hospedero-parásito en teniosis	5
Modelos experimentales en teniosis	7
Estructura y funciones del intestino delgado	9
Mecanismos de protección en la mucosa intestinal	13
Anticuerpos en la mucosa intestinal	15
Respuesta inmunológica contra helmintos intestinales	16
Participación de las células cebadas en la respuesta contra helmintos intestinales	19
<b>JUSTIFICACIÓN</b>	<b>24</b>
<b>HIPÓTESIS</b>	<b>25</b>
<b>OBJETIVO GENERAL</b>	<b>25</b>
<b>OBJETIVOS PARTICULARES</b>	<b>25</b>
<b>MATERIAL Y METODOS</b>	<b>26</b>
Modelos experimentales	27
Obtención de cisticercos de <i>T. solium</i>	27
Grupos experimentales y protocolo de infección	27
Obtención del estadio adulto de <i>T. solium</i>	28
Obtención de lavados intestinales	28
Recuperación y procesamiento de las biopsias de intestino delgado	29
Determinación de la concentración de histamina en los lavados intestinales	30
Análisis estadístico	31
<b>RESULTADOS</b>	<b>32</b>
Recuperación y desarrollo de <i>T. solium</i> en los modelos experimentales	32
Presencia de células cebadas en la mucosa intestinal de jerbos y hámsteres	

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

infectados con el adulto de <i>T. solium</i> .....	38
Concentración de histamina en lavados intestinales .....	45
<b>DISCUSIÓN</b> .....	<b>48</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	<b>56</b>
<b>ANEXO 1</b> .....	<b>64</b>

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

✓ 1

## INTRODUCCION

*Taenia solium* (Linnaeus, 1758) es un céstodo de importancia médica y veterinaria debido a que puede parasitar tanto al ser humano como al cerdo. El primero es el hospedero definitivo natural, ya que alberga al parásito adulto en el intestino delgado, ocasionándole la teniosis, mientras que el cerdo es el hospedero intermediario debido a que en el se desarrolla el estadio de metacéstodo o cisticerco en el sistema nervioso central, ojos, tejido subcutáneo y músculo estriado provocándole la cisticercosis. El ser humano también puede adquirir cisticercosis al ingerir accidentalmente los huevos del parásito. *T. solium*, al igual que otros ténidos, presenta además un estadio de vida libre que es el huevo que contiene a la oncosfera (Flisser, 1994; Flisser y cols., 1997; Willms y Sotelo, 2001). La clasificación de este parásito es la siguiente (Schmidt y Roberts, 1989).

PHYLUM Platyhelminthes

CLASE Cestoidea

SUBCLASE Eucestoda

ORDEN Cyclophyllidea

FAMILIA Taeniidae

GENERO *Taenia*

ESPECIE *Taenia solium* (Linnaeus, 1758)

### **Morfología y ciclo de vida de *Taenia solium*.**

*T. solium* es un parásito hermafrodita de cuerpo aplanado, segmentado, con simetría bilateral, posee una enorme capacidad reproductora y carece de tubo digestivo. El parásito adulto mide de 1.5 a 5 metros. En el extremo anterior se encuentra el escólex, que es el órgano de fijación de la tenia, el cual le permite adherirse a la mucosa intestinal por medio de sus cuatro

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

ventosas y el rostelo formado por una doble corona de ganchos. La corona interna posee de 11 a 14 ganchos largos (130 a 160  $\mu\text{m}$ ), mientras que la corona externa está formada por un número igual de ganchos pequeños (100 a 120  $\mu\text{m}$ ). El escólex sufre un adelgazamiento para dar origen al cuello, que es una región poco diferenciada en donde se encuentran las células germinales que darán origen al estróbilo. El estróbilo constituye la mayor parte del cuerpo, está formado por cientos de pequeños segmentos denominados proglótidos; se estima que el estróbilo puede estar formado por 700 a 1000 proglótidos y cada uno de ellos puede considerarse como una unidad independiente de reproducción que contiene a los órganos reproductores masculinos y femeninos. Conforme se van alejando del cuello, los proglótidos maduran sexualmente; los más cercanos son inmaduros sin órganos sexuales desarrollados. Les siguen los proglótidos maduros, donde están los órganos reproductores masculinos y femeninos, y los más alejados al escólex son los proglótidos grávidos, que se encuentran llenos de huevos. Se estima que en cada proglótido grávido existen alrededor de 50,000 huevos en diferente grado de madurez; los proglótidos grávidos se desprenden periódicamente del resto del cuerpo y son evacuados con las heces, lo que permite la salida de los huevos de la tenia al medio exterior (Heath, 1982; Soulsby, 1987; Gemell y cols., 1983; Flisser, 1994; Flisser y cols., 1997; Willms, 1998; Willms y Sotelo, 2001).

Los huevos de *T. solium* son esféricos, miden de 26-34  $\mu\text{m}$  de diámetro y tienen apariencia radial cuando se observan bajo el microscopio de luz; en su interior se encuentra la oncosfera o embrión hexacanto. La capa más externa que rodea al huevo es una membrana delgada hialina conocida como vitelo que usualmente se pierde en las heces, la cual presenta elementos citoplásmicos tales como mitocondrias y glucógeno, y da protección y nutrición a la oncosfera antes de que el embrióforo este formado completamente. Hacia adentro del vitelo se encuentra la membrana embriofórica externa, la cual se presenta como una membrana flexible y discontinua, muy relacionada con la superficie externa del embrióforo. La siguiente envoltura es el embrióforo que está formado por bloques electrodensos de proteínas parecidas a queratina, unidos por una

sustancia cementante, lo que le da a los huevos su aspecto radiado característico y resistencia en el medio externo. Los bloques proteicos son resistentes a los jugos digestivos, no así la sustancia cementante, la cual es digerida y permite la separación de los bloques proteicos y la liberación de la oncosfera. Enseguida del embrióforo se encuentra la membrana embriofórica interna, es sincitial y tiene una apariencia granular debido a la presencia de abundantes elementos parecidos a ribosomas. Finalmente se encuentra la membrana oncosferal que rodea directamente a la oncosfera, la cual es impermeable a las condiciones ambientales externas, pero se vuelve permeable cuando se pone en contacto con el jugo gástrico, permitiendo la activación del embrión. La oncosfera está formada por un epitelio delgado con extensiones citoplásmicas, un complejo sistema muscular que opera los tres pares de ganchos, un par de glándulas que le ayudan a atravesar la pared intestinal y células germinales a partir de las cuales se desarrollará el siguiente estadio larvario, así como un sistema nervioso primitivo (Laclette y cols., 1982; Smyth y McManus, 1989; Flisser y cols., 1997).

El cisticerco de *T. solium* es una vesícula ovalada, llena de líquido que mide de 0.5 a 2 cm de diámetro, tiene un escólex invaginado dentro de la vesícula y, al igual que en la tenia adulta, posee cuatro ventosas y un rostelo armado con una doble corona de ganchos. La superficie externa de la vesícula está rodeada por microvellosidades limitadas por una membrana plasmática que se encuentra cubierta por una capa vellosa de glucocálix. El tegumento, debajo de la membrana plasmática, contiene vesículas elipsoidales de diferentes tamaños. El límite interior del tegumento es una banda protoplásmica continua o sincitio, sostenida por una membrana basal de tejido conjuntivo. A través de la pared vesicular ocurre el intercambio metabólico entre el hospedero intermediario y el parásito, ya que tampoco tiene sistema digestivo (Lumsden y cols., 1982; Ramírez-Bon y cols., 1982; Flisser, 1997; Willms, 1998).

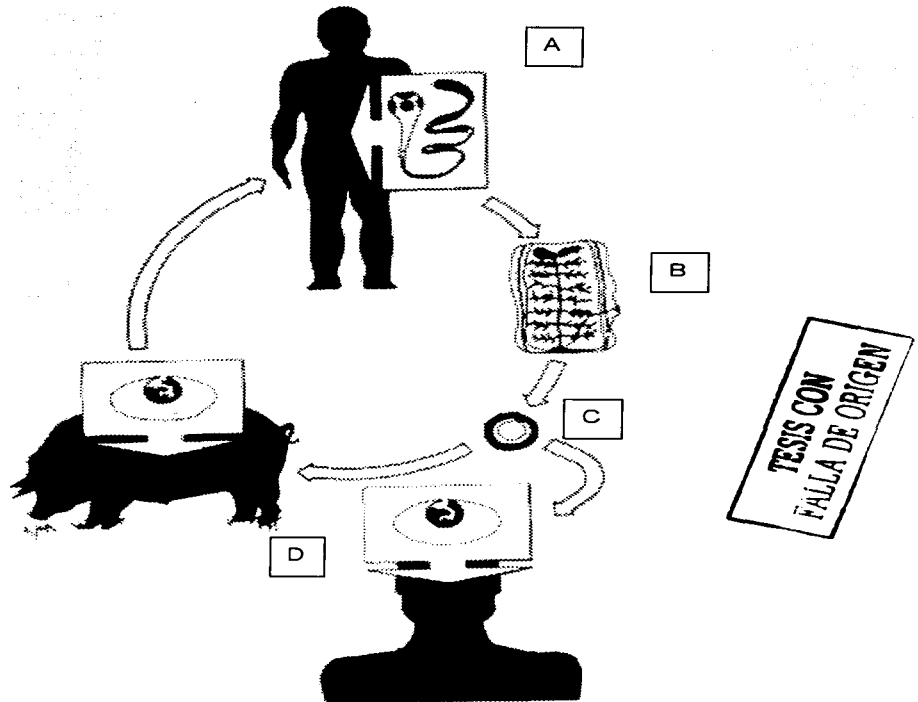


Figura 1. Ciclo de vida de *Taenia solium*. (A) El parásito adulto habita en el intestino delgado del ser humano; (B) los proglótidos grávidos se evacúan con las heces; (C) los huevos del parásito se liberan y se encuentran en el medio; (D) el ser humano o el cerdo ingieren los huevos y se desarrollan los cisticercos. El ser humano al ingerir carne de cerdo con cisticercos viables perpetúa el ciclo de vida de *T. solium*.

El ciclo de vida de *T. solium* (Figura 1) se inicia cuando un portador del parásito adulto libera al medio proglótidos grávidos llenos de huevos con sus desechos fecales. El ser humano y el cerdo adquieren la cisticercosis por comer huevos de *T. solium*; el huevo eclosiona por acción de los jugos gástricos e intestinales, la pepsina y pancreatina digieren las envolturas protectoras del huevo y la oncosfera se libera. Con ayuda de sus ganchos y de sus secreciones enzimáticas las oncosferas activadas penetran la pared intestinal hasta alcanzar los capilares sanguíneos y linfáticos, por cuya corriente son transportados a diferentes tejidos del organismo, en donde se desarrollan hasta convertirse en cisticercos. En el cerdo, la oncosfera requiere de 60 a 70 días para transformarse en un cisticerco completamente desarrollado, el cual puede sobrevivir varios años en los tejidos del hospedero, e inducir una reacción inflamatoria granulomatosa (Yoshino, 1933; Lacleite y cols., 1982; Aluja y Vargas, 1988; Flisser, 1994).

El ciclo biológico de este parásito se cierra cuando el ser humano ingiere carne de cerdo cruda o insuficientemente cocida que contiene cisticercos vivos. Nuevamente, por acción de los jugos digestivos, el escólex invaginado se activa por las enzimas pepsina y tripsina, así como por las sales biliares, lo que produce la evaginación del escólex, el cual se adhiere a la mucosa del primer tercio del intestino delgado por medio de sus ventosas y ganchos rostelares, convirtiéndose paulatinamente en una tenia adulta al cabo de tres a cuatro meses (Figura 1, Flisser, 1994; Flisser y cols., 1997; Willms 1998).

#### **Relación hospedero-parásito en teniosis.**

La información que se tiene de la relación hospedero-parásito en teniosis se ha obtenido de la infección por *Taenia saginata* principalmente. En estudios realizados en individuos parasitados con este céstodo se reportaron anomalías en la actividad secretoria de la mucosa gástrica e hipoclorhidria en un 58% y 50% respectivamente; al realizar cortes histológicos de biopsias de los pacientes teniásicos con hipoclorhidria se encontró menor cantidad de células



parietales y un infiltrado de células mononucleares. Después del tratamiento cestocida se observó regeneración de la actividad secretoria, disminución en el infiltrado celular y aumento en el número de células parietales en la mayoría de los pacientes (Stefaniak, 1989). En cuanto a la respuesta inmune, se pensaba que los céstodos adultos no inducían una respuesta inmunológica debido principalmente a que el escólex de la tenia no penetraba completamente en la mucosa intestinal y no había suficiente sensibilización del sistema inmune del hospedero (Ito y Smyth, 1987). Sin embargo, en infecciones causadas por céstodos adultos como *Echinococcus granulosus* y *E. multiloculares* se demostró que pueden sensibilizar el sistema inmunológico e inducir la síntesis de anticuerpos específicos, que son detectados en el suero de perros infectados experimentalmente a partir de los 14 días post-infección, ya que su escólex puede penetrar en la mucosa intestinal e interactuar con el hospedero (Jenkins y Rickard, 1986).

Por otra parte, en el suero de los individuos portadores de *T. saginata* adulta se observó incremento de anticuerpos IgE e IgA, aunque no se comprobó la especificidad de los mismos; sin embargo, después de la eliminación del parásito los niveles de estos anticuerpos regresaron a valores basales (Nepote y cols., 1974). Asimismo, se ha detectado una respuesta inmune celular en pacientes infectados con *T. saginata* mediante ensayos de inhibición de la migración de leucocitos y macrófagos (Lotocka, K., 1982). Por otro lado, se observó disminución de la reactividad de los linfocitos a la estimulación con fitohemaglutinina; una vez que el parásito fue expulsado, la respuesta estuvo dentro de los valores normales (Gemmell y cols., 1983). La prueba de inmunoelectrotransferencia (IET) con antígenos de excreción/secreción de tenias recuperadas de hámsteres, permite determinar la presencia de anticuerpos de las clases IgG1 e IgA en el suero de portadores de *T. solium*; dichos anticuerpos reconocen en forma específica a dos antígenos, uno de 32.7 kD y otro de 37.8 kD. Estos antígenos no son reconocidos por los sueros de los pacientes infectados con *T. saginata* ni por aquellos que tienen cisticercosis (Wilkins y cols., 1999).

### **Modelos experimentales en teniosis.**

Debido a las dificultades para avanzar en el conocimiento de la relación hospedero-parásito en *T. solium*, los modelos experimentales ofrecen una alternativa para estudiar esta parasitosis. *T. solium* puede implantarse y crecer en diferentes mamíferos como son: gibones, chinchillas, hámsteres y jerbos. El desarrollo y recuperación de los parásitos en estas cuatro especies son muy variables y únicamente se han obtenido tenias completamente desarrolladas con proglótidos grávidos y huevos maduros en un sólo gibón y en chinchillas inmunosuprimidas con esteroides (Gnezdilov, 1957; Cadigan y cols., 1967; Verster, 1971; Maravilla y cols., 1998; Garza, 2001).

El modelo experimental del hámster dorado (*Mesocricetus auratus*) fue descrito por primera vez por Gnezdilov en 1957; este autor comprobó que *T. solium* podía crecer en el intestino delgado de los hámsteres, aunque el desarrollo de la tenia fue incompleto y los ejemplares no mostraron diferenciación sexual. Posteriormente, Verster (1971), al inmunodeprimir a los hámsteres con acetato de metil prednisolona (MPA), observó que se incrementaba la susceptibilidad y el tiempo de infección en los animales, así como el desarrollo parasitario; sin embargo, no se pudieron obtener tenias con proglótidos grávidos. Además, se presentaba una alta mortalidad debido a infecciones secundarias en los animales. Debido a las facilidades de manejo que presenta el hámster, así como a la alta susceptibilidad a la infección por este parásito y a que las tenias recuperadas no representan mayor riesgo para la salud del operador, este modelo experimental se utilizó para: desarrollar una prueba de diagnóstico para teniosis (Allan y cols., 1990; Avila, 1992); determinar parámetros de crecimiento del parásito (Verster, 1971; Allan y cols., 1991; Aguilar, 1995; Willms y cols., 2001) e identificar algunos componentes de la respuesta inflamatoria en la mucosa intestinal y de la respuesta inmune humoral (Monroy-Ostria y cols., 1993; Merchant y cols., 1998; Aguilar, 2001; Avila y cols., 2002).

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

En los hámsteres infectados con *T. solium* se estudió la respuesta de anticuerpos IgG y su relación con la presencia de antígenos, tanto en animales inmunodeprimidos como normales. En ambos grupos de hámsteres se determinaron coproantígenos de tenia desde la primera semana de infección y anticuerpos IgG séricos a partir de la segunda semana, los niveles de anticuerpos se mantuvieron altos aún después de la eliminación de las tenias. Solamente se detectaron antígenos de tenia en la circulación y coproanticuerpos IgG en los hámsteres no inmunodeprimidos; los antígenos circulantes fueron detectables hasta una semana antes de que las tenias fueran expulsadas, mientras que los coproanticuerpos se mantuvieron en niveles altos aún después de la eliminación de los parásitos. La presencia de anticuerpos específicos contra la tenia muestra que *T. solium* induce una respuesta inmunológica en el hospedero, la cual se altera cuando los animales están inmunodeprimidos con esteroides (Benítez, 1996; Avila y cols., 2003). En cuanto a la respuesta celular en la mucosa intestinal de hámsteres no inmunodeprimidos e infectados con tenias, Monroy-Ostria y colaboradores (1993), reportaron que se desarrollaba una reacción inflamatoria, aunque no fue caracterizada completamente. Por su parte, Merchant y colaboradores (1998), utilizando también este modelo experimental, informaron que al implantarse la tenia en la mucosa intestinal de los hámsteres lo hace cerca de las criptas de Lieberkühn, ocasionando un daño mínimo, la necrosis celular se observó en una área no superior a los 1-1.25 mm<sup>2</sup>, permitiendo la regeneración del tejido en las vellosidades.

El desarrollo que presenta *T. solium* en jerbos (*Meriones unguiculatus*) es similar al observado en los hámsteres. Cuando ambos roedores están inmunodeprimidos se pueden obtener ejemplares sexualmente maduros con proglótidos pregrávidos (poseen el útero dilatado y huevos en formación) pero no se recuperan tenias grávidas. Se necesitan dosis cuatro veces mayores de esteroide en los jerbos (8 mg de MPA) para que las tenias alcancen ese grado de desarrollo y poder mantener la infección hasta 10 semanas, mientras que, 2 mg de MPA son suficientes para que los hámsteres permanezcan infectados hasta las 18 semanas. A pesar de

que los jerbos se inmunodeprimen con mayor dosis de esteroide, la recuperación de tenias es menor y éstas son más pequeñas, aunque el tiempo que requieren las tenias para desarrollar proglótidos pregrávidos es menor. Cuando los animales no están inmunodeprimidos la susceptibilidad a la infección en los jerbos es mucho menor en comparación con la de los hámsteres (Maravilla y cols., 1998; Avila y cols., 2002).

A diferencia de las infecciones experimentales, no se sabe con exactitud el tiempo que una persona puede estar parasitada con el estadio adulto de *T. solium* (Flisser, 1994); pero al igual que en otras infecciones por céstodos, *T. solium* se ha adaptado a su hospedero y ha desarrollado diferentes mecanismos para poder sobrevivir en un medio ambiente adverso, en el cual se tiene que enfrentar primero a los movimientos peristálticos del intestino y al paso directo de la comida digerida, posteriormente tendrá que evadir en forma eficiente al sistema inmunológico para favorecer su permanencia en el intestino delgado del hospedero (Smyth y McManus, 1989).

### **Estructura y funciones del intestino delgado**

El intestino delgado es un órgano en forma de tubo que se encuentra entre el estómago y el intestino grueso; se divide en tres porciones, el duodeno, yeyuno e íleon. El intestino delgado tiene como funciones principales completar la digestión de los alimentos y absorber de manera selectiva los alimentos (Ham y Cormack, 1984). La pared del intestino delgado, al igual que el resto del tubo gastrointestinal, esta formada por cuatro capas concéntricas: la serosa, la muscular, la submucosa y la mucosa (Figura 2) (Ham y Cormack, 1984; Fawcett, 1991).

#### **Mucosa del intestino delgado**

La mucosa está formada por una capa de epitelio que presenta pequeñas prolongaciones llamadas vellosidades, la lámina propia y la muscular de la mucosa. En la mucosa intestinal se

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

llevan a cabo principalmente los procesos de digestión y absorción; ésta última se ve favorecida por la gran área superficial que presenta la mucosa debido en parte a la propia longitud del intestino y a la presencia de pliegues circulares espirales llamados válvulas de Kerckring que son más abundantes en los dos primeros tercios del intestino. Además, la superficie de la mucosa contiene un número incontable de vellosidades intestinales que son prolongaciones pequeñísimas de forma digitiforme, cuya altura es de 0.5 a 1 mm; las de mayor tamaño están situadas en el duodeno muy cerca del píloro y decrecen conforme se acercan a la válvula ileocecal. La mucosa también presenta invaginaciones que forman glándulas tubulares entre la base de las vellosidades, las que se conocen como criptas de Lieberkühn (Ham y Cormack, 1984; Hildebrand, 1987).

La mucosa está recubierta por un epitelio cilíndrico, en el cual se distinguen varios tipos celulares como son las células absorbentes, células caliciformes y células enteroendócrinas (Figura 2). Las células absorbentes (enterocitos) de forma cilíndrica, poseen en su membrana numerosas microvellosidades, están cubiertas por glicocálix y una capa delgada de moco, contienen además numerosas enzimas como disacaridasas, peptidasas, proteínas de transporte y receptores. También se encuentran células secretoras como las células caliciformes, que tienen forma de copa y están presentes tanto en el intestino delgado como en el grueso, se localizan en las vellosidades y en las criptas, contienen gránulos de moco que son excretados al lumen. Las células enteroendócrinas (células enterocromafines) están distribuidas a todo lo largo del tracto gastrointestinal y su función principal es la liberación de hormonas como secretina, colecistocinina, serotonina, etc.

Además, se encuentran las células M (de membrana), que se localizan en el epitelio que cubre a los nódulos linfáticos, son aplanadas y carecen de microvellosidades, tienen invaginaciones profundas en la membrana celular basolateral, donde se ubican cúmulos de

linfocitos T, B y macrófagos; realizan pinocitosis activa y transportan macromoléculas desde la luz intestinal a los tejidos subepiteliales, desempeñan un papel importante en el transporte de antígenos hacia los linfocitos y macrófagos (Ham y Cormack, 1984; Kato y Owen, 1994; Pascual y cols., 1996). Dentro de las células migratorias que se encuentran en el epitelio están los linfocitos, una variedad de leucocitos granulados conocidos como "leucocitos globulares" y en algunas especies las células cebadas (Hildebrand, 1987; Fawcett, 1991).

En el epitelio que recubre a las criptas de Lieberkühn se encuentran las células de Paneth, localizadas en la base de la cripta, su forma es piramidal y contienen gránulos de secreción que incluyen diversas proteínas, lisozima, factor de necrosis tumoral y criptidina, en la base de la cripta también hay pequeñas células cilíndricas. En la parte media de la cripta se encuentran las células caliciformes productoras de moco, las células enteroendócrinas y las células caveoladas que presentan un gran número de invaginaciones y cuya función no se conoce con exactitud (Ham y Cormack, 1984).

La lámina propia de la mucosa intestinal ocupa los espacios que quedan entre las criptas de Lieberkühn y forma el eje de las vellosidades intestinales, está formada por tejido laxo, fibras de colágeno, vasos sanguíneos y linfáticos pequeños (vaso quilífero central), fibras nerviosas y diversas poblaciones celulares como los linfocitos, células plasmáticas, eosinófilos, macrófagos, células dendríticas y células cebadas. También se observan nódulos linfáticos solitarios cuyo diámetro varía de 0.4 a 3 mm. La zona profunda de la lámina propia descansa sobre una capa delgada de músculo liso llamada muscular de la mucosa, mide aproximadamente 38  $\mu$ m de grosor y está formada por redes de fibras elásticas y por dos capas, una interna circular y otra externa longitudinal (Ham y Cormack, 1984; Fawcett, 1991).

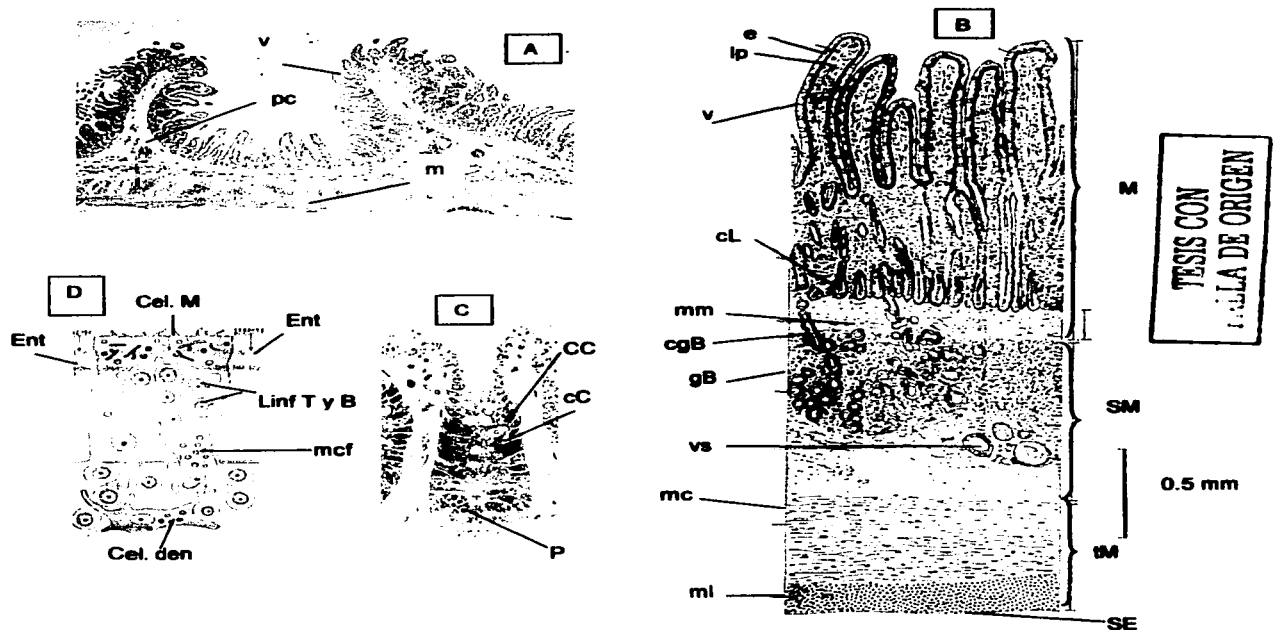


Figura 2. Estructura del intestino delgado de mamíferos. (A) Corte longitudinal teñido con hematoxilina-eosina donde se observan los pliegues circulares (pc), las vellosidades (v) y la capa muscular (m). Esquema de un corte longitudinal de duodeno (B) donde se observan: 1) la mucosa (M) formada por epitelio (e), vellosidades (v), lámina propia (lp), criptas de Lieberkühn (cL) y la muscular de la mucosa (mm); 2) la submucosa (SM) formada por conductos de la glándula de Brunner (cgB), glándulas de Brunner (gB) y vasos sanguíneos (vs); 3) la túnica muscular (TM) formada por músculo circular (mc) y músculo longitudinal (ml), serosa (SE). En (C) se muestra un esquema de la cripta del intestino delgado donde se aprecian las células de Paneth (P), las células caliciformes (CC) y las células cilíndricas (cC). En (D) se presenta un esquema de una célula M (Cel. M) en el epitelio intestinal, células epiteliales entéricas (Ent), linfocitos T y B (Linf T y B), macrófagos (mcf) y células dendríticas (Cel. den).

### **Submucosa del intestino delgado**

La submucosa está situada entre la mucosa y la capa muscular del tracto digestivo (Figura 2). Esta formada por tejido conjuntivo moderadamente denso, rico en fibras elásticas, colágeno, vasos sanguíneos, linfáticos, así como grupos de células adiposas y ganglionares asociadas a la innervación autónoma del tracto digestivo. Contiene también grupos esparcidos de células adiposas. En el duodeno, pero no en el resto del intestino, la submucosa está ocupada en gran parte por las glándulas de Brunner (Hidelbrand, 1987). Las células secretoras de las glándulas de Brunner comparten rasgos ultraestructurales con las células secretoras de zimógeno y de las que secretan moco, en su base tienen muchas mitocondrias y un retículo granular abundante. Secretan un líquido claro, viscoso y alcalino (pH 8.2 a 9.3), su función principal es la de defender a la mucosa duodenal contra el efecto erosivo del jugo gástrico ácido. También secretan urogastrona, un polipéptido que inhibe la secreción ácida del estómago y estimula también la proliferación epitelial (Fawcett, 1991).

### **Túnica Muscular del intestino delgado**

La túnica muscular del intestino delgado está formada por una capa externa longitudinal y otra interna circular, ambas de músculo liso; entre ellas se sitúa el plexo nervioso mioentérico. La capa muscular es la responsable del peristaltismo intestinal. La capa más externa de la pared intestinal, es la serosa, que está constituida por una lámina continua de células epiteliales planas, el mesotelio, separada de la muscular subyacente por una capa muy fina de tejido conjuntivo laxo. La serosa del intestino se continúa con el mesenterio, el cual sirve de soporte al tubo gastrointestinal (Ham y Cormack, 1984; Hidelbrand, 1987; Fawcett, 1991).

### **Mecanismos de protección en la mucosa intestinal**

El epitelio de la mucosa intestinal forma una interfase entre los medios interno y externo en



el tracto gastrointestinal y puede ser la puerta de entrada para diferentes sustancias dañinas y agentes patógenos; para protegernos en contra de ellos se cuenta con mecanismos de la inmunidad innata como las enzimas digestivas, la motilidad, el moco, el glicocálix y la renovación del epitelio. Además, se cuenta con mecanismos de protección propios de la respuesta inmunológica específica que se produce en el tejido linfoide asociado al tracto digestivo (Kato y Owen, 1994). El sistema inmunológico gastrointestinal incluye a los nódulos linfáticos solitarios y a las placas de Peyer; los antígenos son llevados a estos sitios, donde son procesados y presentados, iniciándose así la respuesta inmunológica. La lámina propia es un sitio efector de la respuesta inmunológica, en ella las células T CD4+ producen citocinas que ayudan a los linfocitos B a transformarse en células plasmáticas productora de anticuerpos (IgA principalmente). También se encuentran linfocitos T CD8+ con capacidad citotóxica, macrófagos, eosinófilos y células cebadas, las dos últimas poseen en sus gránulos intracitoplásmicos una gran cantidad de sustancias tóxicas que pueden ser liberadas al medio como mecanismos de protección (Pascual y cols., 1996).

Los nódulos linfáticos solitarios están diseminados a todo lo largo del intestino delgado, son más abundantes y mayores en la porción distal. Aparecen a simple vista como áreas pequeñas prominentes, redondas u ovals desprovistas de vellosidades, a los grupos de nódulos reunidos se les llama placas de Peyer (Fawcett, 1991). Las placas de Peyer aparecen en el íleon, pero también pueden verse en otros sitios; se localizan siempre en la pared intestinal y macroscópicamente se observan como áreas gruesas y alargadas que miden de 12 a 20 mm de diámetro. El epitelio que cubre a las placas de Peyer está compuesto primordialmente por células M, linfocitos, enterocitos y algunas células caliciformes. La región central de las placas de Peyer son áreas foliculares ricas en linfocitos B que contienen centros germinales; los linfocitos T se encuentran en la periferia rodeando a los folículos. Las células M toman moléculas o partículas antigénicas del lumen por endocitosis o fagocitosis, son transportadas al interior de la célula en

pequeñas vesículas, las que posteriormente son liberadas en el espacio extracelular, y son capturadas por las células dendríticas que presentan los antígenos a los linfocitos T. Tras su activación, los linfocitos pasan a la linfa y después de viajar a través de los ganglios linfáticos mesentéricos y el conducto torácico, que los lleva al torrente sanguíneo, pasan hacia la lámina propia de la mucosa intestinal donde ahora se comportan como células efectoras (Pascual y cols., 1996; Janeway, 2001).

### **Anticuerpos en la mucosa intestinal**

Por lo general los anticuerpos de la clase IgA están presentes en altas concentraciones en las secreciones de las mucosas en comparación con otras clases de anticuerpos. La IgA en las mucosas se une a los microorganismos para reducir su motilidad, crecimiento y propiedades adhesivas, de tal manera que se disminuye la habilidad de los microorganismos para adherirse al epitelio e impedir su entrada al medio interno del organismo. Se ha demostrado que los anticuerpos IgA tienen la capacidad de neutralizar virus y bacterias, pueden actuar directamente sobre los parásitos e inducir una reacción citotóxica al unirse a receptores presentes en los linfocitos citotóxicos, neutrófilos y monocitos (Befus, 1995; Brandtzaeg y cols., 1999); aunque se desconoce el mecanismo exacto por medio del cual llevan a cabo estas funciones (Underdown y Mestecky, 1994; Janeway, 2001).

La IgA en los seres humanos existe como dos isoformas, IgA1 e IgA2; en la circulación se encuentra como monómero (IgA1) y en las mucosas como dímero (IgA2) ya que la IgA2 es más resistente a la digestión enzimática. Las células plasmáticas de la lámina propia son la que secretan la IgA como dímero; una vez secretada se une a un receptor específico presente en las células epiteliales localizadas en la base de las criptas intestinales, en donde la IgA2 se internaliza y transporta en pequeñas vesículas a la superficie luminal. En la superficie de las células epiteliales, el receptor se digiere enzimáticamente, dejando sólo un pequeño péptido unido a la

fracción cristalizable de los anticuerpos, a este péptido se le conoce como componente secretor y le confiere protección contra la digestión proteolítica (Brandtzaeg y cols., 1999; Janeway, 2001).

Además de la IgA se encuentran otras inmunoglobulinas en las secreciones intestinales; la IgM que es pentamérica se transporta activamente a través de las células epiteliales de la mucosa utilizando el mismo receptor de la IgA y puede llevar a cabo funciones similares en la protección de las mucosas; sin embargo, la concentración de IgM es mucho menor que la de IgA. En algunas especies de mamíferos la concentración de IgG en las mucosas es casi igual a la de la IgM, la cual se puede sintetizar localmente y mediante difusión pasiva se transporta al lumen, aunque solo llega en pequeñas cantidades y su actividad protectora se ve limitada debido a que su degradación proteolítica es alta. En procesos patológicos se puede encontrar la IgG en concentraciones elevadas en la mucosa intestinal (Underdown y Mestecky, 1994; Brandtzaeg y cols., 1999).

### **Respuesta inmunológica contra helmintos intestinales**

Las helmintiasis intestinales representan las infecciones parasitarias de mayor prevalencia en los seres humanos y en otros mamíferos. En los países en desarrollo se estima que entre un 30 a 50% de los individuos están infectados con una o más especies de parásitos y las infecciones se adquieren generalmente a temprana edad. Los helmintos intestinales aseguran su permanencia en la naturaleza al liberar sus huevos o larvas infectivas con las heces de los individuos parasitados, las que pueden contaminar el medio y de esta manera favorecer su diseminación y transmisión hacia otros hospederos (Maizels y cols., 1993; Bundy, 1995, Genta, 1996). Los helmintos producen daño mediante acciones mecánicas, bioquímicas y fisiológicas. La patogenicidad de la enfermedad se relaciona directamente con el daño o la lisis del tejido ocasionada por el parásito y también con la respuesta del hospedero que incluye diversos factores inmunológicos, bioquímicos y fisiológicos producidos con el fin de eliminar al agente dañino

(Zhang y Castro, 1996; Barriga, 1998).

Los parásitos intestinales inducen una respuesta inmune humoral y celular en el hospedero que se asocia principalmente con eosinofilia local y sistémica, elevación de los niveles de IgE en el suero y mastocitosis intestinal (Rotwell, 1989; Befus, 1995, Falcone y cols., 2001). No se conocen con exactitud los mecanismos que se llevan a cabo en la respuesta contra helmintos, pero en infecciones experimentales con nemátodos se observa, en un principio, inflamación inespecífica con acumulación local de componentes del complemento, neutrófilos, mastocitos, síntesis de IL-3, IL-5 e IL-6 por parte de las células cebadas y de otros leucocitos (Barriga, 1998). Estas citocinas son las responsables de comprometer y expandir la población local de linfocitos T CD4+ y promover el fenotipo Th<sub>2</sub> (T cooperador, productor de IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10 e IL-13); además tienen efecto directo sobre las células epiteliales, al modificar el transporte de agua y la concentración de electrolitos (Mosmann y cols., 1986). Las citocinas secretadas llevan a cabo varias funciones, la IL-3, la IL-4 y la IL-10 favorecen la producción de mastocitos; la IL-5 la diferenciación de los eosinófilos y la IL-4 también actúa sobre los linfocitos B para promover la síntesis de IgE; la IL-13 genera hiperplasia de células caliciformes (Befus, 1995; Barriga, 1998; McKenzie y cols., 1998).

Los parásitos inducen la síntesis de anticuerpos con diferentes especificidades, por lo que muchos de los anticuerpos producidos por el hospedero no son específicos para el parásito, sino que reconocen una amplia gama de antígenos heterólogos (Pritchard, 1993). Además de la respuesta de anticuerpos IgE también se producen anticuerpos IgG, IgA e IgM, los cuales han sido estudiados principalmente a nivel sistémico (Genta, 1996). La producción elevada de anticuerpos IgE puede conducir a una respuesta de hipersensibilidad tipo I con liberación de mediadores inflamatorios por parte de las células cebadas y de los basófilos; sin embargo, esta patología raramente se presenta debido a que los individuos producen "anticuerpos bloqueadores"

de clase IgG4 que compiten por los receptores de alta afinidad para la IgE (Fc $\epsilon$ RI), o debido a la heterogeneidad en el reconocimiento antigénico que muestra la IgE. Se propone también que los anticuerpos IgE pueden llevar a cabo el fenómeno de citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) ya que los eosinófilos y los macrófagos poseen un receptor de baja afinidad para IgE (Fc $\epsilon$ RII) y al inducir los parásitos anticuerpos específicos IgE se unen al receptor Fc $\epsilon$ RII, por lo que se activan las células y se produce degranulación liberándose sustancias tóxicas contra el parásito (Capron y cols., 1986; Pritchard, 1993).

En infecciones por *Taenia taeniaeformis* en ratas se ha demostrado que los anticuerpos IgA confieren resistencia contra el desafío (Leid y Williams, 1974). Entre el 85 a 95% de los pacientes con estrongiloidosis crónica tienen anticuerpos séricos IgG específicos que reconocen antígenos de la larva filariforme y aproximadamente el 80% de todos los pacientes tienen anticuerpos IgA en suero que reaccionan con antígenos de *Strongyloides stercoralis*, aunque no se ha demostrado que estos anticuerpos induzcan protección. Por otra parte, en infecciones por *Trichuris trichiura* y *Ascaris lumbricoides* sólo se ha visto que existe correlación entre la presencia de anticuerpos IgG séricos y la intensidad de la infección (Genta y Weil, 1982; Haswell-Elkins y cols., 1989; Needham y cols., 1992).

En cuanto a la respuesta celular, en los pacientes infectados con helmintos se reporta eosinofilia periférica, con excepción de las infecciones por *Enterobius vermicularis*. Esta respuesta es dependiente de la presencia de IL-5, la cual, junto con IL-3 y el factor estimulante de crecimiento de granulocitos y monocitos, promueven la maduración y liberación de eosinófilos por parte de la médula ósea (Befus, 1995). No está clara la participación de los eosinófilos en las infecciones parasitarias, se sabe que estas células al igual que los mastocitos poseen una amplia variedad de sustancias tóxicas (proteínas específicas del eosinófilo, proteasas, mediadores del ácido araquidónico y metabolitos del oxígeno y óxido nítrico), así como citocinas y quimiocinas

químioatrayentes para otras células que pueden amplificar la respuesta inmune e inflamatoria en el hospedero. Su participación dentro de las parasitosis se apoya en que se ha observado que los eosinófilos pueden inmovilizar a los parásitos *in vitro*; se acumulan cerca de los helmintos intactos o dañados y liberan sus compuestos tóxicos (Behm y Ovington, 2000). Sin embargo, en infecciones experimentales en ratones transgénicos deficientes de IL-5 o del receptor de IL-5 los resultados son muy contradictorios, en algunos casos se ha presentado incremento en el número de parásitos, aumento de su longevidad y fecundidad y en otros estudios no se ha visto algún efecto (Dent y cols., 1997; Behm y Ovington, 2000).

### **Participación de las células cebadas en la respuesta contra helmintos intestinales**

Las células cebadas o mastocitos son una población celular multifuncional que juega un papel crítico en la defensa del hospedero contra organismos patógenos (Malaviya y cols., 1996). Estas células pueden ser activadas en la inmunidad innata mediante componentes del complemento, por la unión de receptores con ligandos bacterianos y en la inmunidad específica por medio de la interacción del receptor Fc $\epsilon$ RI con la IgE y funcionan como amplificadoras de las respuestas de inmunidad innata y específica. Además, varios de sus mediadores tienen efecto sobre el sistema nervioso en mucosas provocando algunos cambios fisiológicos e induciendo hipersecreción de moco por parte de las células caliciformes o contracción del músculo liso (Befus, 1995; Genta, 1996).

Los mastocitos se derivan de un progenitor hematopoyético CD34+ y completan su diferenciación en los tejidos; no se encuentran en circulación y pueden vivir por meses o incluso años (Bochner y Schleimer, 2001). Por su localización, los mastocitos se dividen en células cebadas de tejido conectivo y células cebadas de mucosa, cada una con características propias (Befus, 1994). El citoplasma de los mastocitos posee una gran cantidad de gránulos que contienen mediadores inflamatorios, incluyendo histamina, metabolitos del ácido araquidónico,

proteoglicanos, proteasas, factores quimiotácticos, citocinas y óxido nítrico; los que son liberados cuando las células son estimuladas por anticuerpos IgE, ionóforos de calcio, sustancia P, citocinas, antígenos bacterianos y parasitarios (Beaven y Metzger, 1993; Bischoff, 2000). La capacidad de las células cebadas para liberar citocinas tales como IL-1, 3, 6, 8, 10, 12, 13, factor de crecimiento de granulocitos y monocitos (FC-GM), factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), factor quimioatrayente de monocitos (MCP-1), proteína inflamatoria del macrófago (MIP-1 $\alpha$ ) y proteína reguladora y secretada por células T activas (RANTES) indica que dirigen la respuesta inmune y regulan la acción de los linfocitos T y B (Mecheri y David, 1997). Estas quimiocinas atraen células inflamatorias a la zona de daño y al mismo tiempo el MIP-1 $\alpha$  y el MCP-1 actúan sobre los propios mastocitos haciendo que degranulen y liberen serotonina, histamina y otros mediadores (Bischoff, 2000; Wedemeyer y cols., 2000).

Las células cebadas tienen la capacidad de fagocitar diferentes tipos de partículas inertes, enterovirus y enterobacterias (Sher y cols., 1979; Malaviya y cols., 1994) y mediante mecanismos dependientes de radicales de oxígeno pueden destruir a las bacterias ingeridas (Bochner y Schleimer, 2001). Sin embargo, la eficiencia fagocítica de las células cebadas es menor en comparación con la que realizan los fagocitos profesionales como los neutrófilos y los macrófagos (Abraham y Malaviya, 1997). En experimentos realizados *in vitro* se ha visto que estas células pueden funcionar como células presentadoras de antígenos debido a que poseen moléculas de clase I y II del MHC (Malaviya y cols., 1996; Frandji y cols., 1996). Por otro lado, los mastocitos pueden interactuar con los linfocitos B directamente e inducir la secreción de IgE (Henz y cols., 2001).

En infecciones por nemátodos se ha visto aumento de mastocitos en la mucosa intestinal, además su presencia y actividad se ha relacionado con la eliminación de parásitos (Pritchard y cols., 1997; Wedemeyer y cols., 2000). En infecciones de roedores con *Strongyloides sp* y *T.*

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

*spiralis* en ratas, las células cebadas de mucosa así como los componentes de sus gránulos juegan un papel central en la defensa contra estos parásitos (Nawa y Korenaga, 1983; Grecnis, 1987; Urban y cols., 2000). La expulsión de *Strongyloides venezuelensis* en ratas y ratones infectados experimentalmente es dependiente de células cebadas, el mediador involucrado es el sulfato de condroitina; sin embargo en los jerbos, cuyos mastocitos son deficientes de este mediador, no se eliminan los parásitos y permanecen infectados crónicamente, al igual que los ratones deficientes en células cebadas (Abe y cols., 1993; Horii y cols., 1993; Shi y cols., 1994). Además, cuando se administran inyecciones repetidas de IL-3 recombinante a ratones infectados con *S. ratti*, se observa incremento en el número de células cebadas en mucosa y el de sus precursores en bazo y nódulos linfáticos, con una reducción considerable de la carga parasitaria del tracto digestivo (Abe y cols., 1993).

En la expulsión de *T. spiralis* participan células cebadas y anticuerpos IgE, tanto en la infección primaria como secundaria, en ratones y ratas (Moqbel y cols., 1987). La interacción de moléculas del parásito con las células cebadas hace que los mastocitos liberen mediadores proinflamatorios que incrementan la permeabilidad vascular, activan eosinófilos e inducen a las células caliciformes a que aumenten la producción de moco y se incremente el peristaltismo, originando un proceso inflamatorio en el intestino de los animales infectados, que puede impedir el establecimiento del parásito y promover su expulsión (Moqbel y cols., 1987). Además, en estudios realizados *in vitro*, se ha demostrado que las células cebadas pueden ser activadas directamente sin la participación de IgE por promastigotes vivos de *Leishmania major* o *L. infantum* (Bidri y cols., 1997) e incluso por antígenos de superficie de la larva muscular de *T. spiralis*, con la subsiguiente liberación de histamina, proteasas y TNF- $\alpha$ , por lo que esta vía de activación de las células cebadas puede participar en la expulsión rápida de los adultos de *T. spiralis* del intestino de ratas (Arizmendi y cols., 2001).



En infecciones por céstodos se observa hiperplasia de las células cebadas en ratas infectadas con *Hymenolepis diminuta* y en ratones con *H. nana* (Featherston y cols., 1992; Ishih, 1994; Watanabe y cols., 1994). En ratones infectados con *Hymenolepis nana*, la expulsión del parásito está mediada por anticuerpos IgE y por células cebadas. Cuando los ratones son deficientes en este tipo de células o no producen esta clase de inmunoglobulina la expulsión de los parásitos es más lenta (Watanabe y cols., 1994). En cambio, en la infección por *H. diminuta* en ratas se ha demostrado que sólo en algunas cepas se desarrolla mastocitosis con aumento en la liberación de proteasa tipo II, lo que depende de la carga parasitaria; pero no se demostró una participación directa de las células cebadas en la expulsión de este parásito (Featherston y cols., 1992; Ishih, 1994). En hámsteres infectados con el estadio adulto de *T. crassiceps* se observó expulsión de las tenias a partir de los 10 días postinfección, presentándose un incremento en la actividad de las enzimas eosinofilperoxidasa y mieloperoxidasa, a nivel de la mucosa intestinal correspondiente al área de implantación de las tenias, así como aumento en el número de células cebadas en la lámina propia; estos incrementos fueron dependientes de la carga parasitaria y, en hámsteres inmunodeprimidos con prednisolona, la respuesta inflamatoria se abatió considerablemente y no se presentó expulsión de las tenias (Sato y cols., 1994).

En lo referente a infecciones por helmintos en seres humanos hay poca información sobre la participación de los mastocitos en la respuesta que se desarrolla en la mucosa intestinal. En biopsias de intestino delgado de pacientes infectados con *Trichinella spiralis*, *Giardia lamblia* o *Taenia sp.* se observó mastocitosis únicamente en los pacientes infectados con *T. spiralis*, había células cebadas tanto en la mucosa como en el tejido conectivo (Gustowska y cols., 1983). En el colon de niños con disentería por *Trichuris trichiura* se demostró la presencia de hipersensibilidad inmediata, el número total de mastocitos y el de mastocitos que presentaban IgE en su membrana fue mayor en estos niños en comparación con el grupo control; por microscopía electrónica se observó mayor degranulación de los mastocitos en los pacientes; además, en el cultivo de las

biopsias de los niños parasitados la liberación de histamina fue mayor, después del tratamiento con albendazol la liberación de histamina se redujo significativamente (Cooper y cols., 1991). En infecciones experimentales en primates con *Strongyloides stercolaris* se observó a los dos meses postinfección incremento de mastocitos en la mucosa del yeyuno y en el cultivo de las biopsias se detectó mayor liberación espontánea de histamina; sin embargo, a los 17 meses de infección cuando los animales estaban en la fase crónica de la infección donde se excretaban pocas larvas y adultos de *S. stercolaris*, el número de mastocitos y la liberación de histamina prácticamente regresaron a valores normales (Barret y cols., 1988).

## JUSTIFICACION

Los estudios realizados en diferentes mamíferos infectados con helmintos intestinales señalan que se presenta una reacción inflamatoria en la mucosa intestinal, con aumento en el número y actividad de las células cebadas y que posterior a la eliminación de los parásitos, los mastocitos regresan a valores normales, por lo que se han relacionado a estas células con la eliminación de dichos parásitos (Pritchard y cols., 1997; Wedemeyer y cols., 2000).

En el caso de *T. solium* no se conocen los mecanismos por los cuales el parásito es expulsado del intestino delgado de su hospedero definitivo, ni tampoco lo que sucede en los modelos experimentales del hámster y el jerbo. Sin embargo, se ha demostrado que *T. solium* induce una respuesta inmune así como una respuesta inflamatoria a nivel intestinal en hámsteres no inmunodeprimidos (Monroy-Ostria y cols., 1993; Benítez, 1996; Aguilar, 2001), aunque éstas no han sido caracterizadas completamente. Además, se sabe que en animales inmunodeprimidos con metil prednisolona se abate la respuesta inflamatoria local, permitiendo que la tenia sobreviva durante más tiempo en el intestino delgado del hámster y del jerbo, siendo probable que una de las poblaciones celulares afectadas sean las células cebadas.

Al estudiar la participación de las células cebadas en la respuesta local contra *T. solium*, generada en jerbos y hámsteres, se podrán dilucidar algunos de los mecanismos inmunológicos que intervienen en la sobrevivencia o eliminación de este parásito en ambos modelos experimentales y de esta manera profundizar en el conocimiento de la relación hospedero-parásito en la teniosis por *T. solium*.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## HIPOTESIS

*Taenia solium* induce una reacción inflamatoria en la mucosa intestinal, con incremento en el número y actividad de células cebadas en jerbos y hámsteres infectados experimentalmente, lo que favorece la expulsión de las tenias.

## OBJETIVO GENERAL

Estudiar la actividad y cantidad de células cebadas en la mucosa intestinal de jerbos y hámsteres infectados experimentalmente con el estadio adulto de *Taenia solium*.

## OBJETIVOS PARTICULARES

1. Reproducir la teniosis por *Taenia solium* en los modelos experimentales del jerbo mongol y el hámster dorado tanto en animales no inmunodeprimidos como inmunodeprimidos con el esteroide acetato de metil prednisolona.
2. Identificar, mediante tinciones específicas, a las células cebadas en la mucosa del intestino delgado y cuantificarlas en diferentes días postinfección, así como en controles no infectados.
3. Determinar y cuantificar la presencia de histamina en lavados intestinales en los modelos experimentales y en animales no infectados.
4. Comparar estos resultados en el jerbo y hámster para valorarlos como modelos experimentales para *Taenia solium* intestinal.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## METODOLOGIA

Diagrama de flujo de las actividades que se llevaron a cabo para la realización del presente estudio.

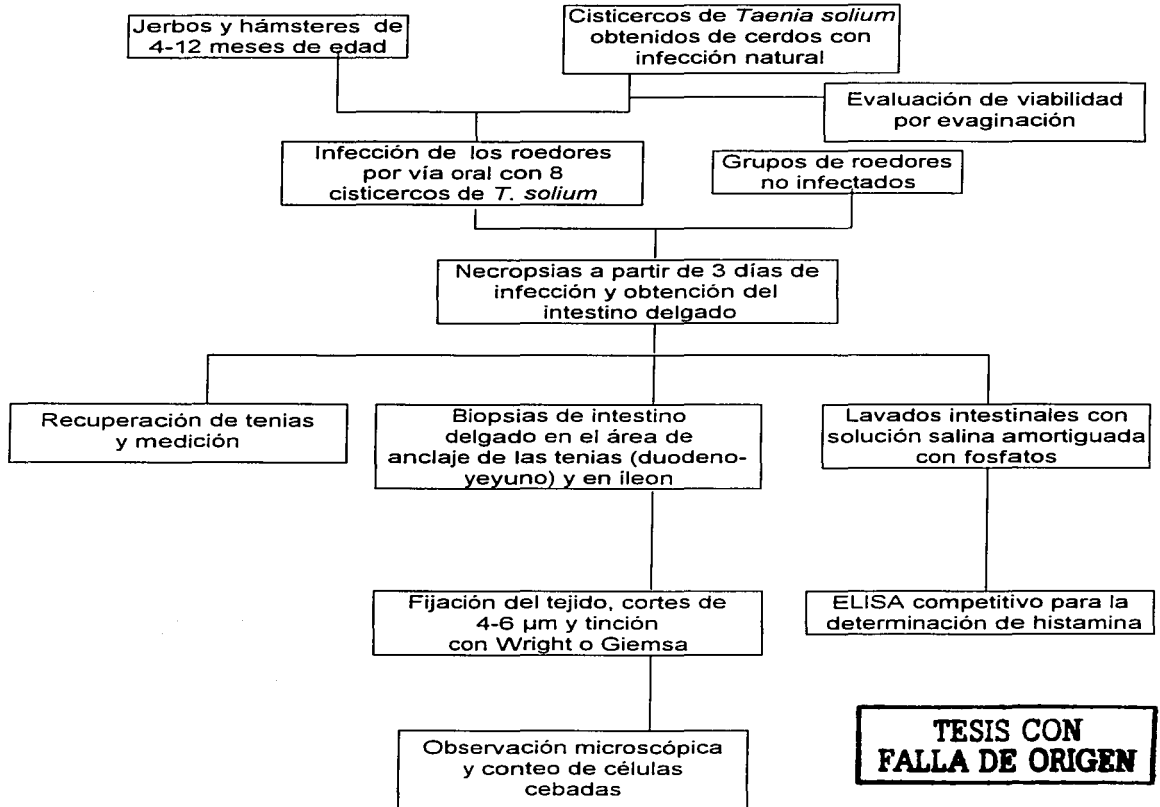


Figura 3. Estrategia experimental para el estudio de células cebadas en los modelos experimentales de teniosis en jerbos y hámsteres.

## **Modelos experimentales**

Se utilizaron jerbos mongoles (*Meriones unguiculatus*) y hámsteres dorados (*Mesocricetus auratus*) machos y hembras de 4 a 12 meses de edad; los jerbos fueron obtenidos del Centro de Investigación y Estudios Avanzados (CINVESTAV, IPN) y los hámsteres del Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos (InDRE, SSA). Los animales se mantuvieron en el bioterio del InDRE bajo condiciones convencionales, se les proporcionó agua y alimento estériles *ad libitum*. Los animales fueron desparasitados por vía oral con una cánula una semana antes de la infección con 20 mg/kg de metronidazol (Rhone Poulenc) durante cinco días, 50 mg/kg de mebendazol (Sanfer) durante tres días y con una dosis única de 30 mg/kg de praziquantel (Merck).

## **Obtención de cisticercos de *T. solium***

Los cisticercos de *T. solium* se extrajeron por disección del músculo esquelético de cerdos infectados de manera natural. A los cisticercos se les eliminó la vesícula y el líquido, los escólices completos se colocaron en solución salina (0.15M NaCl) amortiguada con fosfatos (0.02M  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , 0.0014M  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ), pH 7.2 (SSAF) a 4°C. Los cisticercos se dividieron en dos grupos, uno se usó para infectar a los animales y el otro grupo de 20 cisticercos se utilizó para determinar la viabilidad mediante la prueba de evaginación *in vitro* utilizando 25% de bilis de cerdo en RPMI (Gibco), la mezcla se dejó en incubación durante 4 horas a 37°C, posteriormente se contó el número de cisticercos evaginados que presentaban movimiento (Correa y cols., 1987).

## **Grupos experimentales y protocolo de infección**

El presente trabajo se realizó a lo largo de tres años, durante su desarrollo se tuvieron algunas dificultades para conseguir al mismo tiempo cisticercos y animales, debido a esto se utilizaron diferentes lotes de cisticercos para infectar a grupos de roedores los que además fueron de diferentes edades pero que estuvieron disponibles en el momento en que se consiguió el

material infectante. Los animales fueron infectados *per os* con ocho cisticercos de *T. solium* en el primer día del experimento, un grupo de jerbos fue inmunodeprimido con 6 mg de acetato de metil prednisolona (Depomedrol, Up-John) en el día de la infección y posteriormente cada catorce días. Se contó además con jerbos y hámsteres que no fueron infectados que se utilizaron como grupos testigo.

#### **Obtención del estadio adulto de *T. solium***

Se realizaron necropsias de tres a cinco roedores de cada grupo a partir de los tres días postinfección (DPI). Los animales se sacrificaron siguiendo la Ley de Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio con una sobredosis de pentobarbital sódico (Sedalphorte, Salud y Bienestar Animal), se extrajo el intestino delgado, que se colocó en una caja de Petri de 14 cm de diámetro y se abrió a todo lo largo. Con la ayuda de un microscopio estereoscópico se localizó el área donde estaban adheridas las tenias o cuando los parásitos se desprendieron de la mucosa intestinal se buscaron zonas más pequeñas que la cabeza de un alfiler desprovistas de epitelio, vellosidades y con enrojecimiento. Se midió la distancia a partir del píloro a la cual se encontraban los sitios de anclaje de las tenias y se contó el número de parásitos. Las tenias que se desprendieron de la mucosa intestinal se lavaron con SSAF, se midieron y se verificó la presencia de un escólex provisto con cuatro ventosas musculares inermes, un rostelo armado con doble corona de ganchos y cuando fue posible se identificaron los órganos reproductores masculinos y femeninos. Cuando las tenias no se desprendieron se fijaron con la biopsia de la zona de anclaje.

#### **Obtención de lavados intestinales**

Una vez localizado el sitio de anclaje de las tenias, los intestinos se lavaron con 4 ml de SSAF, se colectó el líquido del lavado intestinal y se centrifugó a 5000 x g, se hicieron fracciones del sobrenadante y se mantuvieron en congelación a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta el momento de su uso para la determinación de histamina.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## **Recuperación y procesamiento de las biopsias de intestino delgado**

Se tomaron biopsias de tejido de aproximadamente un centímetro correspondientes al sitio de anclaje de las tenias (duodeno-yeyuno), o en una posición similar en los animales no infectados, a estas biopsias se les denominó parte anterior. Como testigo se tomaron otras biopsias de cada animal correspondientes al íleon, a una distancia aproximada de cinco cm antes del ciego, a esta muestra se le llamó parte posterior. Estas muestras de tejido se fijaron en formol al 10% amortiguado con fosfatos (0.029M  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , 0.046M  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) o en solución de Carnoy (Etanol absoluto 60 ml, Cloroformo 30 ml y Acido Acético glacial 10 ml) y se deshidrataron con etanol para ser embebidas en parafina durante 12 horas. Se hicieron cortes de 4-6  $\mu\text{m}$  que se tiñeron con colorante de Wright o Giemsa (Gurr, 1962) los que se montaron con resina sintética. En un microscopio de luz con los objetivos de 4, 20 y 40X se identificaron a las células cebadas que estaban presentes en la lámina propia tanto en las vellosidades como en las criptas, se contó el número de células cebadas presentes y se reportó el total de mastocitos por 10 unidades de criptas, considerando cada cripta como una unidad (Miller y Jarret, 1971).

Tinción de los cortes histológicos con colorante de Wright o Giemsa

1. Las preparaciones se desparafinaron en xileno (dos cambios) y posteriormente se hidrataron en alcoholes etílicos en concentraciones descendentes graduales. En el xileno se mantuvieron 10 minutos en cada cambio y durante un minuto en cada uno de los alcoholes.
2. Los especímenes se tiñeron con colorante de Wright o Giemsa durante una hora, posteriormente se eliminó el exceso de colorante.
3. Las preparaciones se lavaron con agua corriente durante un minuto.
4. Los tejidos se deshidrataron en alcoholes etílicos en concentraciones ascendentes graduales, durante un minuto en cada cambio.



5. Las muestras se sumergieron durante un minuto en etanol:xileno al 50% y en xileno, durante un minuto en cada paso.

Cuando las biopsias se fijan en formol amortiguado y los cortes se tiñen con colorante de Wright, el tejido se observa de color azul a morado claro, las células cebadas toman una coloración morada intensa con los gránulos morado oscuro y el citoplasma en un tono azul a morado claro; si el tejido se fija con Carnoy y se tiñe con Wright, las células se ven del mismo color pero el tejido toma un color entre rosa a morado. El tejido fijado en formol amortiguado y teñido con colorante de Giemsa se ve de color azul claro, las células cebadas se aprecian de color rosa intenso a púrpura con los gránulos en un tono mas intenso; si la biopsia se fija en Carnoy y se tiñe con Giemsa el tejido se ve azul claro y las células cebadas en un tono azul a morado oscuro con los gránulos de color morado (Gurr, 1962).

#### **Determinación de la concentración de histamina en los lavados intestinales**

La determinación de histamina en los lavados intestinales se hizo por medio de un ensayo inmunoenzimático (ELISA) de competencia con un equipo comercial (Histamine, enzyme immunoassay kit, 2015, Immunotech), en el cual se utiliza un anticuerpo monoclonal anti-histamina para capturar la histamina presente en las muestras. Se siguieron las instrucciones del fabricante para el procesamiento y análisis de los lavados intestinales

Procedimiento para la determinación de histamina en los lavados intestinales

1. Reacción química de acilación. Para poder detectar la histamina en la muestra problema debe de conjugarse a un grupo acilo, ya que el anticuerpo monoclonal que se utiliza en el ensayo reacciona con el epitopo que se forma entre este grupo químico y la histamina.
2. Reacción inmunológica. La placa de ELISA está forrada con el anticuerpo monoclonal, se agregan 50 µl de estándares de histamina, muestras problema o muestras control positivas

- o negativas por duplicado (todos los reactivos deben someterse a una reacción de acilación antes de adicionarse a la placa), enseguida se agregan 200  $\mu$ l de histamina acilada conjugada con fosfatasa alcalina. Se incuba durante dos horas a 4°C con agitación constante. Se hacen tres lavados con la solución de lavado.
3. Reacción enzimática. Se agregan 200  $\mu$ l por pozo de para-nitro-fenol-fosfato diluido en amortiguador de dietanol amina-HCl, pH 9.8. Se incuba durante 30 minutos a temperatura ambiente en la oscuridad y con agitación constante.
  4. Lectura de absorbencia y determinación de la concentración de histamina. Se adicionan 50  $\mu$ l de NaOH 1 N por pozo para detener la reacción, se lee la absorbencia en un espectrofotómetro de ELISA a 405 nm de longitud de onda. Con los resultados de absorbencia de los estándares de histamina se construye la curva estándar, se calcula la concentración de histamina presente en las muestras mediante interpolación en la curva y los resultados se multiplican por el factor de dilución para obtener la concentración de histamina en ng/ml de la muestra.

### **Análisis estadístico**

El número de tenias y de células cebadas, la concentración de histamina en los lavados intestinales, así como el tiempo de eliminación de las tenias se sometieron a un análisis de varianza mediante pruebas estadísticas no paramétricas de Kruskal-Wallis y U-Mann-Whitney (Daniel, 1987), con una significancia de  $p < 0.05$ . Para determinar la relación entre la eficiencia de la infección por *T. solium* en los grupos de jerbos con respecto al porcentaje de evaginación de los cisticercos, se realizó un análisis de correlación de rangos de Spearman (Daniel, 1987). Todos los datos fueron analizados usando el programa estadístico EPISTAT.

## RESULTADOS

### RECUPERACIÓN Y DESARROLLO DE *T. solium* EN LOS MODELOS EXPERIMENTALES

#### Infecciones en jerbos

Se realizaron seis infecciones de los roedores en las que se utilizaron animales de diferentes edades, así como cisticercos con diferentes grados de evaginación (Cuadro 1). Para cada una de las infecciones se calculó la eficiencia de la infección (tenias recuperadas con respecto a cisticercos administrados). Como puede verse en el cuadro 1 la eficiencia de la infección en jerbos no inmunodeprimidos varió del 12 al 27%; se recuperó un bajo número de tenias en los jerbos que fueron infectados con cisticercos que presentaron una evaginación del 70% (grupos JIII, JIV y JV), la eficiencia de la infección en estos animales fue del 12 al 19%, siendo los animales del grupo JIV, de 12 meses de edad, los que menos se infectaron. En los animales de 12 y 8 meses de edad (grupos JI y JII) que se infectaron con cisticercos cuyos porcentajes de evaginación fueron mayores al 90%, la recuperación de tenias fue del 21% y del 27% respectivamente; cuando los jerbos fueron inmunodeprimidos con esteroides (grupo JVI) la recuperación de tenias ascendió a un 32%. El análisis estadístico mostró diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en la recuperación de tenias entre el grupo inmunodeprimido con respecto a los demás grupos de jerbos y entre el grupo JII y los animales de los grupos JIV y JV. No hubo diferencias en el número de tenias recuperadas ( $p > 0.05$ ) entre los grupos JIII, JIV y JV que fueron infectados con cisticercos con 70% de evaginación. Se observó que la recuperación de las tenias en los jerbos no inmunodeprimidos presentó una correlación lineal positiva con el porcentaje de evaginación de los cisticercos ( $r_s = 0.89$ ,  $p < 0.05$ ), es decir que a mayor porcentaje de evaginación, aumentó la recuperación de tenias a la necropsia de los jerbos.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Cuadro 1. Características de los grupos experimentales de jerbos y hámsteres infectados con cisticercos de *T. solium* y resultados obtenidos.

Especie	Jerbo (J)						Hámster (H)		
	I	II	III	IV	V	VI	I	II	III
Número de animales <sup>a</sup>	25	51	29	29	29	29	12	33	20
Edad de los animales (meses)	12	8	4	12	8	8	10	8	4
Evaginación de cisticercos (%)	95 <sup>b</sup>	98 <sup>c</sup>	70 <sup>d</sup>	70 <sup>e</sup>	70 <sup>e</sup>	98 <sup>f</sup>	95 <sup>b</sup>	98 <sup>c</sup>	70 <sup>e</sup>
Esteroide <sup>g</sup> (mg)	0	0	0	0	0	18	0	0	0
Duración del experimento <sup>h</sup> (días)	39	25	15	21	21	36	42	48	24
Total de tenias obtenidas (número)	43	110	43	27	30	58	49	85	10
Eficiencia de la infección (%)	21	27	19	12	14	32	51	32	16

a. Cada animal se infectó con 8 cisticercos por vía oral

b,c,d,e,f. Lotes de cisticercos

g. Acetato de metil prednisolona. A los animales del grupo VI se les administraron tres dosis de 6 mg del esteroide por vía intramuscular, la primera en el día de la infección y posteriormente cada 14 días

h. Tiempo en el cual se sacrificaron los últimos animales de cada grupo

El número de tenias recuperadas por jerbo varió de 1 a 7, en los animales no inmunodeprimidos las mayores cargas parasitarias se obtuvieron durante los primeros 9 días de infección, con excepción de los grupos JI y JII que presentaron un aumento en el número de tenias a los 19 y 13 DPI respectivamente (Figura 4). Posteriormente hubo un descenso en la carga parasitaria, la cual fue más notoria en los animales de los grupos JIII, JIV y JV que fueron infectados con cisticercos cuya evaginación fue del 70%. Debido a que los animales se infectaron con 8 cisticercos, se obtuvieron infecciones con múltiples tenias durante los primeros 9 días postinfección en todos los grupos de jerbos. En los animales que fueron infectados con cisticercos con más del 90% de evaginación, las infecciones únicas se presentaron en el 20% de los jerbos a partir de los 11 DPI y desde los 21 DPI solo se obtuvo una tenia por animal, aunque algunos

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

jerbos perdieron la infección desde los 17 DPI y un animal del grupo JI estuvo parasitado con una tenia hasta los 39 DPI (Figura 4). Por otro lado, en los jerbos que fueron infectados con cisticercos con 70% de evaginación, las infecciones únicas se presentaron en el 33% de los animales a partir de los 11 DPI y también un 33% de los jerbos perdieron la infección; a los 17 DPI ningún animal del grupo JIII estuvo parasitado y solo un jerbo de los grupos JIV y JV estuvieron infectados a los 21 DPI (Figura 4).

Al analizar el tiempo en el cual los jerbos no inmunodeprimidos eliminaron a las tenias, se observaron diferencias estadísticas ( $p < 0.05$ ) entre los grupos que se infectaron con cisticercos con 95 o con 98% de evaginación (grupos JI y JII) con respecto a los que fueron infectados con cisticercos con 70% de evaginación. Entre los grupos JIII, JIV y JV en los que se emplearon cisticercos con 70% de evaginación no hubo diferencias estadísticas significativas ( $p > 0.05$ ). En los jerbos del grupo JVI (inmunodeprimidos), se recuperaron de un 25% a 43% de tenias durante el experimento (Figura 4). El número de parásitos por jerbo varió de 1 a 6, las infecciones únicas se presentaron a partir de los 17 DPI en el 20% de los animales y a los 36 DPI que se terminó el experimento debido al deterioro en el estado físico de los animales por el esteroide, el 50% de los animales presentaron infecciones únicas, aunque hubo un animal que estuvo parasitado con cuatro tenias.

El 92% de las tenias se localizaron en el primer tercio del intestino delgado, a los 6.5 cm ( $\pm 2.8$  cm) y solo un 8% de las tenias estuvieron adheridas al inicio del segundo tercio del intestino delgado, a los 11.5 cm por debajo del píloro. Las tenias de menor tamaño se obtuvieron de los animales inmunodeprimidos, midieron de 0.3 a 2.0 cm con un promedio de 0.6 ( $\pm 0.3$ ) cm y no hubo incremento en el tamaño con respecto a los días de infección. En contraste, en los jerbos del grupo JVI inmunodeprimidos se recuperaron las tenias de mayor tamaño, incrementando su longitud al avanzar los días de infección; durante los primeros nueve días de infección, el tamaño

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

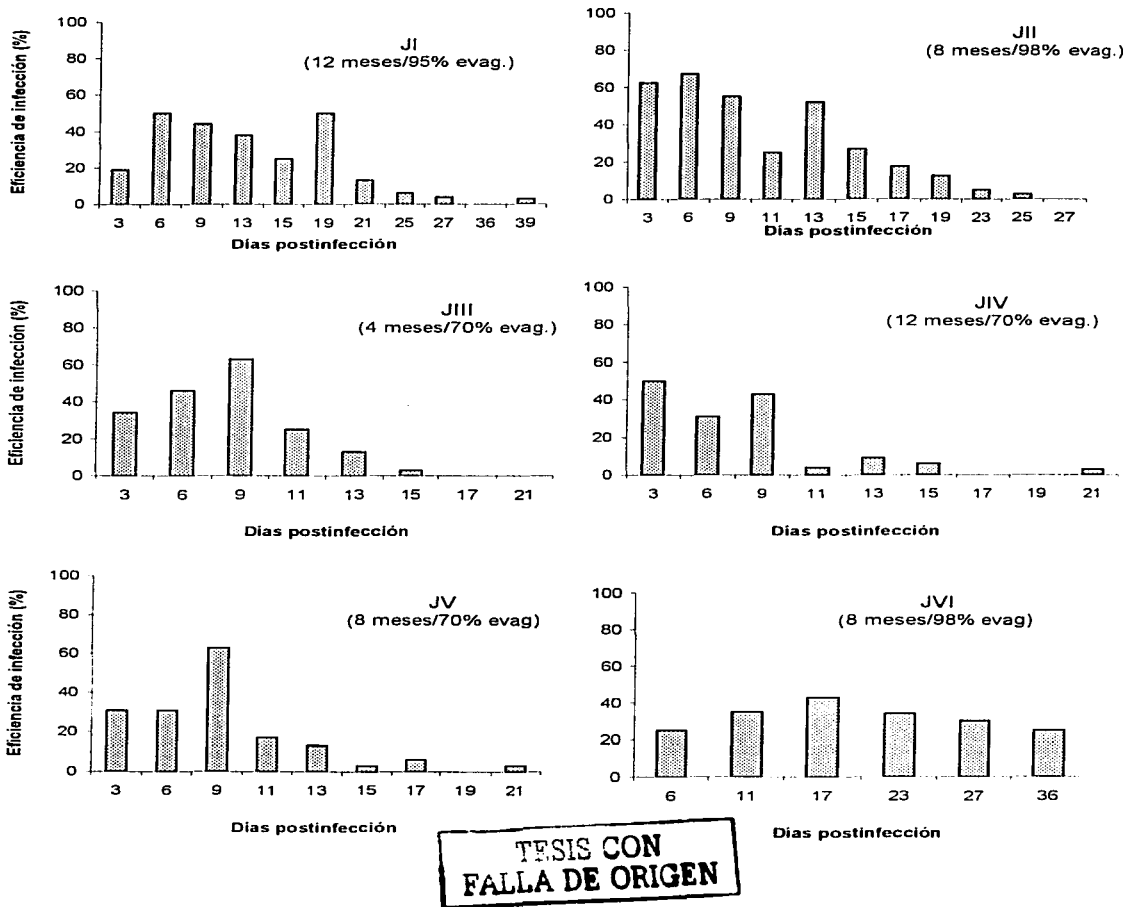


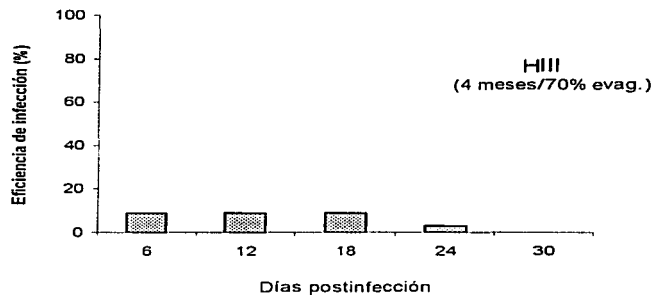
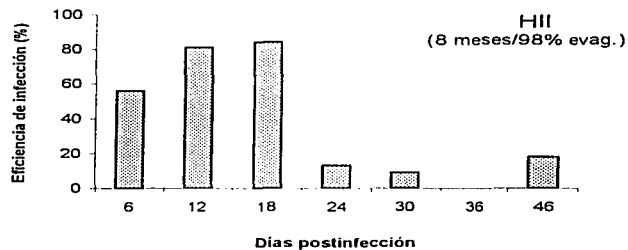
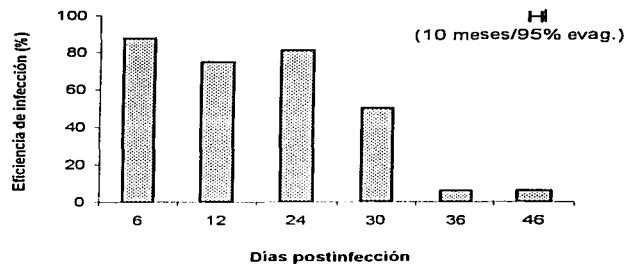
Figura 4. Porcentajes de recuperación de *T. solium* de los diferentes grupos de jerbos a lo largo del tiempo después de la infección con ocho cisticercos por vía oral. La edad de los animales (meses), así como la evaginación (evag.) de los cisticercos usados en cada grupo experimental se indican entre paréntesis.

promedio de las tenias fue de 2.5 cm ( $\pm 1.2$  cm), entre los 11-23 DPI de 16.5 cm ( $\pm 2.8$  cm) y posteriormente se recuperaron tenias hasta de 22 cm ( $\pm 5.0$  cm). En cuanto al desarrollo parasitario, en los jerbos no inmunodeprimidos solo se recuperaron tenias que presentaban escólex y cuello, mientras que en los jerbos tratados con esteroides se obtuvieron ejemplares maduros con los órganos reproductores masculino y femenino desarrollados; sin embargo, no se recuperaron tenias grávidas en ninguno de los grupos.

### **Infecciones en hámsteres.**

Se realizaron tres infecciones en hámsteres, también se utilizaron roedores de diferentes edades y cisticercos con diferentes porcentajes de evaginación (Cuadro 1). La eficiencia de la infección en hámsteres varió desde un 16 a un 51%. Se recuperó un menor número de tenias en los hámsteres de cuatro meses de edad (grupo HIII) que fueron infectados con cisticercos que presentaron una evaginación del 70%. En los animales de 10 y 8 meses de edad que fueron infectados con cisticercos con 95 y 98% de evaginación, la recuperación de tenias fue del 51% y 32% respectivamente. El análisis estadístico de la eficiencia de la infección en los hámsteres mostró diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre los tres grupos de animales.

El número de tenias recuperadas por hámster varió de 1 a 8, en los animales de mayor edad que fueron infectados con cisticercos con evaginación superior al 90% (HI y HII), las cargas parasitarias por animal fueron más altas, hubo animales infectados con 7 u 8 tenias. Los hámsteres del grupo HI comenzaron a perder la infección a los 36 DPI, cuando se obtuvieron infecciones con una sola tenia y algunos animales fueron negativos a la necropsia. La eliminación de los parásitos en el grupo HII de hámsteres comenzó a los 24 DPI cuando se presentaron infecciones únicas y algunos animales perdieron la infección, aunque un hámster estuvo



**ANÁLISIS CON  
ORIGEN**

Figura 5. Porcentajes de recuperación de *T. solium* de los diferentes grupos de hámsteres a lo largo del tiempo después de la infección con ocho cisticercos por vía oral. La edad de los animales (meses), así como la evaginación (evag.) de los cisticercos usados en cada grupo experimental se indican entre paréntesis.

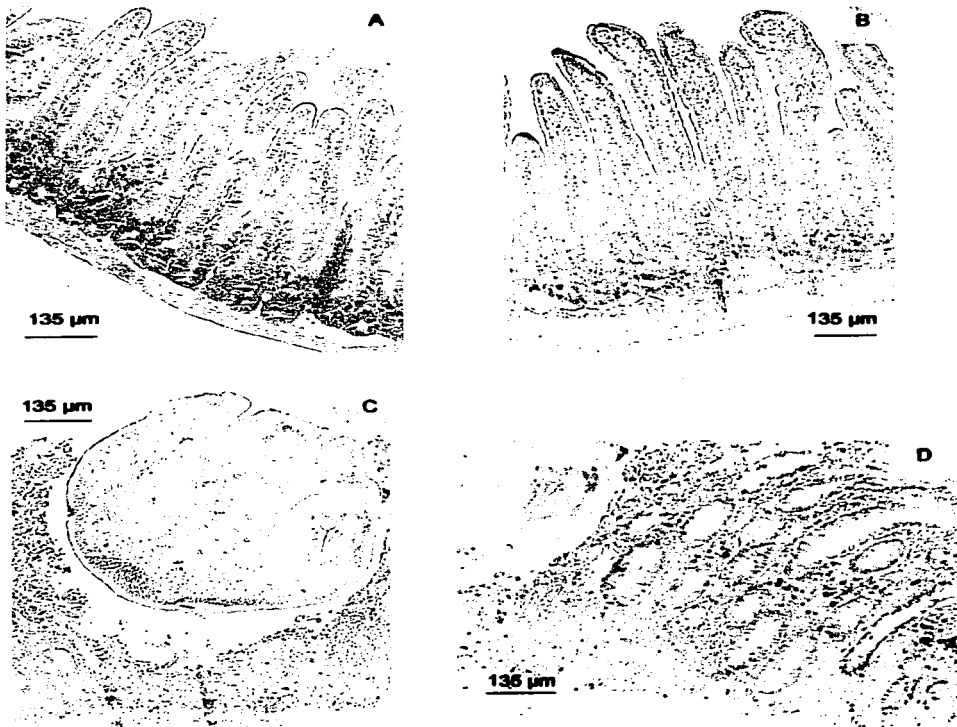


parasitado con siete tenias hasta los 46 DPI (Figura 5). Los hámsteres que perdieron mas rápido la infección fueron los animales del grupo HIII, de cuatro meses de edad e infectados con cisticercos con 70% de evaginación; algunos animales no se infectaron y hubo infecciones con una sola tenia desde los 6 DPI; los porcentajes de recuperación de parásitos nunca fueron mayores al 10% y sólo un animal estuvo parasitado hasta los 24 DPI (Figura 5). Al analizar el tiempo en el cual los hámsteres eliminaron los parásitos, se observaron diferencias estadísticas ( $p < 0.05$ ) entre el grupo HIII de cuatro meses de edad con respecto a los otros dos grupos.

Las tenias se encontraron adheridas a la mucosa intestinal del hámster entre los 8 a 24 cm por debajo del piloro. El 88% se localizaron en el primer tercio del intestino delgado, a los 11.5 cm ( $\pm 3.8$  cm), el 11% de las tenias estuvieron ancladas en el segundo tercio y sólo un ejemplar se encontró en el tercer tercio del intestino delgado. Con respecto al tamaño y desarrollo de las tenias, se observaron diferencias a lo largo de la infección: los parásitos más pequeños se obtuvieron durante los primeros nueve días de infección ( $2.5 \pm 1.4$  cm), entre los 10 a 18 se recuperaron ejemplares de 18.5 cm ( $\pm 7.0$  cm). Los ejemplares más grandes midieron de 30 a 40 cm y se obtuvieron entre los 30 y los 46 DPI. Se recuperaron tenias sexualmente maduras con órganos reproductores desarrollados a partir de los 18 DPI, aunque no se obtuvieron tenias grávidas en ninguno de los grupos de hámsteres.

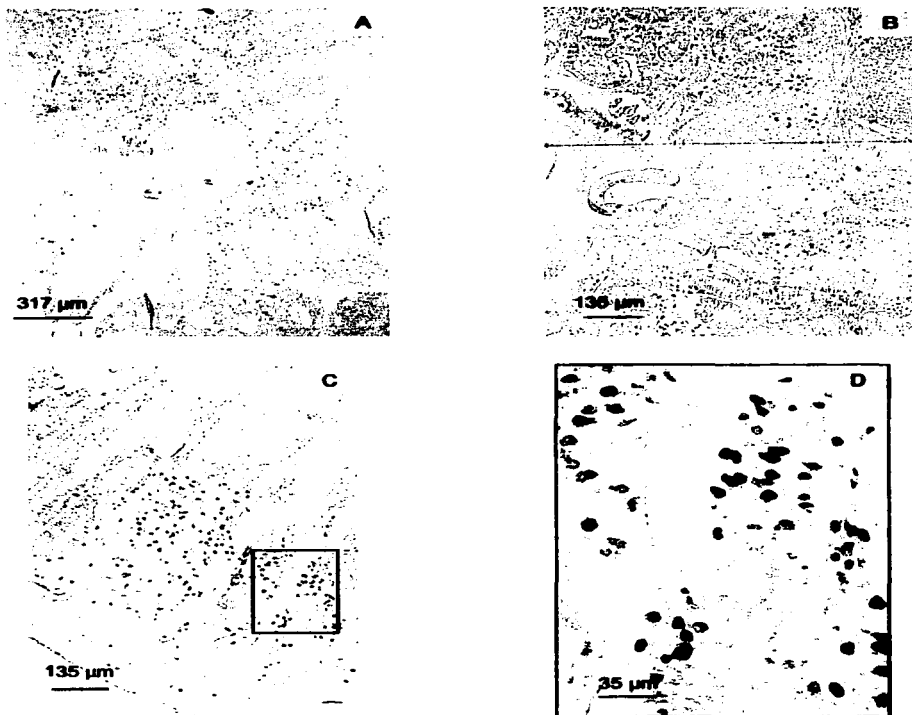
#### PRESENCIA DE CÉLULAS CEBADAS EN LA MUCOSA INTESTINAL DE JERBOS Y HÁMSTERES INFECTADOS CON EL ADULTO DE *T. solium*

El aspecto de la mucosa intestinal en los animales no infectados fue normal, la forma de las vellosidades era característica (prolongaciones digitiformes delgadas, redondeadas y alargadas), se observaron diferentes poblaciones celulares propias del tejido y la presencia de algunas células cebadas en la lámina propia cercana a las criptas. En los animales infectados se



TESIS CON  
 FALLA DE ORIGEN

**Figura 6. Cortes histológicos de la mucosa del yeyuno de jerbos. (A) Biopsia de un animal no infectado en la que se observan varias vellosidades normales y la túnica muscular, no hay presencia de células cebadas. (B) Biopsia de un animal a los 11 días de infección en la que se aprecian algunas vellosidades y células cebadas de color morado en las criptas de Lieberkühn. (C) Biopsia tomada a los 15 DPI en la que se observa el escólex de una tenia entre las vellosidades; (D) otro campo del mismo corte donde se puede ver una de las ventosas, varias vellosidades y las células cebadas de color azul oscuro. A y B fueron teñidos con Giemsa, mientras que C y D con Wright.**



TESIS CON  
 FALLA DE ORIGEN

**Figura 7.** Biopsias de yeyuno tomadas a los 19 días de infección de dos jerbos diferentes. (A) Se observa una tenia completa en contacto con la mucosa intestinal donde se aprecian porciones de vellosidades, varias criptas de Lieberkühn y un nódulo linfoide; (B) a mayor aumento en la misma imagen pueden verse las células cebadas de color azul oscuro en la lámina propia. (C) En la biopsia del segundo animal se observa un gran número de células cebadas en la lámina propia, en el recuadro se muestra una porción de la mucosa a mayor aumento (D). Cortes teñidos con Wright.

perdió el aspecto normal de la mucosa a lo largo de la infección, hubo edema y pérdida de la estructura de las vellosidades, las cuales se veían aplanadas y deformes; estos cambios sólo se observaron en el sitio donde se encontraban adheridas las tenias. Por otro lado, el aspecto de la mucosa intestinal del íleon de los animales infectados fue igual al de los roedores no infectados.

En la figura 6 se muestran fotografías de cortes de intestino delgado de jerbos tomados a diferentes días de infección. La figura 6A corresponde a una biopsia tomada del íleon de un animal no infectado en donde se observa la mucosa intestinal y las vellosidades con su estructura característica así como la túnica muscular. En los animales infectados, la reacción inflamatoria fue desarrollándose al aumentar el tiempo de infección, haciéndose notoria la presencia de células cebadas. La biopsia de la figura 6B fue tomada de un animal a los 11 días de infección, se pueden observar las vellosidades y algunas células cebadas de color morado cercanas a las criptas de Lieberkühn. Las figuras 6C y D corresponden a un animal que se sacrificó a los 15 DPI, se aprecia el escólex de una tenia localizado entre las vellosidades muy cercano a la túnica muscular; también se observaron algunas vellosidades y células cebadas en color azul en otro campo del mismo corte (Figura 6D). A los 19 DPI la reacción inflamatoria se volvió más intensa, con una gran cantidad de células cebadas como puede verse en la figura 7; con bajo aumento se aprecia una tenia completa en la mucosa, algunas vellosidades, varias criptas de Lieberkühn y un nódulo linfóide, las células cebadas se ven como un puntilleo azul oscuro (Figura 7A); a mayor aumento de la misma imagen pueden apreciarse las células cebadas en la lámina propia (Figura 7B). Una biopsia tomada de otro animal a los 19 DPI muestra un gran número de células cebadas en la lámina propia principalmente y pocos mastocitos cercanos a la capa muscular, también hay eritrocitos en un vaso sanguíneo (Figura 7C); a mayor aumento de una porción de la lámina propia del mismo corte se puede ver un gran número de células cebadas (Figura 7D). Posteriormente, el número de células cebadas fue disminuyendo, como se muestra en la figura 8A y 8B tomadas de animales a los 23 y 25 DPI respectivamente. En la figura 8C se muestra un corte de íleon de un

animal a los 19 días de infección, donde se aprecian las vellosidades más pequeñas y no hay células cebadas.

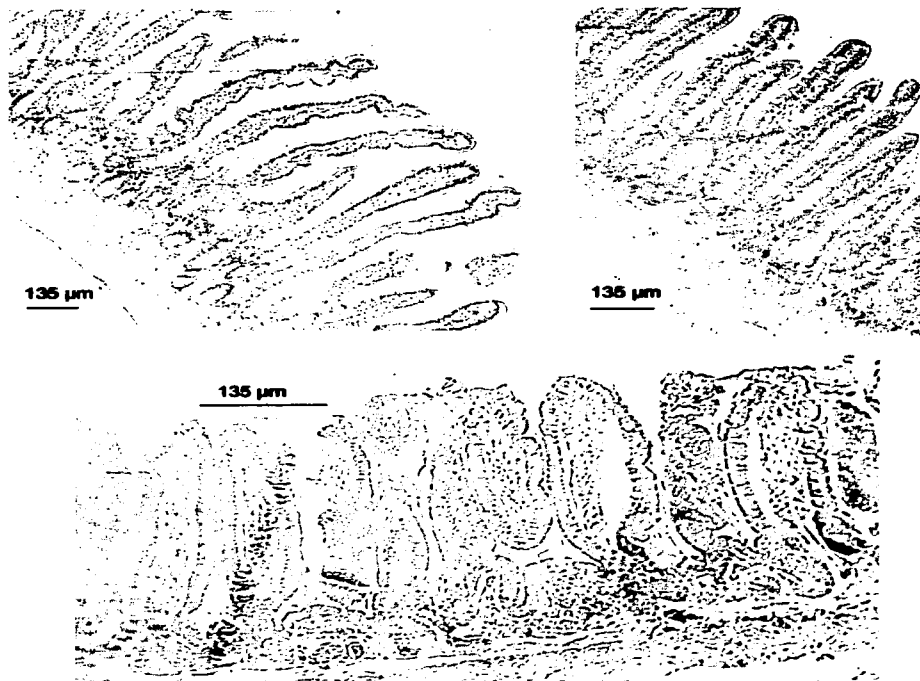


Figura 8. (A) Biopsia tomada a los 23 días de infección en la que se observa un menor número de células cebadas en las criptas y en la túnica muscular. (B) Muestra tomada a los 25 días de infección donde se aprecia un escaso número de células cebadas dentro de la estructura de la mucosa. (C) Biopsia tomada a los 19 días postinfección correspondiente al ileon de un animal infectado donde las vellosidades son más cortas y no se observan las células cebadas. A y B corresponden a tejido de yeyuno que fueron teñidos con Giemsa y C con Wright.

### **Cinética de células cebadas en jerbos**

El promedio de células cebadas por 10 unidades de cripta (UC) en el duodeno-yeyuno de los jerbos del grupo testigo fue de 11.5 células (5 a 18) y para la porción distal (ileon) de 11.6 células (11 a 17). En los jerbos infectados con *T. solium* y no inmunodeprimidos se observó un incremento gradual en el número de células cebadas en el sitio de anclaje de las tenias en la mucosa intestinal; este incremento no se presentó en el ileon de los animales infectados. En el grupo JI de jerbos el aumento de células cebadas se observó a los 13 DPI cuando se registró un valor de 61.3 ( $\pm$  14.8) células por 10 criptas, los mastocitos siguieron incrementándose y el número más alto de células se observó a los 19 DPI (116  $\pm$  10.1), posteriormente las células comenzaron a disminuir al mismo tiempo que ocurrió la mayor expulsión de las tenias. En el grupo JII, el aumento de células cebadas se observó a los 11 DPI, cuando se registró un número de 39.4 ( $\pm$  7.5) células. El número de mastocitos siguió en aumento conforme avanzó el tiempo de infección, registrándose el número más alto a los 19 DPI con 88 ( $\pm$  18.8) células. Al igual que como ocurrió en el grupo JI, posteriormente se registró un descenso en el número de células cebadas que coincidió con la mayor eliminación de parásitos. En el grupo JIII de jerbos ocurrió algo similar, el aumento de mastocitos se observó a los 9 DPI (30  $\pm$  6.2) y a los 11 DPI se registró el número más alto de células (64  $\pm$  13), aunque en este grupo el aumento fue menor en comparación con los grupo JI y JII, posteriormente las células comenzaron a disminuir. Se presentaron diferencias estadísticas significativas ( $p < 0.05$ ) entre los animales infectados y los testigos a partir de los 9 DPI, con excepción del grupo JI en el que las diferencias estadísticas se observaron a partir de los 13 DPI. En los jerbos tratados con esteroides (grupo JVI), no hubo cambios en el número de células cebadas con respecto al control en las dos primeras semanas; a los 17 DPI se presentó un ligero incremento (19.2  $\pm$  5) y a los 23 DPI se observó el número más alto de mastocitos (37  $\pm$  7.2). Este incremento fue de dos a tres veces menor en comparación con lo observado en los jerbos no inmunodeprimidos, sin embargo, hubo diferencias estadísticas con respecto al grupo control (Figura 9); posteriormente, las células disminuyeron ligeramente. El

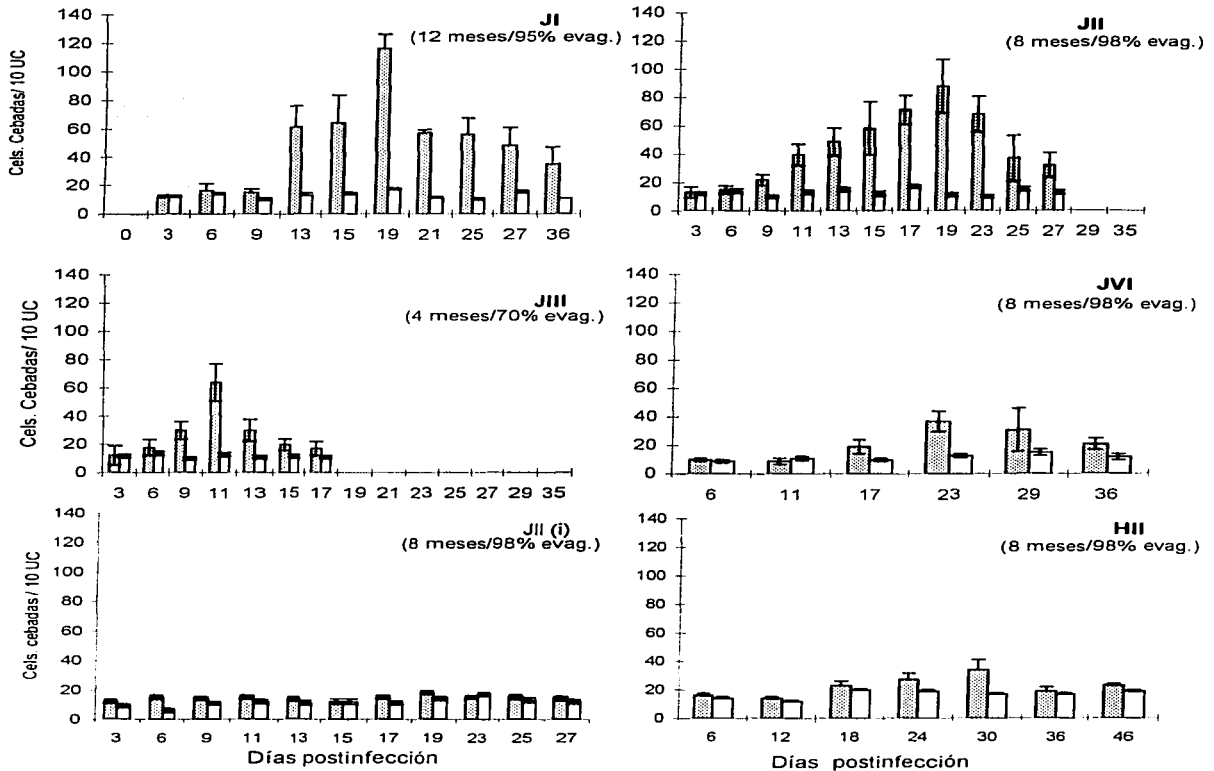


Figura 9. Cinética de células cebadas por 10 unidades de criptas (UC) en el sitio de implantación de *T. solium* en la mucosa del intestino delgado de jerbos no inmunodeprimidos e inmunodeprimidos y en el íleon de los jerbos del grupo JII(i), así como en hámsteres no inmunodeprimidos. Las barras corresponden a la media del número de células cebadas, las de color oscuro representan a los animales infectados y las blancas a los controles no infectados, las líneas sobre las barras corresponden a las desviaciones estándar. La edad de los animales (meses), así como la evaginación (evag.) de los cisticercos usados en cada grupo experimental se indican entre paréntesis.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

número de mastocitos en el ileon de todos los animales infectados con *T. solium* (JI, JII, JIII, JIV, JV y JVI) fue similar al observado en los animales testigo. Solamente se muestra la cinética de células cebadas del grupo JII (Figura 9).

#### **Cinética de células cebadas en hámsteres**

El número de células cebadas encontrado en hámsteres del grupo HII fue bajo, pues el promedio de mastocitos por diez unidades de criptas durante el tiempo que duró el experimento no pasó de 40 células. Los valores más altos se registraron a los 30 DPI ( $34 \pm 7$  células), encontrándose diferencias estadísticas con respecto al control ( $p < 0.05$ ). Además, el promedio de mastocitos observado en hámsteres fue similar al que se presentó en jerbos inmunodeprimidos (grupo VI) y menor al observado en los jerbos no inmunodeprimidos (Figura 9). Debido a que el número de células cebadas en los hámsteres no inmunodeprimidos fue similar al observado en los jerbos inmunodeprimidos, no se utilizaron hámsteres inmunodeprimidos en este estudio.

#### **CONCENTRACIÓN DE HISTAMINA EN LAVADOS INTESTINALES**

La concentración de histamina en los lavados de intestinales de los jerbos no infectados varió de 20 a 100 ng/ml durante el tiempo que duraron los experimentos. En los jerbos no inmunodeprimidos del grupo JII la concentración de histamina fue similar a la de los animales no infectados durante los seis primeros días, incrementándose a los 9 DPI a  $196 (\pm 70)$  ng/ml, obteniéndose la máxima concentración de histamina ( $400 \pm 80$  ng/ml) a los 19 DPI. Posteriormente, comenzó a descender pero siempre manteniéndose por arriba de las concentraciones del grupo testigo; hubo diferencias estadísticas desde los 9 y hasta los 27 DPI ( $p < 0.05$ ). En el grupo JIII las concentraciones de histamina fueron altas desde los 3 DPI y estuvieron en ascenso hasta los 11 DPI, cuando se observó la concentración más alta ( $398 \pm 100$  ng/ml), posteriormente disminuyeron a 100 ng/ml a los 15 DPI y hubo diferencias estadísticas ( $p < 0.05$ ) con respecto al control durante todo el tiempo que duró la infección. En cuanto a la

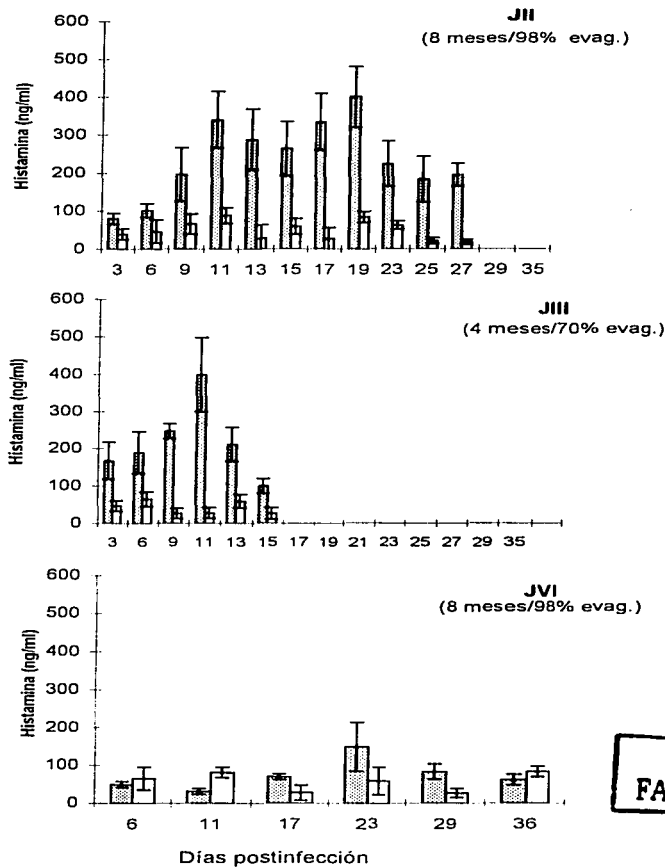
TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



concentración de histamina en los jerbos del grupo JVI tratados con esteroides, se presentó sólo un ligero incremento ( $150 \pm 64$  ng/ml) en el día 23 de la infección con diferencias estadísticas con respecto a los animales no infectados (Figura 10).

En todos los grupos experimentales de jerbos el aumento en la concentración de histamina se presentó al mismo tiempo que el aumento de células cebadas. Debido a que los hámsteres tuvieron una respuesta mínima de células cebadas, similar a la observada en los jerbos inmunodeprimidos, donde el número de mastocitos y la concentración de histamina fueron bajos, no se hizo la determinación de histamina en los lavados intestinales de hámsteres.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

Figura 10. Concentración de histamina en lavados intestinales de jerbos infectados (barras oscuras) y jerbos control no infectados (barras blancas) a diferentes días postinfección. Las barras representan la media de la concentración de histamina, las líneas sobre las barras corresponden a las desviaciones estándar. La edad de los animales (meses), así como la evaginación (evag.) de los cisticercos usados en cada grupo experimental se indican entre paréntesis.

## DISCUSION

En estudios anteriores se ha demostrado que *T. solium* se puede desarrollar en roedores como el hámster dorado (*Mesocricetus auratus*), el jерbo mongol (*Meriones unguiculatus*) y la chinchilla de cola larga (*Chinchilla laniger*); siendo la eficiencia de la infección mayor cuando los animales se inmunodeprimen con esteroides (Gnezdilov, 1957; Verster, 1971; Verster, 1974; Maravilla y cols., 1998; Garza, 2001). El modelo experimental de teniosis que se ha utilizado con más frecuencia es el del hámster dorado, en el cual se han realizado estudios para determinar parámetros parasitológicos de la tenia (Verster, 1971; Aguilar, 1995; Willms y cols., 2001). También se ha empleado en la estandarización de un ELISA para el diagnóstico de portadores de *Taenia sp* (Allan y cols., 1990; Avila, 1992) y para estudiar la respuesta inmune humoral (Benitez, 1996; Avila y cols., 2003).

Los hámsteres y los jerbos muestran diferencias en la susceptibilidad a la infección por *T. solium*: en el hámster se recupera un mayor número de tenias y la parasitosis se mantiene por más tiempo; en cambio para prolongar el tiempo de infección en los jerbos es necesario administrar una dosis de esteroide cuatro veces mayor (8 mg de metil prednisolona) en comparación con la dosis empleada en los hámsteres (2 mg) (Maravilla y cols., 1998). Por otra parte, Monroy-Ostria y colaboradores (1993), observaron la presencia de una reacción inflamatoria en la mucosa intestinal de hámsteres no inmunodeprimidos e infectados con *T. solium*. Es posible que los hámsteres y jerbos parasitados con tenia desarrollen una respuesta inflamatoria diferente en la mucosa intestinal, que determina la permanencia del parásito, por lo que el propósito del presente estudio fue analizar la presencia de células cebadas en la reacción inflamatoria contra *T. solium* en jerbos y hámsteres, así como el desarrollo de mastocitosis en el curso de la infección con la correspondiente liberación de histamina. Dicha respuesta se compararía con los porcentajes de recuperación de tenias tanto en animales no inmunodeprimidos como inmunodeprimidos.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Al igual que en el trabajo de Maravilla y colaboradores (1998), en el presente estudio se observó una mayor susceptibilidad a la infección por *T. solium* en los hámsteres, determinada por el porcentaje de recuperación de tenias en comparación con los jerbos. Aunado a lo anterior, el tamaño y desarrollo de las tenias recuperadas de los hámsteres fue mayor, presentando además proglótidos maduros. El tratamiento con esteroides fue necesario para el mantenimiento y sobrevivencia de las tenias en jerbos, debido a que sólo en los animales inmunodeprimidos la recuperación de parásitos fue mayor y similar a la obtenida en hámsteres no inmunodeprimidos, se obtuvieron tenias más grandes y se recuperaron ejemplares con proglótidos maduros.

En el presente estudio observamos además, que la recuperación de tenias y el tiempo de infección en los roedores no inmunodeprimidos se vio afectada por la evaginación de los cisticercos; ya que cuando se utilizaron cisticercos con 70% de evaginación se obtuvieron los porcentajes de infección más bajos y las infecciones se perdieron más rápidamente en comparación a cuando se usaron cisticercos con 95 y 98% de evaginación, por lo que se necesitan cisticercos con buena viabilidad para favorecer la transformación a tenias en los modelos experimentales.

Por otro lado, se sabe por estudios previos que el escólex de *T. solium* se adhiere en el primer tercio del intestino delgado del hospedero definitivo natural (Merchant y cols., 1998) pero se desconoce si se presenta desplazamiento del parásito hacia íleon. En este trabajo al analizarse las diferentes infecciones realizadas en jerbos y hámsteres, se observó que alrededor del 90% de los parásitos estuvieron anclados en el primer tercio del intestino, aunque no todas las tenias se encontraron adheridas a la misma distancia del píloro, entre el 8 al 11% de los parásitos estaban adheridos en el segundo tercio y sólo un ejemplar se encontró en el último tercio del intestino delgado en hámsteres. Considerando estas observaciones, es evidente que, al menos con las cargas parasitarias obtenidas, el desplazamiento de *T. solium* no es un fenómeno frecuente en los

roedores. Lo mismo se ha observado en hámsteres infectados con uno a tres cisticercos de *T. crassiceps*, sin embargo, en animales con cargas parasitarias altas se encontraron parásitos adheridos en el último tercio del intestino delgado (Sato y cols., 1994).

*T. solium* genera una respuesta inflamatoria en la mucosa del intestino delgado de hámsteres no inmunosuprimidos, la cual está formada por macrófagos, células epitelioides y algunas células plasmáticas (Monroy-Ostria y cols., 1993). Por su parte, Aguilar (2001) observó que tanto jerbos y hámsteres no inmunodeprimidos desarrollaron una reacción inflamatoria contra *T. solium* conformada por células plasmáticas, linfocitos, eosinófilos, neutrófilos y células calciformes, en el sitio de implantación de las tenias; la intensidad de la reacción fue similar en los dos roedores.

En el presente estudio se observó que sólo los jerbos no inmunodeprimidos desarrollaron mastocitosis, el aumento de células cebadas comenzó a partir de los nueve días postinfección, los valores más altos se obtuvieron cuando las tenias comenzaron a ser expulsadas, posteriormente disminuyeron conforme los animales perdieron la infección. El aumento de células cebadas se vio restringido al sitio de implantación de las tenias y no hubo incremento de mastocitos en ileon. En hámsteres el número de células cebadas fue irregular y sólo se observó un ligero aumento a los 30 días postinfección.

La lesión inflamatoria localizada en el sitio de anclaje de las tenias en la mucosa puede deberse a una acción mecánica del parásito o a la actividad secretoria del escólex de *T. solium*. En infecciones experimentales con *Echinococcus granulosus*, *E. multilocularis* y *T. solium*, se ha demostrado que los escólices de estos parásitos se encuentran cerca de las criptas de Lieberkühn con los ganchos penetrando la submucosa y las cuatro ventosas atrapando una o más vellosidades (Smyth y McManus, 1989; Merchant y cols., 1998), como consecuencia se destruye

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

el epitelio de la mucosa. Por otra parte, se ha demostrado que la secreción de material por parte de las glándulas localizadas en la región apical del roseto de *E. granulosis* embebidas en las criptas de la mucosa intestinal de perros son responsables del daño en el tejido (Thompson y cols., 1979).

Se ha demostrado que las células cebadas se incrementan en diferentes hospederos infectados con helmintos y además pueden desempeñar un papel muy importante en la expulsión de los parásitos (Nawa y Korenaga, 1983, Grecis, 1987; Pritchard y cols., 1997; Urban y cols., 2000; Wedemeyer y cols., 2000). La actividad de las células cebadas durante una infección puede ser evaluada en forma confiable mediante la medición de histamina o proteasas en diferentes tejidos del hospedero (Wedemeyer y cols., 2000). En el presente estudio, los jerbos no inmunodeprimidos mostraron un incremento en la concentración de histamina en lavados intestinales, paralelo al aumento de células cebadas en la mucosa intestinal. De forma similar, en niños infectados crónicamente con *Trichuris trichiura* (Cooper y cols., 1991) y en ovinos infectados con *Trichostrongylus colubriformis* (Harrison y cols., 1999) los niveles de histamina fueron altos durante la infección, disminuyendo a valores basales después de la eliminación de los parásitos.

La histamina es un mediador inflamatorio que produce diferentes efectos en los tejidos de mamíferos según el receptor que utiliza; en el tracto gastrointestinal al unirse a los receptores H1 produce contracciones espasmódicas del estómago, intestino y vesícula biliar, y al unirse a los receptores H2 estimula la secreción gástrica; sin embargo, se desconoce si la histamina pueda tener algún efecto sobre los parásitos. En este sentido, se ha demostrado que extractos crudos o péptidos antigénicos de parásitos inducen la liberación de histamina en cultivos de células cebadas o basófilos (Windelborg y cols., 1991; Arizmendi y cols., 2001; Trudgett y cols., 2003). Por el contrario, *Fasciola hepatica* tiene una enzima, la n-acetil transferasa, que puede acetilar e inactivar a la histamina y a otras aminas biogénicas (Aisien y Walter, 1993); por su parte,

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

*Trichostrongylus colubriformis* posee enzimas similares a diamino oxidasa y n-metil transferasas que degradan la histamina (Frandsen y Bone, 1988). En contraste, se ha observado que algunos parásitos como *Ascaris lumbricoides* poseen histamina en las células del intestino (Mishra y cols., 1984) y *Haplometra cylindracea*, un tremátodo del pulmón de ranas, contiene una concentración muy alta de este mediador, el cual se localiza preferentemente en células del sistema nervioso, por lo que se considera que puede desempeñar un papel de neurotransmisor (Eriksson y cols., 1996). Mientras que *Schistosoma mansoni* posee una proteína fijadora de calcio que induce la liberación de histamina en células cebadas y basófilos y es quimioatrayente para eosinófilos (Rao y cols., 2002). No sabemos si la histamina tenga algún efecto sobre *T. solium*, o si la tenia pueda llevar a cabo alguna de las funciones antes señaladas.

En algunas infecciones por céstodos, la presencia de células cebadas es controversial. En ratas infectadas con *H. diminuta* las células cebadas no tienen un papel directo en la expulsión del parásito (Featherston y cols., 1992). Mientras que en ratones infectados con *H. nana* la expulsión parece estar mediada por anticuerpos IgE y células cebadas (Watanabe y cols., 1994). Por otro lado, las células cebadas incrementaron en una forma dosis dependiente en hámsteres infectados con *T. crassiceps* y disminuyeron cuando los parásitos fueron expulsados. Aunque no se investigó una correlación directa, se observó que en los hámsteres inmunodeprimidos con esteroides no se desarrolló mastocitosis y no ocurrió la expulsión (Sato y cols., 1994). Los datos obtenidos en el presente trabajo en jerbos no inmunodeprimidos muestran un pico de células cebadas que coincidió con el incremento de histamina y la eliminación de las tenias, estos resultados muestran la correlación de presencia y función de las células cebadas y sugieren su participación en la expulsión de *T. solium*.

En el presente estudio se observó que al inmunosuprimir a los jerbos con esteroides (grupo JVI) se abatía la respuesta inflamatoria y disminuía el número de mastocitos y de histamina.

En este grupo de animales el número de células cebadas fue tres veces menor que el observado en los jerbos de los grupos JI y JII que no fueron inmunodeprimidos. La concentración de histamina en los jerbos inmunodeprimidos (JVI) también fue baja, disminuyó 2.5 veces en comparación con los animales de los grupos JII y JIII no inmunodeprimidos. El bajo número de células cebadas, así como la disminución en la concentración de histamina no es un hecho sorprendente, debido a que los glucocorticoides son potentes agentes antiinflamatorios e inmunosupresores, cuyo mecanismo de acción es regulando la transcripción de genes específicos (Schimmer y Parker, 1996).

Los glucocorticoides afectan a las células cebadas, ya que reducen el número de mastocitos de mucosa posiblemente por la inhibición de la producción de IL-3 y de otros factores de crecimiento. Inhiben la liberación de histamina y los metabolitos del ácido araquidónico, así como la síntesis de proteasas y citocinas (Schleimer, 1993; Eklund y cols., 1997). Los glucocorticoides también disminuyen la expresión de los genes de IL-1, TNF- $\alpha$ , GM-CSF, IL-4, IL-5 e IL-8; así como las moléculas de adhesión intercelular y aumentan la expresión de algunas endonucleasas que inducen apoptosis en linfocitos y eosinófilos (Brattsand y Linden, 1996; Schimmer y Parker, 1996; Eklund y cols., 1997). Por otra parte, debido a sus efectos inmunosupresores, los glucocorticoides han sido usados ampliamente para demostrar la participación de la respuesta inmune en la expulsión de los parásitos (Eklund y cols., 1997; Ziam y cols., 1999).

Los datos reportados en el presente estudio indican que los jerbos son menos permisivos para la infección por el estadio adulto de *T. solium* en comparación con los hámsteres. Resultados similares fueron obtenidos cuando jerbos y hámsteres se infectaron con *T. crassiceps*, observándose que en los jerbos la expulsión ocurrió rápidamente, dentro de un periodo de 10 días y las tenias remanentes no desarrollaron estróbilo. Sin embargo, en los hámsteres *T. crassiceps*

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



fue expulsada después de 15 DPI y los ejemplares que sobrevivieron alcanzaron la madurez sexual y produjeron huevos en una cantidad comparable con el hospedero definitivo (Sato y Kamiya, 1989; Kitaoka y cols., 1990; Sato y cols., 1993).

En este sentido, se ha demostrado que los ratones son más permisivos para la infección por *Schistosoma mansoni* en comparación con las ratas. Se piensa que la menor susceptibilidad de las ratas se debe a que desarrollan una buena respuesta celular y en particular al papel protector de los linfocitos T cooperadores (Mendlovic y cols., 1987). Se desconoce el papel que puedan tener los linfocitos T en la infección por el estadio adulto de *T. solium*, sin embargo, en infecciones experimentales por *T. crassiceps* en jerbos, a quienes se les disminuyó la cantidad de linfocitos T mediante la administración de un anticuerpo monoclonal antitimocitos, se observó que el porcentaje de recuperación de tenias fue similar al obtenido en jerbos tratados con esteroides y en ambos grupos mayor al de los animales que no recibieron tratamiento; aunque sólo se obtuvieron tenias grávidas en los jerbos tratados con esteroides, por lo que los autores proponen que en la expulsión de *T. crassiceps* no solo participan las células T, sino que deben de intervenir otras poblaciones celulares así como sus mediadores (Sato y cols., 2000).

En cuanto a la respuesta humoral y la permisividad de diferentes mamíferos a infecciones parasitarias, se ha visto que las ratas son más permisivas a la infección por *Angiostrongylus cantonensis* en comparación con los cobayos, debido probablemente a la baja respuesta de anticuerpos IgE específicos (Perez y cols., 1989). En este mismo sentido, los ratones BALB/c son más permisivos que los C57BL/10 para *A. costaricensis* y esta diferencia en susceptibilidad se ha asociado con la respuesta inmune humoral que se desarrolla contra la larva L3 (Geiger y cols., 1999).

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

En el único estudio publicado acerca de la respuesta inflamatoria en la mucosa intestinal de pacientes infectados con *Taenia sp.*, se observó una reacción inflamatoria localizada compatible con enteritis crónica acompañada con un escaso número de células cebadas (Gustowska y cols., 1983). Resultados similares se obtuvieron en el presente estudio en hámsteres, los que prácticamente no desarrollaron mastocitosis. Probablemente los seres humanos son mas permisivos a la infección por tenia debido a que no desarrollan una respuesta intensa contra el parásito.

Los resultados obtenidos en el presente estudio muestran que los hámsteres son más susceptibles a la infección por *T. solium*, en donde la carga parasitaria y la retención de los parásitos es mayor, además hay ausencia de células cebadas en la mucosa intestinal. Los jerbos en cambio, desarrollan una intensa respuesta de células cebadas con secreción de histamina y la expulsión de las tenias ocurre en un tiempo corto. Estos datos sugieren que las diferencias en las infecciones realizadas en jerbos y hámsteres con *T. solium*, pueden deberse a la presencia de células cebadas, que posiblemente participan activamente en la expulsión rápida de *T. solium* en el modelo del jerbo mongol. Sin embargo, tomando en cuenta que las tenias también fueron expulsadas por los hámsteres, es evidente que en éste roedor participen otros mecanismos inmunológicos, inflamatorios o fisiológicos en la eliminación de las tenias. El uso de estos modelos experimentales de teniosis permitirán continuar con el estudio de la relación hospedero-parásito, sin olvidar que ninguno de los dos roedores son los hospederos definitivos naturales.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## BIBLIOGRAFIA

- Abe, T., Sugaya, H., Ishida, K., Khan, W.I., Tasdemir, I., y Yoshimura, K. (1993) Intestinal protection against *Strongyloides ratti* and mastocytosis induced by administration of interleukin-3 in mice. *Immunol.* 80: 116-121
- Abraham, S.N. y Malaviya, R. (1997) Mast cells in infection and immunity. *Inf. Imm.* 65: 3501-3508
- Aguilar, L. (1995) Efecto de la carga parasitaria y la dosis del esteroide metil prednisolona en el desarrollo de *Taenia solium* en el modelo experimental del *Mesocricetus auratus*. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias, UNAM. 84p
- Aguilar, L. (2001) Células caliciformes y eosinófilos en la mucosa intestinal de hámsteres y jerbos infectados con *Taenia solium*. Tesis de Maestría, Biología Celular, Facultad de Ciencias, UNAM. 72p
- Aisien, S.O. y Walter, R.D. (1993) Biogenic-amine acetylation: an additional function of the n-acetyltransferase from *Fasciola hepatica*. *Biochem. J.* 291: 733-737
- Aluja, A. y Vargas, G. (1988) The histopathology of porcine cisticercosis. *Vet. Parasitol.* 28: 65-77
- Allan, J., Avila, G., García Noval, J., Flisser, A. y Craig, P.S. (1990) Immunodiagnosis of taeniasis by coproantigen detection. *Parasitol.* 101: 473-477
- Allan, J.C., García-Dominguez, C., Craig, P.S., Rogan, M.T., Lowe, B.S. y Flisser, A. (1991) Sexual development of *Taenia solium* in hamsters. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 85: 573-576
- Arizmendi, N., Yopez-Mulia, L., Cedillo-Rivera, R., Ortega-Pierres, M.G., Muñoz, O., Befus, D. y Enciso-Moreno, J.A. (2001) Interleukin mRNA changes in mast cells stimulated by TSL-1 antigens. *Parasite.* 8: S114-116
- Avila, G. (1992) Detección de antígenos de *Taenia solium* por un método inmunoenzimático. Tesis de Maestría, Facultad de Medicina, UNAM. 122p
- Avila, G., Aguilar, L., Benitez, S., Yopez-Mulia, L., Lavenat, I. y Flisser, A. (2002) Inflammatory responses in the intestinal mucosa of gerbils and hamsters experimentally infected with the adult stage of *Taenia solium*. *Int. J. Parasitol.* 32: 1301-1308
- Avila, G., Benitez, M., Aguilar, L. y Flisser, A. (2003) Kinetics of *Taenia solium* antibodies and antigens in experimental taeniosis. *Parasitol. Res.* 89: 284-289
- Barriga, O. (1998) Avances recientes en inmunología relevantes a la parasitología. *Parasitol. al día* 22: 4-21
- Barret, K.E., Neva, F.A., Gam, A.A., Cicmanec, J., London, W.T., Phillips, J.M. y Metcalfe, D.D. (1988) The immune response to nematode parasites: modulation of mast cell numbers and function during *Strongyloides stercoralis* infections in nonhuman primates. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 38: 574-581
- Beaven, M.A. y Metzger, H. (1993) Signal transduction by Fc receptors: the Fc $\gamma$ R1 case. *Immunol. Today.* 14: 222-226

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

- Befus, A.D. (1994) Inflammation: mast cells. En: Handbook of mucosal immunology. P.L. Ogra, J. Mestecky, M.E. Lamm, W. Strober, J.R. McGhere y J. Bienenstock (Eds.) Academic Press, San Diego, USA. 307-314
- Befus, A.D. (1995) Immune responses: protective immunity, adaptation and pathogenesis. En: Enteric Infection 2. Intestinal helminths. Ed. Chapman and Hall, London, UK. 49-70
- Behm, C.A. y Ovington, K.S. (2000) The role of eosinophils in parasitic helminth infections: insights from genetically modified mice. Parasitol. Today. 16: 202-209
- Benítez Guzmán, M. A. (1996) Estudio de la respuesta inmune humoral en la teniosis experimental por *Taenia solium* en el hámster dorado. Tesis de Licenciatura, Facultad de Química, UNAM. 112p
- Bidri, M., Voudoukis, I., Mossalayi, M.D., Debré, P., Guilloaon, J.J., Mazier, D. y Arock, M. (1997) Evidence for direct interaction between mast cells and *Leishmania* parasites. Parasite Immunol. 19: 475-483
- Bischoff, S.C. (2000) Regulation and function of human intestinal mast cells En: Mast cells and Basophils. Ed. Academic Press, USA. 541-565
- Bochner, B.S. y Schleimer, R.P. (2001) Mast cells, basophils, and eosinophils: distinct but overlapping pathways for recruitment. Immunol. Rev. 179: 5-15
- Brattsand, R. y Linden, M. (1996) Cytokine modulation by glucocorticoids: mechanisms and actions in cellular studies. Aliment. Pharmacol. Ther. 10: S2: 81-90
- Brandtzaeg, P., Baekkevold, E.S., Farstad, I.N., Jahnse, F.L., Johansen, F.E., Nilsen, E.M. y Yamanaka, T. (1999) Regional specialization in the mucosal immune system: what happens in the microcompartments?. Immunol. Today 20: 141-151
- Bundy, D.A.P. (1995) Epidemiology and transmission of intestinal helminths. En: Enteric infection 2. Intestinal helminths. Ed. Chapman and Hall, London, UK 5-23
- Cadigan, F., Santon, J.S., Tanticharoenyus, P. y Chaicumpa, V. (1967) The Lar Gibbon as definitive and intermediate host of *Taenia solium*. Med. Res. 53: 844
- Capron, A., Dessaint, J.P., Capron, M., Joseph, M., Ameisen, J.C. y Ponnell, A.B. (1986) From parasites to allergy: the second receptor for IgE (Fc $\epsilon$ R<sub>2</sub>). Immunol. Today 7: 15-21
- Cooper, E.S., Spencer, J., Whyte-Alleng, C.A.M., Cromwell, O., Whitney, P., Venuvopal, S., Bundy, D.A.P., Haynes, B. y MacDonald, T.T. (1991) Immediate hypersensitivity in colon of children with chronic *Trichuris trichiura* dysentery. The Lancet. 338: 1104-1107
- Correa, D., Lacllette, J.P., Rodríguez-Del Rosal, E., Merchant, M. y Flisser, A. (1987) Heterogeneity of *T. solium* cysticerci obtained from different naturally infected pigs. Parasitol. 73: 443-445
- Daniel, W.W. 1987. Bioestadística. Base para el análisis de las ciencias de la salud. 3a. Edición. Ed. Limusa, México.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

- Dent, L.A. y col. (1997) Eosinophilic interleukin 5 (IL-5 transgenic mice-eosinophil activity and impaired clearance of *Schistosoma mansoni*. Parasite Immunol. 19: 291-300
- Eklund, K., Humphries, D.E., Xia, Z., Ghildyal, N., Friend, D.S., Gross, V. y Stevens, R.L. (1997) Glucocorticoids inhibit the cytokine-induced proliferation of mast cells, the high affinity IgE receptor-mediated expression of TNF- and the IL-10 induced expression of chymases. J. Immunol. 158: 4373-4380
- Eriksson, K.S., Johnston, R.N., Shaw, C., Halton, D.W. y Panula, P.A. (1996) Widespread distribution of histamine in the nervous system of a trematode flatworm. J. Comp. Neurol. 373: 220-227
- Falcone, F.H., Pritchard, D.I. y Gibbs, B.F. (2001) Do basophils play a role in immunity against parasites? Trend in Parasitol. 17: 126-129
- Fawcett, D. (1991) Bloom y Fawcett, Tratado de Histología. XI Edición. Ed. Interamericana-McGraw-Hill. México
- Featherston, D.W., Wakelin, D. y Lammas, D.A. (1992) Inflammatory responses in the intestine during tapeworm infections. Mucosal mast cells and mucosal mast cell proteases in Sprague-Dowley rats infected with *Hymenolepis diminuta*. Int. J. Parasitol. 27, 961-966
- Flisser, A. (1994) Taeniasis and cysticercosis due to *T. solium*. En: Process of Clinical Parasitology. Ed. CRC Press, NY, USA. 77-116
- Flisser, A., Madrazo, I. y Delgado, H. (1997) Cisticercosis humana. Ed. Manual Moderno, México
- Frاندji, P., Tkaczyk, C., Oskeritzian, B., David, B., Desaymard, C. y Mecheri, S. (1996) Exogenous and endogenous antigens are differentially presented by mast cells to CD4+ T. lymphocytes. Eur. J. Immunol. 26: 2517-2528
- Frandsen, J.C. y Bone, L.W. (1988) Derivatives of epinephrine, norepinephrine, octopamine and histamine formed by homogenates of *Trichostrongylus colubriformis*, a nematode parasite of ruminants. Comp. Biochem. Physiol. C. 9: 385-387
- Garza, A. (2001) Desarrollo de *Taenia solium* en el modelo experimental de chinchilla (*Chinchilla laniger*). Tesis de licenciatura, Facultad de Ciencias, UNAM. 62p
- Gnezdilov, V.G. (1957) The golden hamster (*Mesocricetus auratus* Waterhouse) as potential definitive host of tapeworm *Taenia solium*. Zoologicheski Zhurnal 36: 1770-1773
- Geiger, S.M., Graeff-Teixeira, C., Soboslay, P.T. y Schulz-Key, H. (1999) experimental *Angiostrongylus costaricensis* infection in mice: immunoglobulin isotype responses and parasite-specific antigen recognition after primary low dose infection. Parasitol. Res. 85: 200-205
- Genta, R.M. y Weil, G.J. (1982) Antibodies to *Strongyloides stercoralis* larval surface antigens in chronic strongyloidiasis. Lab. Invest. 47: 87-90

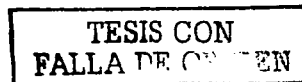
- Genta, R.M. (1996) The immune regulation of intestinal helminthiasis. En: Enteric infections and immunity. Ed. Plenum Press, NY, USA. 239-256
- Gemell, M.M., Matyas, Z., Pawlowski, E. y Soulsby, E.J.L. (1983) Guidelines for the Surveillance, Prevention and Control of Taeniasis/Cysticercosis. World Health Organization Publication vph/ 83.49 Switzerland
- Grencis, R.K. y Entwistle, G.M. (1997) Production of an interferon-gamma homologue by an intestinal nematode: functionally significant or interesting artifact?. Parasitol. 115: S101-6
- Gurr, E. (1962) Staining animal tissues. Practical and theoretical. Leonard Hill, London U.K.
- Gustowska, L., Ruitenber, E.J., Elgersma, A. y Kociecka, W. (1983) Increase of mucosal mast cells in the jejunum of patients infected with *Trichinella spiralis*. Int. Archs. Allergy Appl. Immun. 71: 304-308
- Ham, A.W. y Cormack, D.H. (1984) Tratado de histología. Ed. Interamericana, Mexico
- Haswell-Elkins, M.R., Leonard, H., Kennedy, M.W., Alkenes, D.B. y Maizels, R.M. (1989) Immunoepidemiology of *Ascaris lumbricoides*: relationships between antibody specificities, exposure and infection in a human community. Parasitol 104: 153-159
- Harrison, G.B.L., Pulford, H.D., Gatehouse, T.K., Shaw, R.J., Pfeffer, A. y shoemaker, C.B. (1999) Studies on the role of mucus and mucosal hypersensitivity reactions during rejection of *Trichostrongylus colubriformis* from the intestine of immune sheep using an experimental challenge model. Int. J. Parasitol 29: 459-468
- Heath, D. (1982) *In vitro* culture of cysticerci: an aid to investigations of morphological development and host-parasite relationships. En: Cysticercosis: Present state of knowledge and perspectives. Flisser, A., Willms, K., Lacleite, J.P., Larralde, C., Ridaura, C., Beltran (eds). Ed. Academic Press. New York, USA. 477-493
- Henz, B.M., Maurer, M., Lippert, U., Worm, M. y Babina, M. (2001) Mast cells as initiators of immunity and host defense. Exp. Dermatol 10: 1-10
- Hildebrand, M. (1987) Digestive System. En: Analysis of Vertebrate Structure. John Wiley Sons Inc. 221-239
- Horii, Y., Khan, A.I., Nawa, Y. (1993) Persistent infection of *Strongyloides venezuelensis* and normal expulsion of *Nippostrongylus brasiliensis* in Mongolian gerbils, *Meriones unguiculatus*, with reference to the cellular responses in the intestinal mucosa. Parasite Immunol. 15, 175-179.
- Ishih, A., (1994) Worm burden and mucosal mast cell response in DA and F344/N rats infected with *Hymenolepis diminuta*. Int. J. Parasitol. 24: 295-298.
- Ito, A. y Smyth, J. D. (1987) Immunology of the lumen dwelling cestode infections. En: Immuno responses in parasites infections, immunology, immunoprophylaxis. Vol 11, trematodes and cestodes. Soulsby E.J.L.. Ed. CRC Press Inc., Boca Raton, I.L. 115-163

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

ESTA TESIS NO SA  
DE LA BIBLIOTECA

- Janeway, C.A. Jr. (2001) How the immune system protects the host from infection. *Microbes Infect.* 3: 1167-1171
- Jenkins, D.J. y Rickard, D.M. (1986). Specific responses in dogs experimentally infected with *Echinococcus granulosus*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 35: 345-359
- Kato, T. y Owen, R.L. (1994) Structure and function of intestinal mucosal epithelium. En: *Handbook of Mucosal Immunology*. P.L. Ogra, J. Mestecky, M.E. Lamm, W. Strober, J.R. McGhere y J. Bienenstock (Eds.) Academic Press, San Diego, USA 11-26
- Kitaoka, M., Oku, Y., Okamoto, M. y Kamiya, M. (1990) Development and sexual maturation of *Taenia crassiceps* (Cestoda) in the golden hamster. *J. Parasitol.* 76: 399-402
- Laclette, J.P., Ornelas, Y., Merchant, M.T., Willms, K. (1982) Ultrastructure of the surrounding envelopes of *Taenia solium* eggs. En: *Cysticercosis: present state of knowledge and perspectives*. Flisser, A., Willms, K., Laclette, J.P., Larralde, C., Ridaura, C., Beltran (eds). Academic Press. New York, USA 375-387
- Leid, R.W. y Williams, J.F. (1974) The immunological response of the rat to infection with *Taenia taeniaeformis*. I. Immunoglobulin classes involved in passive transfer of resistance. *Immunol.* 27: 195-208
- Lotocka, K. (1982) Studies on immunoreactivity in patients with taeniasis. *Roczniki Akademii Medycznej im. Juliana Marchlewkiego w Białymstoku.* 27: 263-272
- Lumsden, R.D., Voge, M. Sogandares-Bernal, F. (1982) The metacestode tegument: fine structure, development, topochemistry and interactions with the host. En: *Cysticercosis: present state of knowledge and perspectives*. Flisser, A., Willms, K., Laclette, J.P., Larralde, C., Ridaura, C., Beltran (eds): Ed. Academic Press. New York, USA 307-362
- Malaviya, R., Ross, E., Jakschik, B.A. y Abraham, S.N. (1994) Mast cells degranulation induced by type 1 fimbriated *Escherichia coli* in mice. *J. Clin. Invest.* 93: 1645-1653
- Malaviya, R., Ikeda, T., Ross, E. y Abraham, S.N. (1996) Mast cell modulation of neutrophil influx and bacterial clearance at sites of infection through TNF-alpha. *Nature* 381: 77-80
- Maravilla, P., Avila, G., Cabrera, V., Aguilar, L., Flisser, A. (1998) Comparative development of *Taenia solium* in experimental models. *J. Parasitol.* 84: 882-886
- Maizels, R.M., Bundy, D.A.P., Murray, E., Selkirk, E., Smith, D.F. y Anderson, R.M. (1993) Immunological modulation and evasion by helminth parasites in human populations. *Nature* 365: 797-805
- McKenzie, G.J., Bancroft, A., Grecnis, R. K., McKanezie, A. N., (1998) A distinct role for Interleukin 13 in Th2-cell mediated immune response. *Curr. Biol.* 8: 339-342.
- Mecheri, S. y David, B. (1997) Unraveling the mast cell dilemma; culprit or victim of its generosity? *Immunol. Today* 18: 212-215

- Merchant, M., Aguilar, L., Avila, G., Robert, L., Flisser, A. y Willms, K. (1998). *Taenia solium*: description of the intestinal implantation site in experimental hamster infections. *J. Parasitol.* 84: 681-685
- Miller, H.R.P. y Jarret, W.F.H. (1971) Immune reactions in mucous membranes. I. Intestinal mast cell response during helminth expulsion in the rat. *Immunol.* 20: 277-281
- Mishra, S.K., Sen, R. y Ghatak, S. (1984) *Ascaris lumbricoides* and *Ascaridia galli*: biogenic amines in adults and developmental stages. *Exp. Parasitol.* 57: 34-39
- Mendlovic, F., Tarrab-Hazdai, R. Y Arnon, R. (1987) Role of cellular and humoral immunity and helper cell involvement in permissiveness to infection by *Schistosoma mansoni*. *Eur. J. Immunol.* 17: 1151-1157
- Monroy-Ostria, A., Monroy Ostria, T., Gómez, A. y Hernández, M.O. (1993) Some studies on the experimental infection of golden hamsters with *Taenia solium*. *Rev. Lat. Amer. Microbiol.* 35: 91-98
- Moqbel, R., Wakelin, D., MacDonald, A.J., King, S.J., Grecnis, R.K. y Kay, A.B. (1987) Release of leukotrienes during rapid expulsion of *Trichinella spiralis* from immune rats. *Immunology.* 60:425-30
- Mosmann, R.T., Cherwinski, H., Bond, M.W., Giedlin, M.A. y Coffman, R.L. (1986) Two types of murine helper T cell clones: I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *J. Immunol.* 136: 869-875
- Nawa, Y. y Korenaga, M. (1983) Mast and goblet cell responses in the small intestine of rats concurrently infected with *Nippostrongylus brasiliensis* and *Strongyloides ratti*. *J. Parasitol.* 69: 1168-1170
- Needham, C.S., Bundy, D.A., Lillywhite, J.E., Didier, J.M., Simmons, I. y Bianco, A.E. (1994) The relationship between *Trichuris trichiura* transmission intensity and the age-profiles of parasite-specific antibody isotopes in two endemic communities. *Parasitol.* 105: 273-283
- Nepote, K.H., Pawlowski, Z.S. y soulsby, E.J.L. (1974) Immunoglobulin levels in patients infected with *Taenia saginata*. En: *Parasitic Zoonoses. Clinical and experimental studies.* E.J.L. Soulsby (Ed.). Academic Press, New York and London. 241-247
- Pascual, D.W., Kiyono, H. y Mcghee, J.R. (1996) Mucosal Immunity. Molecular and cellular aspects of immune protection to enteric infections. En: *Enteric Infections and Immunity.* L.J. Paradise (Ed.). Plenum Press, New York, USA. 15-31
- Perez, O., Lastre, M., Capron, M., Neyrinck, J.L., Jouault, T., Bazin, H., Capron, A. (1989) Total and specific IgE in serum and cerebrospinal fluid of rats and guinea pigs infected with *Angiostrongylus cantonensis*. *Parasitol. Res.* 75: 476-481
- Pritchard, D.I. (1993) Immunity to helminths: is too much IgE parasite-rather than host-protective? *Paras. Immunol.* 15: 5-9





- Pritchard, D.I., Hewitt, C. y Moqbel, R. (1997) The relationship between immunological responsiveness controlled by t-helper 2 lymphocytes and infections with parasitic helminthes. *Parasitol.* 115: S33-44
- Ramírez-Bon, E., Merchant, M.T., González-del Pliego, M. y Cañedo, L. (1982) Ultrastructure of the bladder wall of the metacestode of *Taenia solium*. En: *Cysticercosis: present state of knowledge and perspectives*. Flisser, A., Willms, K., Lacleste, J.P., Larralde, C., Ridaura, C., Beltran (eds): Ed. Academic Press. New York, USA. 261-280
- Rao, K.V., Chen, L., Gnanasekar, M y Ramaswamy, K. (2002) Cloning and characterization of a calcium-binding, histamine-releasing protein from *Schistosoma mansoni*. *J. Biol. Chem.* 277: 31207-31213
- Rotwell, T.L.W. (1989) Immune expulsion of parasitic nematodes from the alimentary tract. *Int. J. Parasitol.* 19: 139-168
- Saatcioglu, F., Claret, F. y Karin, M. (1994) Negative transcriptional regulation by nuclear receptors. *Sem. Cancer Biol.* 5: 347-359
- Sato, H., Oku, Y., Rausch, R.L. y Kamiya, M. (1993) Establishment and survival of the strobilar stage of *Taenia crassiceps* in hamsters, gerbils, and mice, with reference to different helminth isolates. *Parasitol. Res.* 79: 619-623
- Sato, H., Kamiya, H., Oku, Y. y Kamiya, M. (1994). Infection course of the strobilar stage of *Taenia crassiceps* in golden hamsters, with reference to host response. *Parasitol. Research.* 80: 99-103
- Sato, H., Ihama, Y. y Kamiya, H. (2000) survival of destrobilated adults of *Taenia crassiceps* in T-cell depleted *Mongolian gerbils*. *Parasitol. Res.* 86: 284-289
- Schimmer, B.P. y Parker, K.L. (1996) Hormona suprarrenocorticotropica; esteroides suprarrenocorticales y sus análogos sintéticos; inhibidores de la síntesis y los efectos de las hormonas suprarrenocorticales. En: *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. Ed. McGraw-Hill-Interamericana, 9a. edición. México. 1551-1579.
- Schleimer, R.P. (1993) The effects of anti-inflammatory steroids on mast cells. En: *The mast cells in health and disease*. Ed. Marcel Dekk, New York, USA
- Schmidt, G.D. y Roberts, L.S. (1989) *Foundations of Parasitology*. C.V. Mosby, St. Louis, USA
- Sher, A., Hein, A., Moser, G. y Caulfield, J.P. (1979) Complement receptors promote the phagocytosis of bacteria by rat peritoneal mast cells. *Lab. Invest.* 41: 490-499
- Shi, B.B., Ishikawa, N., Itoh, H., Khan, A.I., Tsuchiya, K., Horii, Y. y Nawa, Y. (1994) Goblet cell hyperplasia induced by *Strongyloides venezuelensis*-infection in Syrian golden hamster, *Mesocricetus auratus*. *Int. J. Parasitol.* 25: 399-402
- Smyth, J.D. y McManus, D.P. (1989) *The physiology and biochemistry of cestodes*. Ed. Cambridge Univ. Press, UK

- Soulsby, E.J.L. (1987) *Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos*. Ed. Interamericana, México, D.F.
- Stefaniak, J. (1989) Studies of secretory activity and pathomorphology of the gastric mucosa to taeniasis (*Taenia saginata*). *Wiad-Parazytol.* 35: 93-104
- Thompson, R.C.A., Dunsmore, J.D. y Hayton, A.R. (1979) *Echinococcus granulosus*: secretory activity of the rostellum of the adult cestode in situ in the dog. *Exp. Parasitol.* 48: 144-163
- Trudgett, A., Watt, A.P., Harriott, P. y Ennis, M. (2003) Liver fluke (*Fasciola hepatica*) derived peptides activate rat peritoneal mast cells. *Int. Immunopharmacol.* 3: 775-781
- Underdown, B.J. y Mestecky, J. (1994) Mucosal immunoglobulins. En: *Handbook of mucosal immunology*. P.L. Ogra, J. Mestecky, M.E. Lamm, W. Strober, J.R. McGhere y J. Bienenstock (Eds.) Academic Press, San Diego, USA 79-98
- Urban, J.F., Schopf, L., Morris, S.C., Orekhova, T., Madden, K. B., Betts, C.J., Gamble, H.R., Byrd, C., Donalson, D., Else, K. y Finkelman, F.D. (2000) Stat 6 signaling promotes protective immunity against *Trichinella spiralis* through a mast cell- and T cell-dependent, mechanism. *J. Immunol.* 164: 2046-2052
- Verster, A. (1971) Preliminary report on the golden hamster as a definitive host of *Taenia solium* Linnaeus, 1758 and *Taenia saginata* Goeze, 1782. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 38: 63-64
- Verster, A. (1974) The golden hamster as a definitive host of *Taenia solium* and *Taenia saginata*. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 41: 23-28
- Watanabe, N., Nawa, Y., Okamoto, K., Kobayashi, A. (1994). Expulsion of *Hymenolepis nana* from mice with congenital deficiencies of IgE production or mast cell development. *Parasite Immunol.* 16: 137-144.
- Wedemeyer, J., Tsai, M. y Galli, S.J. (2000) Roles of mast cells and basophils in innate and acquired immunity. *Cur. Op. Immunol.* 12: 624-631
- Wilkins, P.P., Allan, J.C., Verastegui, M., Acosta, M., Eason, A., Garcia H.H., González A.E., Gilman, H.R. y Tsang, V.C.W. (1999). Development of a serologic assay to detect *Taenia solium* teniasis. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 60: 199-204.
- Willms, K. (1998) Cestodes (Tapeworms). En: *Infectious Diseases*. Ed. W.B. Saunders, Co. Philadelphia, USA. 2481-2499
- Willms, K. y Sotelo, J. (2001) Cestodes. En: *Principles and Practice of Clinical Parasitology*. Ed. John Wiley and Sons. 613-633
- Willms, K., Merchant, M.T., Gomez, M., y Robert, L. (2001) *Taenia solium*: germinal cell precursors in tapeworms grown in hamster intestine. *Arch: Med. Res.* 32: 1-7
- Windelborg, N.B., Lind, P., Hansen, B. Nansen, P. y Schiotz, P.O. (1991) Larval exoantigens from ascarid nematodes are potente inducers of histamine release from human blood basophils. *Clin. Exp. Allergy.* 21: 725-732

- Yoshino, K. (1933) Studies on the post-embryonal development of *Taenia solium*. J. Med. Ass. Formosa. 32: 139-171
- Zhang, S. y Castro, G.A. (1996) Mechanisms of injury. En: Enteric infection 2. Intestinal helminths. Ed. Chapman and Hall, London, UK. 31-48
- Ziam, H., Pandley, V.S., Darwiche, J., Losson, B., Kumar, V. (1999) Biological parameters of *Trichostrongylus colubriformis* in *Meriones unguiculatus*. Vet. Parasitol. 81: 309-322

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

#### ANEXO 1

Artículos publicados sobre modelos experimentales de teniosis por *Taenia solium*.

1. Avila, G., Aguilar, L., Benitez, S., Yopez-Mulia, L., Lavenat, I. y Flisser, A. (2002) Inflammatory responses in the intestinal mucosa of gerbils and hamsters experimentally infected with the adult stage of *Taenia solium*. Int. J. Parasitol. 32: 1301-1308
2. Avila, G., Benitez, M., Aguilar, L. y Flisser, A. (2003) Kinetics of *Taenia solium* antibodies and antigens in experimental taeniosis. Parasitol. Res. 89: 284-289

## Inflammatory responses in the intestinal mucosa of gerbils and hamsters experimentally infected with the adult stage of *Taenia solium*

Guillermina Avila<sup>a</sup>, Laura Aguilar<sup>a</sup>, Santiago Benitez<sup>b</sup>, Lilian Yopez-Mulia<sup>c</sup>,  
Isabel Lavenat<sup>d</sup>, Ana Flisser<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup>Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México D.F., México

<sup>b</sup>Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos, SSA, 11340, México D.F., México

<sup>c</sup>Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Infecciosas y Parasitarias, Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS, 06725, México, D.F., México

<sup>d</sup>Laboratorio de Neuropatología, Instituto Nacional de Neurología, SSA, 14269, México, D.F., México

Received 25 March 2002; received in revised form 11 June 2002; accepted 11 June 2002

### Abstract

The inflammatory response in gerbils and hamsters harbouring experimental infections with *Taenia solium* adult parasites as well as worm burden and duration of infections were examined. For this purpose, non-suppressed or immunosuppressed rodents were infected with eight cysticerci and necropsied at different times up to 35 days post-infection. Cells in the mucosa surrounding the implantation site of *T. solium* scolices (duodenum–jejunum) and in ileum were counted in stained sections. A competitive enzyme linked immunosorbent assay was used to determine histamine concentration in intestinal fluid. In non-suppressed hosts, an inflammatory reaction developed with scarce macrophages, a slight increase of plasma cells, lymphocytes and fibroblasts, a moderate increase of eosinophils and neutrophils, and high numbers of goblet and mast cells. Goblet cells began to increase at 6 days post-infection and peaked at 13 days post-infection with a four-fold increase with respect to the control group. Mast cells only increased in gerbils starting at 9 days post-infection with an eight-fold increase when cells peaked between 11 and 19 days post-infection. Histamine concentration in intestinal fluid of gerbils had a similar behaviour to mast cells. Minimal increase of mast cells was seen in hamsters. The recovery of tapeworms was inversely related to the number of both cell types, which decreased when tapeworms were eliminated. Infections lasted up to 25 days in gerbils and up to 46 days in hamsters. Worms measured only 1–2 cm in gerbils and up to 40 cm in hamsters. When gerbils were suppressed with the steroid methyl prednisolone, tapeworms could be recovered up to 35 days post-infection and tapeworms measured up to 22 cm, a minor increase of goblet and mast cells was observed and histamine concentration was similar to that in non-infected animals. Our results suggest that expulsion of *T. solium* in gerbils and hamsters may be related to the increase of goblet cells and mast cells, but these cells may have different roles in each rodent model of taeniosis. © 2002 Australian Society for Parasitology Inc. Published by Elsevier Science Ltd. All rights reserved.

**Keywords:** Gerbils; Goblet cells; Hamsters; Histamine; Mast cells; *Taenia solium*

### 1. Introduction

*Taenia solium* is a cestode parasite that causes taeniosis and cysticercosis in humans, as well as cysticercosis in pigs. The latter is acquired by ingesting eggs of the adult parasite released in faeces by a human tapeworm carrier. The larval stage or cysticercus establishes in the central nervous system, eyes, subcutaneous tissue and skeletal muscle. Human taeniosis is acquired after ingestion of cysticerci in raw or inadequately cooked pork; the tapeworm establishes in the small intestine and becomes gravid around 4

months after infection. Whereas the host–parasite relationship in human and swine cysticercosis has been thoroughly studied (reviewed by Flisser, 1994; White et al., 1997), it is practically unknown in taeniosis due to *T. solium*, mainly because human beings are the only definitive hosts of the adult stage. Since taeniosis is an asymptomatic disease, carriers are often unaware of their infection (Flisser, 1994).

The development of *T. solium* adult parasites in experimental models is a useful research alternative; *T. solium* can grow in hamsters, gerbils, chinchillas and gibbons (Gnezdilov, 1957; Cadigan et al., 1967; Verster, 1971; Maravilla et al., 1998). Tapeworms reach gravidity and eggs are produced only in infected gibbons and chinchillas (Cadigan, 1967; Maravilla et al., 1998). Taenias recovered from the

\* Corresponding author. Tel.: +52-55-56232466; fax: +52-55-56232459.

E-mail address: flisser@servidor.unam.mx (A. Flisser).

hamster model facilitated the development of a coproantigen enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) that has been used in epidemiological studies (Allan et al., 1990; Sarti et al., 2000). IgG antibodies in serum and faeces as well as *T. solium* antigens in serum have also been detected in the same animal model (Monroy-Ostria et al., 1993; Avila et al., 2002). Moreover, an inflammatory reaction was observed in the intestinal mucosa of infected hamsters (Monroy-Ostria et al., 1993) but was not characterised. Infections last for 3–12 weeks in gerbils and hamsters, respectively, and more tapeworms are recovered from hamsters. When rodents are immunosuppressed with corticosteroids, infections last up to 12 weeks in gerbils and 18 weeks in hamsters, and more tapeworms are recovered from hamsters than from gerbils (Maravilla et al., 1998). These two species of rodents also show differences in that four times more steroids are required to maintain the infection in gerbils and the development of *T. solium* is faster in this rodent, but expulsion of parasites is also higher (Maravilla et al., 1998).

There have been several studies regarding the cellular response associated with expulsion of intestinal parasites. Histopathological changes which develop in alimentary tract following infection of rodents with nematode parasites, such as *Nippostrongylus* and *Strongyloides*, are characterised by the accumulation of mast cells, leukocytes and goblet cell hyperplasia (Nawa and Korenaga, 1983; Woodbury et al., 1984; Watanabe et al., 1994; Wedemeyer et al., 2000). The presence of mast cell hyperplasia has been shown in rats infected with *Hymenolepis diminuta*, in mice with *Hymenolepis nana* and in hamsters infected with *Taenia crassiceps* (Ishih, 1994; Watanabe et al., 1994; Sato et al., 1994; Starke and Oaks, 2001). The presence of goblet cells has only been investigated in rats infected with *H. diminuta*, which increase slightly during the infection (Starke and Oaks, 2001). However, the presence of these two cell populations has not been investigated in taeniosis due to *T. solium*. Here we report, the time course of *T. solium* infection in gerbils and hamsters, with respect to the inflammatory response, especially goblet cells, mast cells and histamine, as compared with the recovery rate and length of the parasites.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Experimental models

Outbred 8-month-old golden hamsters (*Mesocricetus auratus*) were obtained from the Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos (InDRE) and mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*) from the Centro de Investigación y Estudios Avanzados and kept in InDRE in a conventional breeding room. All animals were fed with commercial pellets and water ad libitum. Animals were treated for intestinal parasites before infection with 20 mg/

kg body weight of metronidazol (Rhône Poulenc) for 5 days, 50 mg/kg of mebendazole (Sanfer) for 3 days, and with a single dose of 30 mg/kg of praziquantel (Merck).

### 2.2. Infections

Rodents were infected per os with eight *T. solium* cysticerci dissected from skeletal muscle of a naturally infected pig. Prior to infection, some cysticerci were assayed for viability by in vitro evagination after incubation in culture medium with 25% pig bile for 6 h (Correa et al., 1987). Cysticerci had 98% evagination. One group of gerbils and one of hamsters were infected but not suppressed, and a second group of gerbils was infected and suppressed with 6 mg of methyl-prednisolone acetate (Depomedrol, Upjohn) on the day of infection and every 14 days thereafter.

### 2.3. Parasitological and histological examinations

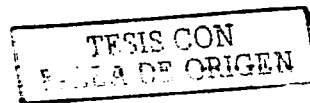
Three to five animals from each group were necropsied at different times beginning at 3 days post-infection (pi) and extending to 35 days pi in gerbils and 46 days pi in hamsters by an overdose of anaesthesia (sodium phenobarbital, Sedalphone). The small intestine was excised and opened longitudinally, tapeworms were counted and the attachment site (duodenum–jejunum) of the scolices was determined. For histological examination, 1 cm long pieces at the attachment site of tapeworms and of ileum were fixed in either Carnoy's fluid or in buffered formalin and embedded in paraffin. Sections measuring 4 µm thick were stained with Haematoxyline and Eosine, periodic acid/Schiff (PAS), Giemsa or Wright (Lillie, 1965). All cell types were examined under light microscope and mast cells were counted and reported per 10 villous crypts that were considered as one unit (VCU) and goblet cells were counted and reported per villous (Miller and Jarret, 1971). Some worms were attached to the mucosa and were fixed and processed as above. However, most worms were detached when the intestine was opened; these tapeworms were observed under a stereoscopic microscope, and then placed in distilled water, stored overnight at 4°C for relaxation and measured.

### 2.4. Histamine in intestinal fluid

After tissue biopsies for histological examination were taken, the small intestine was washed with 3 ml of PBS pH 7.2, and centrifuged at 5,500 × g for 10 min at 4°C. Afterwards, the supernatant was collected and stored at –20°C until used to measure the concentration of histamine by an ELISA kit (Immunotech, IM 2015, Beckman Coulter Co), following instructions of the manufacturer.

### 2.5. Statistical analysis

Tapeworm and cell numbers as well as concentration of histamine in intestinal fluid were submitted to non-parametric analysis of variance using the Kruskal–Wallis and



Mann–Whitney *U*-tests. Two tailed *P* values of  $<0.05$  were considered to be significant (Zar, 1989). All data were analysed using the EPISTAT program.

### 3. Results

#### 3.1. Survival and development of *T. solium*

The percentage of tapeworm recovery in each day of necropsy, according to the number of cysticerci used for infection, is shown in Fig. 1. More than 50% of tapeworms were recovered in non-suppressed gerbils at 3, 6, 9 and 13 days pi. These values were statistically different from those obtained in the remaining days. After 25 days pi, all the animals lost the parasites (Fig. 1A). Tapeworm recovery

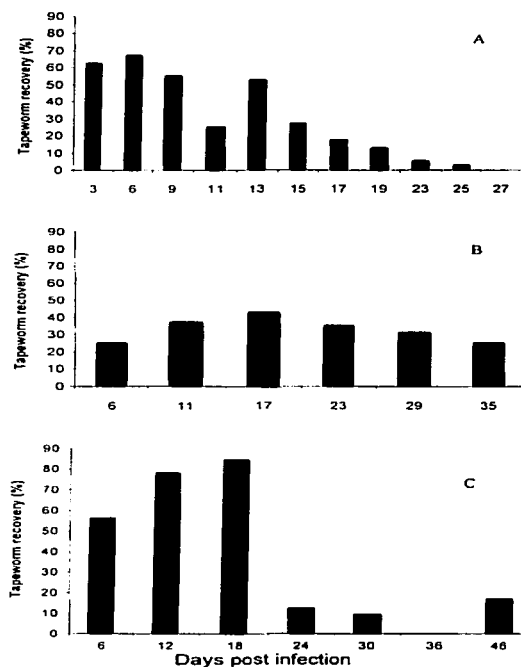


Fig. 1. Recovery of *Taenia solium* adult intestinal worms after oral infection with eight cysticerci each at different days post-infection from (A) non-suppressed gerbils; (B) suppressed gerbils and (C) non-suppressed hamsters.

was similar during the whole experiment in suppressed gerbils and lasted up to 35 days pi (Fig. 1B). Between 50 and 85% of tapeworms were recovered at 6, 12 and 18 days pi in non-suppressed hamsters and parasites were obtained up to 46 days pi (Fig. 1C). Overall recovery was 32% in suppressed gerbils and in non-suppressed hamsters, and 27% in non-suppressed gerbils.

Since the precise area of attachment in the intestine is not known for *T. solium*, we took extra care recording it. In both groups of gerbils, most worms were attached to the upper third section of the small intestine; the inflammatory lesion seen under stereoscopic microscope identified this site. Parasites were located at different points in the duodenum–jejunum from 1.5 to 11.5 cm distal to the pylorus, most were attached in the first third section at 6.5 cm ( $\pm 2.8$  cm) and 8% of the tapeworms were in the beginning of the middle third of the small intestine. With respect to size, very small tapeworms were recovered from non-suppressed gerbils along the study, 0.3–2.0 cm ( $0.6 \pm 0.3$  cm). When animals were suppressed, parasite length increased according to the time of infection; during the first 9 days the mean was 2.5 cm ( $\pm 1.2$  cm), 16.5 cm ( $\pm 2.8$  cm) at 11–23 days pi and afterwards 22 cm ( $\pm 5.0$  cm). In non-suppressed gerbils only immature worms were obtained, some mature tapeworms were recovered from suppressed gerbils, but in both groups of gerbils no gravid worms were recovered.

Tapeworms in hamsters were located from 8 to 24 cm distal to the pylorus, most were attached in the first third section at 11.5 cm ( $\pm 3.8$  cm), 11% of the tapeworms were in the middle third, only one parasite was found attached to the last third section of the small intestine. Differences in length and development of worms were seen along the time of the infection; smaller worms were obtained during the first 9 days ( $2.5 \pm 1.4$  cm), in the next 12 days tapeworm length increased to 18.5 cm ( $\pm 7.0$  cm). The largest worms, measuring 30–40 cm, were obtained at 30–46 days pi. Mature tapeworms were recovered after 18 days pi but no gravid worms were found.

#### 3.2. Mucosal inflammatory reaction

The aspect of the mucosa was normal in non-infected animals; the villi were thin, enlarged and rounded with few goblet cells distributed in the mucosa along the villous. Scarce eosinophils, lymphocytes, plasma cells and mast cells at the lamina propria were seen. The normal shape of the mucosa was lost in infected animals; edema and loss of the villi structure (stunted and deformed villi) were observed. An inflammatory reaction developed with scarce macrophages, a slight increase of plasma cells, lymphocytes and fibroblasts, a moderate increase of eosinophils and neutrophils, and high numbers of goblet and mast cells. These changes were only seen in the attachment site of the scolices. Goblet cells were small and round during the first 6 days pi, later they increased in size and hypersecretion

of mucus between villi and in the lumen of the small intestine was observed (Fig. 2A). Also many mast cells with granules or degranulated were observed (Fig. 2B).

### 3.3. Kinetics of intestinal goblet cells

Goblet cells began to increase in non-suppressed gerbils gradually from 6 days pi and peaked at 13 days pi, then a decrease was observed, but higher numbers with respect to the non-infected animals were still present (Fig. 3A) with

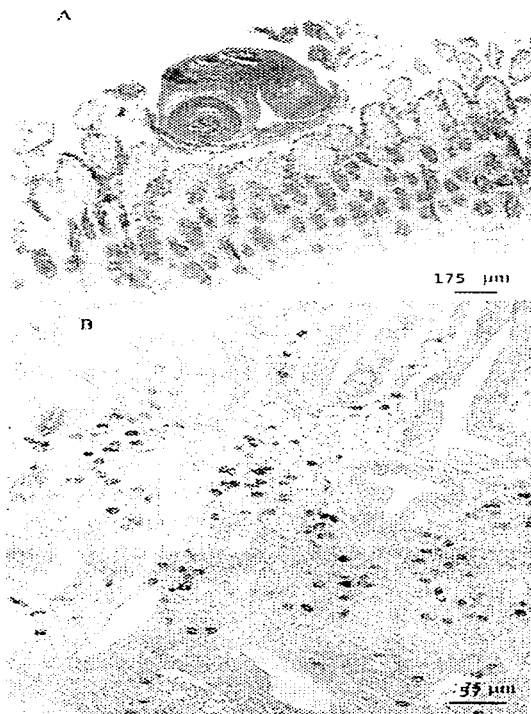


Fig. 2. Light micrographs of sections from the mucosa of gerbils showing goblet and mast cells: (A) was taken at 18 days post-infection and shows an intense reaction of goblet cells with mucous hypersecretion and the scolex of a tapeworm. The section was stained with periodic acid/Schiff; (B) corresponds to a section taken at 19 days post-infection where many mast cells are seen in the mucosa. The section was stained with Wright's stain.

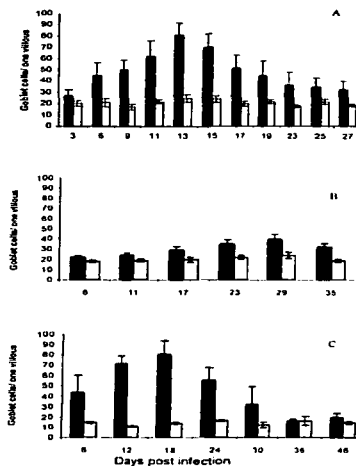


Fig. 3. Mean number of goblet cells per villous ( $\pm$ SD) at the attachment site of *Taenia solium* in the mucosa of the small intestine of non-suppressed gerbils (A), suppressed gerbils (B) and non-suppressed hamsters (C). Black bars correspond to infected animals and white bars to non-infected controls.

statistically significant differences. The increase of goblet cells was observed only in the mucosa near or in the attachment site of the scolices. Ileum of infected animals had similar numbers of cells to those found in non-infected animals (white bars in Fig. 3).

The inflammatory reaction was less intense in suppressed gerbils. Goblet cells showed a slight increase and cells peaked between 23 and 29 days pi (Fig. 3B). Statistically significant differences were observed from 23 to 35 days pi as compared with non-infected animals. In hamsters, goblet cells increased in a similar way as that in non-suppressed gerbils, cells peaked at 18 days pi, and then began to decrease at 36 days pi; similar numbers of goblet cells were seen in infected and non-infected hamsters. Statistically significant differences were observed from 6 to 24 days pi with respect to the non-infected hamsters (Fig. 3C).

### 3.4. Kinetics of intestinal mast cells

A gradual increase in intestinal mast cells was observed along the infection in the attachment site of the scolices in non-suppressed gerbils. This increase was not observed in non-infected animals (white bars in Fig. 4). Mast cells increased slowly in the first 9 days pi, then rapidly between 11 and 25 days pi and peaked at 19 days pi when tapeworms

were practically absent (Fig. 4A). Statistical differences between infected and control gerbils were obtained from 9 days pi. Mast cells increased less and slower in suppressed gerbils (Fig. 4B) than in non-suppressed animals and peaked at 23 days pi with a statistically significant difference with respect to the non-infected group only at this time. The number of mast cells in hamsters was irregular and low, no increase except at 30 days pi, a statistically significant difference was observed only at this time with respect to non-infected hamsters (Fig. 4C). Similar numbers of mast cells in non-suppressed hamsters to those observed in suppressed gerbils were found, thus infections in immunosuppressed hamsters were not performed.

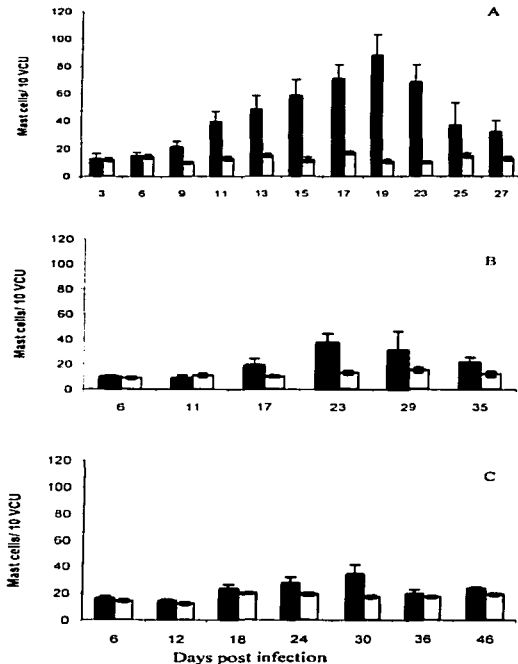


Fig. 4. Mean number of mast cells per 10 villous crypt units (VCU) ( $\pm$ SD) at the attachment site of *Taenia solium* in the mucosa of the small intestine of non-suppressed gerbils (A), suppressed gerbils (B) and non-suppressed hamsters (C). Black bars correspond to infected animals and white bars to non-infected controls.

### 3.5. Histamine concentration in intestinal fluid

Histamine concentration began to increase in non-suppressed infected gerbils from 9 days pi (Fig. 5A), at the same time that mast cell increase occurred (Fig. 4A). High histamine concentrations (300–400 ng/ml) were detected between 11 and 19 days pi, then histamine began to decrease. Statistical differences were observed from 9 days pi with respect to non-infected gerbils. A slight increase of histamine (150 ng/ml) was detected in suppressed gerbils only at 23 days pi with statistically significant differences with respect to non-infected controls only at this time (Fig. 5B). Since hamsters had a minimal mast cells response similar to that observed in immunosuppressed gerbils, no determination of histamine in intestinal fluid was performed.

## 4. Discussion

Previous studies have shown that *T. solium* adults can develop in rodents, with higher efficacy in immunosuppressed animals (Verster, 1971; Maravilla et al., 1998). The purpose of the present study was to identify cellular changes in the mucosa of the small intestine in gerbils and hamsters experimentally infected and their implications in worm expulsion. Immunosuppressive treatment was essential for the survival and maintenance of tapeworm infections in gerbils, since only in suppressed hosts tapeworm recovery was constant and minimal expulsion was observed along all

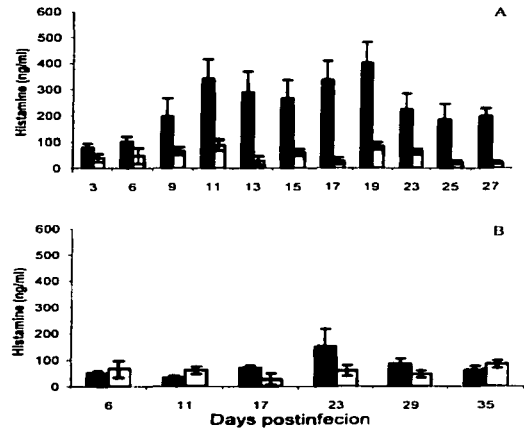


Fig. 5. Histamine concentration in intestinal fluid ( $\pm$ SD) of infected (black bars) and control (white bars) gerbils at different days post-infection: (A) corresponds to non-suppressed gerbils and (B) to suppressed gerbils.



the study, also worms were longer and had mature proglotids suggesting that the immune response interferes with the establishment and growth of worms.

In a previous study, Monroy-Ostria et al. (1993) demonstrated that in non-suppressed hamsters infected with *T. solium*, the inflammatory reaction was formed by macrophages, epithelial cells, some plasma cells and inflammatory cells. In order to gain a more detailed understanding of the inflammatory response, different tissue stains and comparison of gerbils and hamsters were included in the present study, as well as the use of an immunosuppressive drug. Our results showed that in suppressed gerbils the inflammatory reaction was minimal with a low increase of goblet and mast cells, the infection lasted longer and more tapeworms were recovered. These findings were most probably due to the anti-inflammatory activity of the glucocorticoid employed, as has been demonstrated in other suppressed experimental models, where more parasites are obtained and the mucosal inflammatory reaction is minimal (Sato et al., 1994; Eklund et al., 1997; Ziam et al., 1999).

The localised inflammatory lesion seen at the attachment point of tapeworms in the mucosa may be due to the mechanical or secretory activity of the *T. solium* scolex. In experimental infections it has been demonstrated that the scolices of *Echinococcus granulosus*, *Echinococcus multilocularis* and *T. solium* attach close to the crypts of Lieberkühn with the hooks penetrating the submucosal wall and the four suckers entrapping one or more intestinal villi (Smyth and McManus, 1989; Merchant et al., 1998), often resulting in a complete breakdown of the mucosal epithelium. On the other hand, release of secretory material by the apical rostellar region of *E. granulosus* embedded in crypts of dogs' intestinal mucosa has also been described as responsible for host tissue damage (Thompson et al., 1979). In our study the inflammatory response, especially the increase of goblet and mast cells was only seen in the attachment site of the scolices of *T. solium*. It has been shown that at the site where the scolex of this tapeworm is attached, the host tissue exhibits various degrees of cell lysis and necrosis of epithelial and submucosal cells (Merchant et al., 1998) the types and numbers of cells found in this site were nevertheless not described.

The development of goblet cell hyperplasia, and intestinal mastocytosis in intestinal nematode infections are well documented (Nawa et al., 1994; Pritchard et al., 1997; Wedemeyer et al., 2000). Our study demonstrates similar findings in a cestode infection. Recently, Starke and Oaks (2001) also reported increase in these types of cells in rats infected with *H. diminuta* but with lower numbers, which could probably be because *H. diminuta* has no hooks. In the case of *T. solium* the rostellum with its hooks penetrates the intestinal wall, damaging host tissue close to and within the suckers (Merchant et al., 1998).

The tapeworm expulsion occurred rapidly after goblet cells peaked (13 days pi in gerbils and 18 days pi in hamsters). These results are similar to those obtained by

Fujino et al. (1996) in BALB/c mice infected with the trematode *Echinostoma trivolvis*, where goblet cells increased at 13 days pi and the expulsion of the parasite occurred between 10 and 13 days pi. In rats and gerbils experimentally infected with the nematode *Nippostrongylus brasiliensis* an increase of goblet cells occurred and the expulsion of the parasite from the host intestine is reported to be mediated by mucine derived from goblet cells (Nawa and Korenaga, 1983; Horii et al., 1993; McKenzie et al., 1998). In the present study hypersecretion of mucus was also observed.

Mechanisms operating against intestinal parasites have been thoroughly studied in experimental infections of rodents with the nematodes *N. brasiliensis*, *T. spiralis* and *Strongyloides* spp. In *N. brasiliensis* there is a chronological association of worm expulsion with goblet cell hyperplasia and alterations in the terminal sugars of goblet cell (Ishikawa et al., 1993; Nawa et al., 1994). In *Strongyloides* spp. and *T. spiralis* infections mucosal mast cells with different granule components and their localisation play a central role in defence against the parasite (Nawa and Korenaga, 1983; Nawa et al., 1994; Grecnis, 1997; Urban et al., 2000; Watanabe et al., 2001). In the case of *T. solium* the mechanisms of expulsion are unknown. Parasites induce in experimental taeniosis in gerbils and hamster's goblet cell hyperplasia that seemingly participates in the expulsion of the tapeworm, but since mastocytosis was only seen in gerbils in which rapid expulsion of the parasite took place, mast cells may have an important role in this phenomenon. Furthermore, histamine release, measured in intestinal fluid, increased parallel to that of mast cells. A similar histamine increase was demonstrated in children with chronic *Trichuris trichiura* infection (Cooper et al., 1991) and in sheep with *Trichostrongylus colubriformis*, in which, after parasite elimination, histamine concentration decreased (Harrison et al., 1999). In some cestode infections, the presence of mast cells is controversial, whereas in mice infected with *H. nana* the expulsion of this worm seemed to be IgE and mast cell mediated (Watanabe et al., 1994). In rats infected with *H. diminuta* mucosal mast cells have no direct role in expulsion of this cestode (Featherston et al., 1992). Mast cells increased with time in a dose-dependent fashion in hamsters infected with *T. crassiceps* and decreased when tapeworms were expelled, but no clear correlation with expulsion was investigated, except for the fact that when hosts were suppressed no mastocytosis and expulsion of worms occurred (Sato et al., 1994).

No increase of mast cells or histamine in suppressed gerbils infected with *T. solium* was seen; this was expected since mast cells are regulated by glucocorticoids (Eklund et al., 1997). This type of drug has been extensively used to demonstrate the participation of the immune response in the expulsion of parasites (Ziam et al., 1999) and this effect is further supported in the present study. Only a slight increase of mast cells was found in non-suppressed hamsters, similar to that of immunosuppressed gerbils, and to that reported by

Sato et al. (1994) in hamsters infected with *T. crassiceps*, immunosuppressed hamsters were therefore not included.

All the data reported in the present study suggest that gerbils are less permissive hosts for *T. solium* than hamsters. Similar results were obtained when these rodents were infected with *T. crassiceps*, whereas in non-suppressed gerbils rejection occurred faster, within 10 days pi, and remaining parasites lacked the strobila, in hamsters *T. crassiceps* adults were expelled after 15 days pi, and those surviving reached sexual maturity and produced eggs comparable to the natural host (Sato and Kamiya, 1989; Kitaoka et al., 1990; Sato et al., 1993). In the case of *T. solium*, hamsters seem to be more permissive than gerbils, probably due to the absence of a strong mast cell response. While searching for *Trichinella*, patients infected with *Taenia* sp. showed a small focal cellular infiltrate or chronic enteritis accompanied with a moderate number of mast cells in the mucosa and connective tissue of the jejunum (Gustowska et al., 1983). Humans being natural hosts, are permissive to the infection, probably due to the lack of a strong mast cell response.

In conclusion, the differences in *T. solium* infections observed in gerbils and hamsters with respect to susceptibility, worm burden and retention of tapeworms may be explained by the local intestinal cellular immune response. Whereas gerbils had a vigorous response of mast cells with secretion of histamine, hamsters were low responders and more permissive for this cestode. Nevertheless tapeworms were finally expelled from hamsters; therefore other inflammatory, immunological or physiological mechanisms are also participating.

#### Acknowledgements

This work was partly supported by grants 28094B from CONACYT, Mexico and 02314 from PAEP-UNAM, Mexico. LA received a scholarship from Fundacion TELMEX.

#### References

- Allan, J., Avila, G., Garcia-Noval, J., Flisser, A., Craig, P.S., 1990. Immunodiagnosis of taeniasis by coproantigen detection. *Parasitology* 101, 473–7.
- Avila, G., Benitez, A., Aguilar-Vega, L., Flisser, A., 2002. Kinetics of *T. solium* antigens and antibodies in hamsters infections. *Parasitol. Res. (in press)*.
- Cadigan, F., Santon, J.S., Tanticharoenyus, P., Chaicumpa, V., 1967. The Lar Gibbon as definitive and intermediate host of *Taenia solium*. *Med. Res.* 53, 844.
- Cooper, E.S., Spencer, J., Whyte-Alleng, C.A.M., Cromwell, O., Whitney, P., Venugopal, S., Bunly, D.A.P., Haynes, B., MacDonald, T.T., 1991. Immediate hypersensitivity in colon of children with chronic *Trichuris trichiura* dysentery. *Lancet* 338, 1104–7.
- Correa, D., Lacleite, J.P., Rodriguez-del Rosal, E., Merchand, M., Flisser, A., 1987. Heterogeneity of *Taenia solium* cysticerci obtained from different naturally infected pigs. *Parasitology* 73, 443–5.

- Eklund, K., Humphries, D., Xia, Z., Ghildyal, N., Friend, D.S., Gross, V., Stevens, R., 1997. Glucocorticoids inhibit the cytokine-induced proliferation of mast cells, the high affinity I $\kappa$ B receptor-mediated expression of TNF- $\alpha$ , and the IL-10 induced expression of chymases. *J. Immunol.* 158, 4373–80.
- Featherston, D.W., Wakelin, D., Lammus, D.A., 1992. Inflammatory responses in the intestine during tapeworm infections. Mucosal mast cells and mucosal mast cell proteases in Sprague–Dawley rats infected with *Hymenolepis diminuta*. *Int. J. Parasitol.* 27, 961–6.
- Flisser, A., 1994. Taeniasis and cysticercosis due to *T. solium*. In: Sun, T. (Ed.), *Progress in Clinical Parasitology*, CRC Press, New York, NY, pp. 77–116.
- Fujino, T., Fried, B., Ichikawa, H., Tada, I., 1996. Rapid expulsion of the intestinal trematodes *Echinostoma trivolvis* and *E. caproni* from C3H mice trapping with increased goblet cell mucins. *Int. J. Parasitol.* 26, 319–24.
- Gnezdilov, V.G., 1957. The golden hamster (*Mesocricetus auratus* Waterhouse) as potential definitive host of tapeworm *Taenia solium*. *Zoologicheski Zhurnal* 36, 1770–3.
- Grencis, R.K., 1997. Th2-mediated host protective immunity to intestinal nematode infections. *Philos. Trans. R. Soc. Lond.* B352, 1377–84.
- Gustowska, L., Ruitenber, E.J., Elgersima, A., Koeciaka, W., 1983. Increase of mucosal mast cells in the jejunum of patients infected with *Trichinella spiralis*. *Int. Arch. Allergy Appl. Immun.* 71, 304–8.
- Harrison, G.B., Pulford, H.D., Gatehouse, T.K., Shaw, R.J., Pfeiffer, A., Shoemaker, C.B., 1999. Studies on the role of mucus and mucosal hypersensitivity reactions during rejection of *Trichostrongylus colubriformis* from the intestine of immune sheep using an experimental challenge model. *Int. J. Parasitol.* 29, 353–68.
- Horii, Y., Khan, A.I., Nawa, Y., 1993. Persistent infection of *Strongyloides venezuelensis* and normal expulsion of *Nippostrongylus brasiliensis* in Mongolian gerbils, *Meriones anguiculatus*, with reference to the cellular responses in the intestinal mucosa. *Parasite Immunol.* 15, 175–9.
- Ishih, A., 1994. Worm burden and mucosal mast cell response in DA and F344/N rats infected with *Hymenolepis diminuta*. *Int. J. Parasitol.* 24, 295–8.
- Ishikawa, N., Horii, Y., Nawa, Y., 1993. Immune-mediated alteration of the terminal sugars of goblet cell mucins in the small intestine of *Nippostrongylus brasiliensis*-infected rats. *Immunology* 78, 303–7.
- Lillie, R.D., 1965. *Histopathologic Technique and Practical Histochemistry*, McGraw Hill, New York, NY.
- Kitaoka, M., Oku, Y., Okamoto, M., Kamiya, M., 1990. Development and sexual maturation of *Taenia crassiceps* (Cestoda) in the golden hamster. *J. Parasitol.* 76, 399–402.
- Maravilla, P., Avila, G., Cabrera, V., Aguilar, L., Flisser, A., 1998. Comparative development of *Taenia solium* in experimental models. *J. Parasitol.* 84, 882–6.
- McKenzie, G.J., Bancroft, A., Grencis, R.K., McKenzie, A.N., 1998. A distinct role for interleukin-13 in Th2-cell mediated immune response. *Curr. Biol.* 8, 339–42.
- Merchand, M.T., Aguilar, L., Avila, G., Robert, L., Flisser, A., Willms, K., 1998. *Taenia solium*: description of the intestinal implantation sites in experimental hamster infections. *J. Parasitol.* 84, 681–5.
- Miller, H.R.P., Jarret, W.F.H., 1971. Immune reactions in mucous membranes. *Immunology* 20, 277–81.
- Monroy-Ostria, A., Monroy-Ostria, T.J., Gomez, G., Hernandez, M.O., 1993. Some studies on the experimental infection of golden hamsters with *Taenia solium*. *Rev. Latin Am. Microbiol.* 35, 91–98.
- Nawa, Y., Korenaga, M., 1983. Mast and goblet cell responses in the small intestine of rats concurrently infected with *Nippostrongylus brasiliensis* and *Strongyloides ratti*. *J. Parasitol.* 69, 1168–70.
- Nawa, Y., Ishikawa, N., Tsuchiya, K., Horii, Y., Abe, T., Khan, A.I., Shu, B., Itoh, H., Ide, H., Uehimaya, F., 1994. Selective effector mechanisms for the expulsion of intestinal helminths. *Parasite Immunol.* 16, 333–8.
- Pritchard, D.I., Hewitt, C., Moqbel, R., 1997. The relationship between immunological responsiveness controlled by T-helper 2 lymphocytes and infections with parasitic helminths. *Parasitology* 115, 533–44.

TESIS CON  
 FALLA DE ORIGEN

- Sarti, E., Schantz, P.M., Avila, G., Ambrosio, J., Medina-Santillana, R., Flisser, A., 2000. Mass treatment against human taeniasis for the control of cysticercosis: a population-based intervention study. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 94, 85–89.
- Sato, H., Kamiya, M., 1989. Viable egg production of *Taenia crassiceps* developed in the intestine of prednisolone-treated golden hamsters. *Jpn. J. Parasitol.* 38, 46–53.
- Sato, H., Oku, Y., Rauseh, R.L., Kamiya, M., 1993. Establishment and survival of the strobilar stage of *Taenia crassiceps* in hamsters, gerbils, and mice, with reference to different helminth isolates. *Parasitol. Res.* 79, 619–23.
- Sato, H., Kamiya, H., Oku, Y., Kamiya, M., 1994. Infection course of the strobilar stage of *Taenia crassiceps* in golden hamsters, with reference to host response. *Parasitol. Res.* 80, 99–103.
- Smyth, J.D., McManus, D.P., 1989. *The Physiology and Biochemistry of Cestodes*. Cambridge University Press, New York, NY pp. 398.
- Starke, W.A., Oaks, J.A., 2001. Ileal mucosal mast cell, eosinophil, and goblet cell populations during *Hymenolepis diminuta* infection of the rat. *J. Parasitol.* 87, 1222–5.
- Thompson, R.C.A., Dunsmore, J.D., Hayton, A.R., 1979. *Echinococcus granulosus*: secretory activity of the rostellum of the adult cestode in situ in the dog. *Exp. Parasitol.* 48, 114–63.
- Urban, J.F., Schopf, L., Morris, S.C., Orekhova, T., Madden, K.B., Betts, C.J., Gamble, H.R., Byrd, C., Donalson, D., Else, K., Finkelman, F.D., 2000. Stat 6 signaling promotes protective immunity against *Trichinella spiralis* through a mast cell- and T cell-dependent, mechanism. *J. Immunol.* 164, 2046–52.
- Verster, A., 1971. The golden hamster as a definitive host of *Taenia solium* and *Taenia saginata*. *Ond. J. Vet. Res.* 41, 23–28.
- Watanabe, N., Nawa, Y., Okamoto, K., Kobayashi, A., 1994. Expulsion of *Hymenolepis nana* from mice with congenital deficiencies of IgE production or mast cell development. *Parasite Immunol.* 16, 137–44.
- Watanabe, N., Hamano, S., Yada, S., Noda, K., Kishihara, K., Nomoto, K., Tada, I., 2001. The effect of interleukin-4 on the induction of intestinal mast cells and chronological cytokine profiles during intestinal nematode *Strongyloides ratti* infection. *Parasitol. Res.* 87, 149–54.
- Wedemeyer, J., Tsai, M., Galli, S.J., 2000. Roles of mast cells and basophils in innate and acquired immunity. *Curr. Opin. Immunol.* 12, 624–31.
- White, C.A., Obinson, P., Kuhn, R., 1997. *Taenia solium* cysticercosis: host-parasite interactions and the immune response. Immunopathogenic aspects of disease induced by helminth parasite, Freedman, D.O. (Ed.). *Chem. Immunol.*, 209–30.
- Woodbury, R., Miller, H., Huntley, J., Newland, G., Palliser, A., Wakelin, D., 1984. Mucosal mast cells are functionally active during spontaneous expulsion of intestinal nematode infections in rat. *Nature* 312, 450–2.
- Zar, J.H., 1989. *Nonparametric methods. Biostatistical Analysis*. Prentice Hall, Englewood Cliffs, NJ, pp. 599–620.
- Ziam, H., Pandey, V.S., Darwiche, J., Losson, B., Kumar, V., 1999. Biological parameters of *Trichostrongylus colubriformis* in *Meriones unguiculatus*. *Vet. Parasitol.* 81, 309–22.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Guillermina Avila · Marcela Benítez  
Laura Aguilar-Vega · Ana Flisser

## Kinetics of *Taenia solium* antibodies and antigens in experimental taeniosis

Received: 8 June 2001 / Accepted: 7 January 2002 / Published online: 6 November 2002  
© Springer-Verlag 2002

**Abstract** Two groups of hamsters were infected with *Taenia solium* cysticerci, one of which was suppressed with methyl-prednisolone acetate on the day of infection and every 14 days thereafter. The other did not receive steroid treatment. Faecal and serum samples were taken prior to infection and then at weekly intervals. Parasite circulating- and coproantigens were detected by a capture ELISA with rabbit polyclonal antibodies against *T. solium* tapeworms. IgG antibodies in serum and in faecal supernatants were detected by ELISA with excretory-secretory products of *T. solium* adults recovered from hamsters. Infections remained up to 17 weeks in suppressed hamsters, but after week 11 no tapeworms were found in non-suppressed hosts. *T. solium* coproantigens in both groups of hamsters were positive from the 1st week post-infection (wpi) until the tapeworms were rejected. Circulating antigens were detected only in non-suppressed hamsters from the 3rd wpi until 1 week before *T. solium* was eliminated. All infected hamsters developed serum IgG antibodies against tapeworms which were detected from the 2nd wpi and decreased slowly after *T. solium* expulsion. Specific IgG in faecal supernatants was detected from the 3rd wpi only in non-suppressed hamsters. When suppression was stopped, coproantibodies could also be detected. The presence of IgG antibodies indicates that tapeworms induced an immune response in the experimental host and that when hamsters were suppressed with corticosteroids the immune response was impaired and did not allow the detection of IgG coproantibodies. This indicates, in addition, that the passage of *T. solium* antigens from the small intestine to the circulation was blocked.

### Introduction

*Taenia solium* is a cestode parasite that causes two different diseases in humans: cysticercosis and taeniosis. The first is due to the establishment of the larval stage in the central nervous system, eyes, subcutaneous tissue and striated muscle. Taeniosis, on the other hand, is due to the establishment of the adult stage in the small intestine, and it has been demonstrated that tapeworm carriers are the main risk factor for acquiring cysticercosis (Schantz et al. 1992). Whereas the host-parasite relationship in human and swine cysticercosis has been thoroughly studied (reviewed by Flisser 1994), taeniosis due to *T. solium* is practically unknown, mainly because humans are the only natural host of the adult stage and infected people are the source of infection for human cysticercosis. Recently, it was demonstrated that *T. solium* adults induce a specific humoral immune response and anti-parasite IgG and IgA antibodies can be detected in the serum of tapeworm carriers (Wilkins et al. 1999).

An alternative to the use of humans for the study of this parasitic disease is the development of *T. solium* adults in experimental models. The most commonly used is the golden hamster (Gnezdilov 1957; Verster 1971; Allan et al. 1990; Maravilla et al. 1998). The strobilar stage of *T. solium* survives for more than 16 weeks in immunosuppressed hamsters, while in non-suppressed individuals the infection lasts for about 10 weeks. In addition, more tapeworms are recovered at necropsy from the former (Maravilla et al. 1998). Infection has been followed by the detection of coproantigens, which appear in the prepatent period (Allan et al. 1990; Maravilla et al. 1998). It has also been demonstrated that tapeworms induce IgG responses in non-suppressed hamsters infected with *T. solium* (Monroy-Ostria et al. 1993) as well as in hamsters infected with *Taenia crassiceps* (Sato et al. 1994). Here, we report the time of appearance of circulating and faecal antigens as well as of specific IgG detected in

G. Avila · M. Benítez · L. Aguilar-Vega · A. Flisser (✉)  
Departamento de Microbiología y Parasitología,  
Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma  
de México, D.F. 04510, México  
E-mail: flisser@servidor.unam.mx  
Tel.: +52-5-6232466  
Fax: +52-5-6232459

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

serum and faeces during experimental *T. solium* infections in golden hamsters.

## Materials and methods

### Experimental animals

Out-bred, adult golden hamsters were maintained in a biosafety breeding room under controlled temperature and humidity and fed with commercial pellets and water ad libitum. They were treated for intestinal parasites with a single dose of 30 mg/kg body weight praziquantel (Merck, Darmstadt, Germany) before experimental infection.

### Parasites and hamster infection

*T. solium* cysticerci were excised from the skeletal muscle of a naturally infected pig. Hamsters were infected per os with four cysticerci. Prior to infection, some cysticerci were assayed for viability by *in vitro* evagination after incubation in RPM1 1640 culture medium (Gibco, Grand Island, N.Y.) with 25% pig bile for 6 h (Correa et al. 1987). There was 91% evagination. After infection, 20 hamsters were suppressed with 2 mg of methyl-prednisolone acetate (MPA) (Depomedrol, Up-John, Mexico) on the day of infection and every 14 days thereafter. Another 20 hamsters were infected and not suppressed while a third group of ten hamsters was used as non-infected controls.

### Biological samples

Serum and faecal samples from each hamster were collected prior to infection and weekly thereafter. Faecal samples were homogenized with an equal weight:volume ratio of 0.01 M phosphate-buffered 0.15 M saline, pH 7.2 (PBS), containing 0.3% Tween 20 (PBS-T), then centrifuged at 8,000 g for 2 min at 4°C. Serum samples and faecal supernatants were stored at -20°C until use.

### Tapeworm recovery and parasite antigens

Animals from the infected groups were necropsied every 21 days. The small intestine was obtained and cut longitudinally in order to collect the tapeworms. Recovered cestodes were used to obtain excretory-secretory (ES) antigens and for parasitological examination. Living tapeworms were washed five times with PBS, then with PBS plus penicillin G (1,000 IU/ml) and streptomycin sulphate (10 mg/ml) and cultured in RPM1 1640 (Gibco) supplemented with the same antibiotics. The culture medium was harvested every 24 h over 5 days and tenfold concentrated by using a high-flow membrane filter (YM-10, Amicon, Beverly, Mass.). The protein concentration was determined using the method of Lowry et al. (1951). Aliquots of *T. solium* ES antigen were prepared and stored at -20°C until use. Some tapeworms were placed in distilled water and stored overnight at 4°C for relaxation. After microscopic observation, scoleces and some proglottids were fixed in 70% alcohol, stained with Mayer's carmine and mounted.

### ELISA for *Taenia* sp. antigen detection

To monitor the development of the infection, the appearance of antigens in faeces was followed by ELISA for coproantigens according to Maravilla et al. (1998). For the determination of *T. solium* antigens in serum, the same ELISA for coproantigens was used, but incubations were performed at 37°C instead of room temperature. Serum samples were diluted 1:3 in PBS-T using *o*-phenylenediamine hydrochloride (OPD, Sigma, St. Louis, Mo.: 4 µg OPD + 4 µl H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in 10 ml 0.1 M citrate buffer, pH 5.0) as

substrate. The enzyme reaction was stopped at 5 min with 50 µl per well 2 N sulphuric acid. Cut-off points were defined as the mean + 3SD of the absorbance values obtained with serum samples from normal animals.

In order to verify the specificity of the ELISA for serum antigens, ES or crude extracts (CE) were prepared from different parasites: *T. solium* cysticercus (Ts cCE), *T. crassiceps* cysticercus (Tc cCE), *Moniezia expansa* adult (Me aES), *Fasciola hepatica* adult (Fh aES), *Trichinella spiralis* L3 (Tsp L3ES, L3CE), *Macracanthorhynchus hirudinaceus* adult (Mh aCE), *Ascaris suum* adult (As aCE), *Haemonchus contortus* adult (Hc aES) and *Toxocara canis* adult (Txc aCE). Each antigen was added to a pool of sera from non-infected hamsters at 25 µg/ml and tested in duplicate in the assay.

### ELISA for antibody detection

In order to detect specific antibodies against tapeworms, an indirect ELISA was carried out using *T. solium* ES antigens. Microtitre plates (Immunolon type 1, Dynatech Laboratories, Chantilly, Va.) were coated overnight in 0.05 M carbonate buffer pH 9.6 with 10 µg/ml of ES antigen to determine the serum IgG and 20 µg/ml to detect IgG coproantibodies. Uncoated sites were blocked with 1% bovine serum albumin in PBS-T for 60 min at room temperature. Incubation of the samples and conjugate was performed for 60 min at 37°C. Before each reagent was added, each well was washed three times with PBS-T and samples were assayed in duplicate wells. The following incubations were used: 50 µl of diluted serum (1:200 in PBS-T) or undiluted faecal supernatant, and 100 µl of 1:2,000 goat anti-hamster IgG horseradish peroxidase-conjugate (KPL, Cessna, Md.). The reaction was developed with OPD substrate (100 µl per well) during 3-7 min in darkness at room temperature and finally the reaction was stopped by adding 50 µl of 2 N sulphuric acid to each well. Absorbance values were recorded in an ELISA reader at 492 nm (BioRad, Roskilde, Denmark). Cut-off points were defined as the mean + 3SD of the optical densities (OD) obtained with serum or faecal samples from normal animals.

### Statistical analysis

The mean absorbance values of all ELISA results obtained before and after infection in all hamster serum and faecal samples were submitted to non-parametric analysis of variance using the Kruskal-Wallis test and the Mann-Whitney U-test. Two tailed *P* values of *P* < 0.05 were considered to be significant (Zar 1989). All data were analysed using the Statistical Analysis System (SAS 1982).

## Results

### Tapeworm recovery

All infected hamsters developed tapeworms as tested by ELISA for *Taenia* sp. coproantigens. The tapeworms collected were all *T. solium*, as demonstrated by the double crown of hooks on the scolex and by the irregular alternation of genital ducts and pores in the proglottids along the strobilium. From both groups of hamsters, immature, mature and four pregravid tapeworms with branched uteri (two from each group) were collected. In suppressed hamsters more animals were infected and more tapeworms were obtained. The recovery rate of worms in MPA-treated hamsters was of 51%, whereas in non-suppressed animals it was 16%. The mortality in suppressed hamsters was 40% during the 1st month of the experiment, no animals from the non-suppressed group died.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## Antigen detection

ELISA was used to follow the course of infection in hamsters with *T. solium* for coproantigens. *T. solium* antigens in faecal samples were detected from the 1st week post-infection (wpi) in both non-suppressed and suppressed hamsters. In non-suppressed hamsters, negative results were obtained from 12 wpi, at which time no tapeworms were recovered. Suppressed hamsters, however, were positive until 17 wpi. By week 18 no hamsters were infected (Fig. 1). Median ODs from the control group showed significant differences from the infected groups of hamsters from the 1st wpi until week 11 as compared to the non-suppressed hamsters, and until week 18 as compared with the suppressed group. Suppressed and non-suppressed animals showed

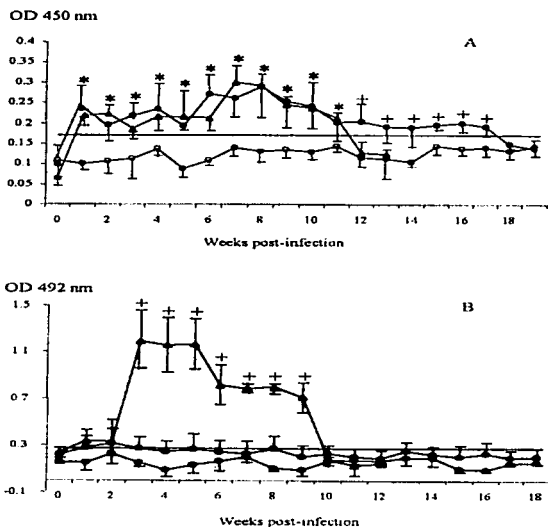


Fig. 1 Kinetics of *Taenia solium* antigens in experimentally infected hamsters detected: A in faecal samples and B in serum samples, in non-suppressed (filled triangles), suppressed (filled circles) and control hamsters (empty circles). Each point in the figure is the average of OD values of duplicate samples of all hamsters that were still alive at the time of measurement (between 10 and 20 animals). SDs are shown with half vertical bars (either upwards or downwards). An asterisk indicates that the bars of immunosuppressed and non-suppressed hosts were statistically different from that of the non-infected group. Plus in A indicates that the immunosuppressed group was statistically different from the control, and in B it corresponds to the non-suppressed group. The cut-off point is shown as a continuous black line

statistically significant differences only at weeks 6, 12 and 13.

The ELISA for circulating antigen detection was standardized for this study. There was no cross-reactivity with the antigens of any of the other parasites used except for *T. crassiceps* (Fig. 2). Antigens of *T. solium* in serum were present only in non-suppressed animals from the 1st wpi and high absorbance values were obtained between 3 and 9 wpi when the last statistically significant, positive result occurred. From 10 wpi there were no statistical differences when compared to the others groups of hamsters. In suppressed hamsters the averages of the samples were negative for *T. solium* antigens except at week 2. Since some samples obtained between 2 and 8 weeks had low positivity, standard deviations were above the cut-off point. No significant differences with control hamsters were obtained (Fig. 1B).

## Antibody detection

The presence of specific IgG antibodies in the serum and faeces of *T. solium* infected hamsters was also investigated during the course of infection. CoproIgG antibodies in non-suppressed hamsters were detected from the 2nd wpi to week 13, when the remaining hamsters were necropsied. The highest OD values were obtained from the 3rd wpi. From this time, there were significant differences with the other groups of hamsters. In suppressed hamsters, IgG antibodies were occasionally detected during the first 10 wpi. After this time, immunosuppression was stopped. IgG antibodies appeared at 13 wpi and increased thereafter (Fig. 3A).

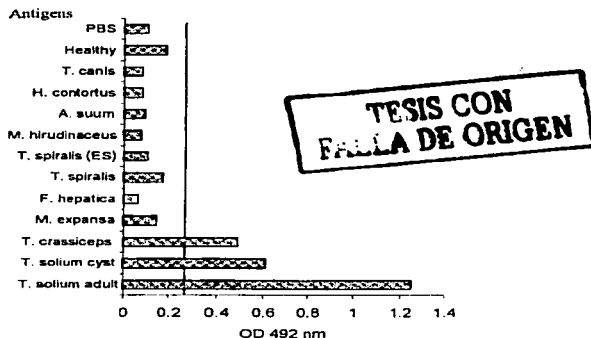


Fig. 2 Specificity of ELISA for the detection of circulating antigens from *T. solium*. All antigens obtained from different parasites, either from adults or larvae were crude extracts with one exception that was excretion and secretion (ES). The cut-off point is shown as a continuous black line

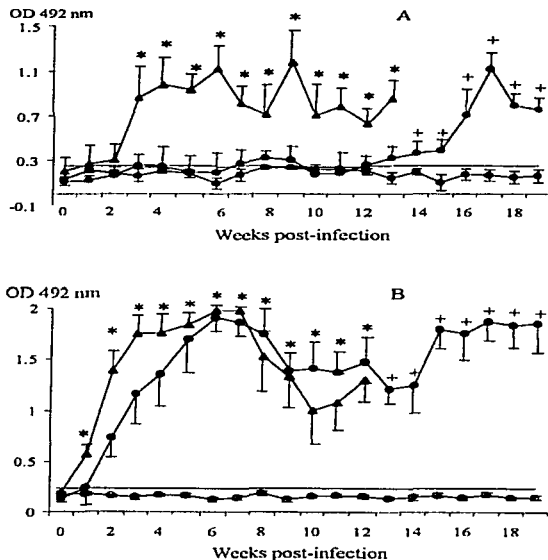


Fig. 3 Kinetics of IgG antibodies in hamsters experimentally infected with *T. solium* adults in: A faecal supernatants and B serum in non-suppressed (filled triangles), suppressed (filled circles) and control hamsters (empty circles). OD values and statistics were processed and presented as in Fig. 1. The cut-off point is shown as a continuous black line

Statistical differences were observed with the control group from week 14 until the end of the study.

Circulating IgG antibodies were detected from the 1st wpi in both groups of hamsters and antibodies increased up to week 7, remaining positive until the end of the experiment (Fig. 3B). There were no statistical differences between suppressed and non-suppressed groups except for the 1st, 3rd and 4th wpi.

## Discussion

This study outlines the course of infection following oral administration of *T. solium* metacystodes to golden hamsters and the kinetics of antigens and antibodies in faeces and serum. The information obtained might be applicable to the understanding of the host-parasite relationship in human-*T. solium* intestinal infections.

The establishment and growth of *T. solium* in hamsters (Verster 1971; Maravilla et al. 1998) and the

usefulness of a coproantigen assay to follow up experimental cestode infections (Allan and Craig 1989; Allan et al. 1990; Maravilla et al. 1998; Deplazes et al. 1999) have been demonstrated previously. In this study positivity was obtained in the ELISA for coproantigens when the animals were infected. Once the hamsters lost the infection, negative results were obtained, similar to those observed after the effective treatment of rats infected with *Hymenolepis diminuta* (Allan and Craig 1989) and in dogs and cats with *Echinococcus multilocularis* (Deplazes et al. 1999). Infection was lost at 11 wpi in non-suppressed hamsters and at 18 wpi in suppressed ones. In order to confirm that hamsters lost the tapeworms, necropsies were carried out on the remaining hosts at 13 and 19 wpi in non-suppressed and suppressed hamsters respectively. No parasites were found. Our findings are similar to those of previous studies which show that the suppression of hamsters with steroids allows longer tapeworm infections (Verster 1971; Maravilla et al. 1998).

The high specificity of the *T. solium* coproantigen ELISA was previously demonstrated, with the only cross-reactions found in patients infected with *Taenia saginata* (Allan et al. 1990). In addition, a high specificity of ELISA for circulating antigen detection was obtained in the present study, when a wide spectrum of antigens from cestodes or other helminths were used as controls. A positive reaction was observed with *T. crassiceps*. This species has a great antigenic similarity with *T. solium* (Larralde et al. 1989). There is no information regarding *T. solium* circulating antigens in natural tapeworm infections and this is the first report of the presence of parasite antigens in the serum of non-suppressed hamsters detected from the beginning of the infection with higher absorbance values from the 3rd to the 9th wpi. The presence of circulating antigens in natural helminth infections such as human neurocysticercosis, schistosomiasis, fasciolosis and trichinellosis has been demonstrated (De Jonge et al. 1989; Ivanoska et al. 1989; Espino et al. 1990; Correa et al. 1999). Circulating and faecal antigens are present in sheep with an experimental *Fasciola hepatica* infection, but circulating antigens were detected as early as the 1st wpi and coproantigens only later, probably due to the hepatic location of this trematode (Almazan et al. 2001). In contrast, non-suppressed hamsters had *T. solium* coproantigens from week 1 to 11 wpi, while circulating antigens were detected from 3 to 9 wpi. As in fasciolosis, the differences among compartments may be due to the intestinal localization of *T. solium*. Furthermore, tapeworms secrete antigens that could cross the intestinal mucosa and reach the circulation due to local inflammation (Monroy-Ostria et al. 1993; Merchant et al. 1998). This phenomenon probably generates a systemic humoral immune response. In suppressed hamsters, no circulating *T. solium* antigens were detected and the presence of steroids suppressed the inflammatory response; thus there was no access for tapeworm antigens into the circulation.

TESIS CON  
BOLLA DE ORIGEN

Although there is little information regarding the serum antibody response in adult taenid infections, dogs infected with *Echinococcus granulosus* or with *Taenia ovis* produce antibodies (Heath et al. 1985; Jenkins and Rickard 1986; Kinder et al. 1992). The presence of specific serum IgG and salivary IgA reflects the infection status of *Taenia plisiformis* in dogs (Kinder et al. 1992). IgG serum antibodies in *T. solium* tapeworm carriers are of diagnostic use and recognize two SE proteins of the tapeworm (Wilkins et al. 1999). IgG antibodies are detected in the serum of non-suppressed hamsters infected with *T. solium* (Monroy-Ostria et al. 1993) and in suppressed and non-suppressed hamsters infected with *T. crassiceps* (Sato et al. 1984). In the present study circulating specific IgG was detected in non-suppressed and also in suppressed hamsters harbouring intestinal *T. solium*, in spite of the fact that local inflammation was reduced due to steroids (Parente and Mugridge 1993). On the other hand, although there is scanty production of IgG in the gut, this antibody can be liberated by diffusion through the mucosa (Brandtzaeg et al. 1999), and when there is inflammation, an increase of IgG in the gut can be seen (Walker and Isserbalcher 1977). Thus the intestinal IgG in non-suppressed hamsters detected in the present study may be due to local inflammation induced by the tapeworms (Monroy-Ostria et al. 1993).

This study shows that it is possible to analyse, in a comprehensive way, the presence of *T. solium* antigens in the circulation and in faecal supernatants and the presence of specific IgG antibodies in the serum and faeces of experimentally infected hamsters. Our findings can be extrapolated to natural infections in definitive hosts, since it has been shown that coproantigens and serum antibodies can be detected in human carriers (Allan et al. 1990; Wilkins et al. 1999); thus circulating *T. solium* antigens and coproantibodies can also probably be found. Nevertheless since the ELISA standardized in the present study gave positive results with antigens from *T. solium* cysticerci, positive results might be found if it is used in patients with neurocysticercosis without taeniosis.

**Acknowledgements** All experiments performed with animals comply with the current laws of management of experimental animals in Mexico. This study was partially funded by the following grants: CONACYT P-28094, DGAPA IN209994 and PUIS/UNAM.

## References

- Allan J, Craig PS (1989) Coproantigens in gut tapeworm infections: *Hymenolepis diminuta* in rats. *Parasitol Res* 76:68-73
- Allan J, Avila G, Garcia Noval J, Flisser A, Craig PS (1990) Immunodiagnosis of taeniosis by coproantigen detection. *Parasitology* 101:473-477
- Almazan C, Avila G, Quiroz H, Ibarra F, Ochoa P (2001) Effect of parasitic burden on the detection of *Fasciola hepatica* antigens in sera and faeces of experimentally infected sheep. *Vet Parasitol* 97:101-112
- Brandtzaeg P, Baekkevold ES, Farstad IN, Jahnsen FL, Johansen FE, Nilsen EM, Yamanaka T (1999) Regional specialization in the mucosal immune system: what happens in the microcompartments. *Immunol Today* 20:141-151
- Correa D, Lucette JP, Rodriguez-del Rosal E, Merchant M, Flisser A (1987) Heterogeneity of *Taenia solium* cysticerci obtained from different naturally infected pigs. *Parasitology* 73:443-445
- Correa D, Sarti E, Tapia-Romero R, Rico R, Alcantara-Anguiano I, Salgado A, Valdez L, Flisser A (1999) Antigens and antibodies in sera from human cases of epilepsy or taeniosis from an area of Mexico where *Taenia solium* cysticercosis is endemic. *J Trop Med Parasitol* 33:69-74
- De Jonge N, Filie YE, Hiberath G, Krijger FW, Lengeler C, De Steyn DH, Van Vliet NG, Deeler AM (1989) Presence of the schistosome circulating anodic antigen (CAA) in urine of patients with *Schistosoma mansoni* or *S. haematobium* infections. *Am J Trop Med Hyg* 41:563-569
- Deplazes P, Alther P, Tanner I, Thompson RCA, Eckert J (1999) *Echinococcus multilocularis* coproantigen detection by enzyme-linked immunosorbent assay in fox, dog and cat populations. *J Parasitol* 85:115-121
- Espino AM, Marset R, Finlay C (1990) Detection of circulating excretory-secretory antigens in human fascioliasis by sandwich enzyme-linked immunosorbent assay. *J Clin Microbiol* 28:2637-2640
- Flisser A. (1994) Taeniosis and cysticercosis due to *T. solium*. In: Sun T (ed) Progress in clinical parasitology. CRC, New York, pp 77-116
- Gnezdilov VG (1957) The golden hamster (*Mesocricetus auratus* Waterhouse) as potential definitive host of tapeworm *Taenia solium*. *Zoologicheski Zh* 36:170-173
- Heath DD, Lawrence SB, Glennie A, Twaalfhoven H (1985) The use of ES antigens of the scolex of *Taenia ovis* for the serodiagnosis of infection in dogs. *J Parasitol* 71:92-199
- Ivanoska D, Cuperiovic K, Gamble HR, Murrell KD (1989) comparative efficacy of antigen and antibody detection tests for human trichinellosis. *J Parasitol* 75:38-41
- Jenkins DJ, Rickard MD (1986) Specific antibody responses in dogs experimentally infected with *Echinococcus granulosus*. *Am J Trop Med Hyg* 35:345-349
- Kinder A, Carter SD, Allan J, Marshall-Clarke S, Craig PS (1992) Salivary and serum antibodies in experimental canine taeniosis. *Vet Parasitol* 41:321-327
- Larralde C, Montoya RM, Sciutto E, Diaz ML, Govezensky T, Cortori E (1989) Deciphering western blots of tapeworm antigens (*Taenia solium*, *Echinococcus granulosus*, *Taenia crassiceps*) reacting with sera from neurocysticercosis and hydatid disease patients. *Am J Trop Med Hyg* 40:282-290
- Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr LA, Randall LJ (1951) Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193:265-275
- Maravilla P, Avila G, Cabrera V, Aguilar L, Flisser A (1998) Comparative development of *Taenia solium* in experimental models. *J Parasitol* 84:882-886
- Merchant MT, Aguilar L, Avila G, Robert L, Flisser A, Willms K (1998) *Taenia solium*: description of the intestinal implantation sites in experimental hamster infections. *J Parasitol* 84:681-685
- Monroy-Ostria A, Monroy-Ostria TJ, Gomez G, Hernandez MO (1993) Some studies on the experimental infection of golden hamsters with *Taenia solium*. *Rev Lat Am Microbiol* 35:91-98
- Parente L, Mugridge KG (1993) Glucocorticoids and gastrointestinal inflammation. In: Wallace JL (ed) Immunopharmacology of the gastrointestinal system. Academic Press, New York, pp 169-179
- Sato, H, Kamiya H, Oku Y, Kamiya M (1994) Infection course of the strobilar stage of *Taenia crassiceps* in golden hamsters, with reference to host response. *Parasitol Res* 80:99-103
- Schantz P M, Moore AC, Munoz JL, Hartman BJ, Schaefer JA, Aron AM (1982) Neurocysticercosis in an orthodox Jewish community in New York City. *N Engl J Med* 327:692-695
- Statistical Analysis System (1982) SAS user guide: statistics. SAS Institute, Cary



Verster A (1971) Preliminary report on the golden hamster as a definitive host of *Taenia solium* Linnaeus, 1758 in golden hamsters. *Indian J Anim Sci* 62:48-49

Walker WA, Isserbalcher KJ (1977) Intestinal antibodies. *Physiol Med* 27:767-773

Wilkins P, Allan JC, Verastegui M, Acosta M, Eason AG, Garcia H, Gonzalez AE, Gilman RH, Tsang V (1999) Development of

a serologic assay to detect *Taenia solium* taeniasis. *Am J Trop Med Hyg* 60:199-204

Zar JH (1989) *Biostatistical Analysis*. Prentice Hall, Englewood Cliffs

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN