



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

*Valoración del estado físico del Hámster
dorado (Mesocricetus auratus) en el modelo
experimental de Teniosis debida a Taenia solium.*

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
BIÓLOGO

P R E S E N T A :
DIEGO EMILIANO JIMÉNEZ GONZÁLEZ.



FACULTAD DE CIENCIAS
UNAM

Tutor (a): DR. JOSÉ PABLO MARAVILLA CAMPILLO

2007



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.

FACULTAD DE CIENCIAS

División de Estudios Profesionales



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

ACT. MAURICIO AGUILAR GONZÁLEZ
Jefe de la División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Ciencias
Presente

Por este medio hacemos de su conocimiento que hemos revisado el trabajo escrito titulado:
“Valoración del estado físico del Hámster dorado (*Mesocricetus auratus*) en el modelo experimental de Teniosis debida a *Taenia solium*”.

realizado por **Diego Emiliano Jiménez González**
con número de cuenta **09820567-3**, quien cubrió los créditos de la licenciatura en
Biología.

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Tutor (a) Propietario **Dr. José Pablo Maravilla Campillo.**

Propietario **Dra. Ana Flisser Steinbruch.**

Propietario **Dra. Guillermina Ávila Ramírez.**

Suplente **M. en C. Rigoberto Hernández Castro.**

Suplente **M.V.Z. Ramón García Cortés.**

Atentamente
“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”
Ciudad Universitaria, D.F., a 8 de diciembre
CONSEJO DEPARTAMENTAL DE BIOLOGIA

del 2006.

Dr. Zenón Cano Santana.

FACULTAD DE CIENCIAS



UNIDAD DE ENSEÑANZA
DE BIOLOGIA

ESTA TESIS FUE REALIZADA BAJO EL APOYO DE:
EL SISTEMA NACIONAL DE INVESTIGADORES.

Agradecimientos:
A mis padres.
Por su apoyo y comprensión.

A mis hermanos.
Por su cariño, porque se,
que siempre nos apoyáremos.

A mis familiares y amigos.
Por sus consejos y paciencia.

Agradezco a todas las personas que me han permitido compartir estos años de mi vida, les doy gracias por su amistad y consejo, por haberme guiado y acompañado en esta oportunidad de superarme, que con ánimo, ejemplo y criticas me han hecho crecer.

ÍNDICE

	página
RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
Morfología de <i>T. solium</i>	3
Ciclo de Vida	7
ANTECEDENTES	9
Modelo experimental de teniosis por <i>T. solium</i> en el hámster dorado	9
El hámster dorado, generalidades y su manejo en el laboratorio	13
Generalidades sobre el acetato de metil prednisolona, micofenolato de mofetilo y metotrexato sódico	17
JUSTIFICACIÓN	21
HIPÓTESIS	21
OBJETIVOS	22
MATERIAL Y MÉTODOS	23
Diseño experimental	23
Los animales y su alojamiento	23
Obtención y evaginación de cisticercos de <i>Taenia solium</i>	24
Infección de hámsteres e inmunodepresión	25
Medición de parámetros físicos de los hámsteres durante la infección	25
Necropsia de los hámsteres, recuperación y medición de las tenias adultas y elaboración de preparaciones fijas	27

RESULTADOS	29
Viabilidad de los cisticercos y eficiencia de la infección	29
Ejemplares de <i>T. solium</i> recuperados	29
Evaginación de cisticercos <i>in vitro</i> en micofenolato de mofetilo y metotrexato	30
Seguimiento del estado físico de los animales inmunodeprimidos con micofenolato de mofetilo	31
Seguimiento del estado físico de los animales inmunodeprimidos con metotrexato	33
Seguimiento del estado físico de los animales inmunodeprimidos con acetato de metil prednisolona	36
Análisis comparativo y retrospectivo sobre la eficiencia de la infección y longitud de las tenias recuperadas en el modelo de teniosis experimental en el hámster dorado	38
Decaimiento físico de los hámsteres inmunodeprimidos con acetato de metil prednisolona en el modelo experimental de teniosis	40
DISCUSIÓN	42
CONCLUSIONES	47
ANEXOS	48
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	51

RESUMEN

Desde los años setentas se han desarrollado modelos experimentales en los que se emplean a roedores como hospederos de *Taenia solium*, en este tiempo se ha logrado la obtención de tenias maduras en hámsteres, así como tenias grávidas en chinchillas. Asimismo, se ha observado que el uso de inmunodepresores tipo esteroideos incrementan la carga parasitaria y el desarrollo de los gusanos en sus hospederos experimentales, en este sentido, se ha optimizado el uso y dosificación del acetato de metil prednisolona para una mayor recuperación y desarrollo de tenias; sin embargo, el empleo de este inmunodepresor en los hámsteres infectados ocasiona la presencia de infecciones recurrentes, un síndrome de desgaste físico e incluso su muerte durante la infección.

El objetivo de este trabajo fue probar el efecto de los inmunodepresores no esteroideos metotrexato (MTX) (Ledertrexate, Wyeth, México) y micofenolato de mofetilo (MMF) (Cell cept, Roche, México) en el modelo de teniosis por *Taenia solium* en el hámster dorado, utilizando acetato de metil prednisolona (AMP) (Depo-medrol, UpJhon, México) como inmunodepresor en el grupo control. Además se recabaron datos sobre el estado físico de los hospederos durante la infección e inmunodepresión y evaluar el deterioro en el estado general de salud de los hospederos.

Se utilizaron 13 hámsteres hembras de 25 semanas de edad, las cuales fueron desparasitadas con prazicuantel (30 mg/kg de peso) (Cesol, Merk, México) y albendazol (20 mg/kg de peso) (Vermin-plus, Streger, México) y se identificaron de manera individual mediante un código estándar de muesqueo en las orejas. Los animales se dividieron en tres grupos, uno para cada inmunodepresor y cada uno de los hámsteres fue infectado con tres cisticercos de *T. solium*, por vía oral. El primer grupo contó con cuatro individuos, inmunodeprimidos cada 14 días con 2mg de AMP por 100 gr de peso, por vía intramuscular. El segundo grupo con cinco hámsteres que se inmunodeprimieron cada 7 días, con una dosis de 2 mg de MTX por cada 100 gr de peso por vía oral, el tercer grupo con cuatro hámsteres que se inmunodeprimieron cada 7 días, con una dosis de 200 mg de MMF por cada 100 gr de peso, por vía oral. Se realizó un seguimiento físico semanal de cada hámster con base en un cuadro de parámetros conductuales y físicos con valores de 0 a 3 y se estableció un límite total de 12 puntos que representó una condición crítica, marcando el punto de sacrificio humanitario para los hámsteres y acabar con su sufrimiento. El experimento concluyó con la necropsia de los animales a las 7 semanas post infección y se realizó la identificación de las tenias recuperadas. Asimismo, se evaluó la evaginación *in vitro* de cisticercos de *T. solium*, en presencia de MMF y MTX, determinándose el porcentaje de evaginación con respecto a cisticercos que evaginaron solamente en medio de cultivo con bilis. Se realizó un análisis pareado y bivariado de los datos físicos obtenidos de los roedores.

A la necropsia de los animales inmunodeprimidos con MTX y MMF no se encontraron tenias, por lo que su eficiencia de infección fue igual a cero; ningún animal de estos grupos se acercó al punto crítico y no se observó un decaimiento físico significativo en la salud de estos hámsteres durante el seguimiento. De el grupo al que se administró AMP se obtuvieron ocho tenias en total, de 28.5 a 39 cm; sin embargo, algunos hámsteres de este grupo alcanzaron hasta 11 puntos durante su seguimiento en el cuadro de desgaste físico. A la necropsia se encontró que el 100% de los hámsteres de este grupo se infectó, aunque la eficiencia de la infección fue de 66.6%. Se realizó la modelación matemática del desarrollo de las tenias y del decaimiento físico del hospedero experimental y se encontró que la duración de la infección en los hámsteres puede ser mantenida hasta las ocho semanas post infección sin perder la infección y manteniéndose los animales por debajo de los 12 puntos que refiere un sufrimiento moderado. En cuanto a la evaginación *in vitro*, se observó que sin inmunodepresor fue del 100%, en presencia de MTX esta fue del 40 % y en presencia de MMF el 50 % de los cisticercos evaginaron, por lo que se sugiere que se prueben otras vías de administración no orales con distintas dosis de inmunodepresión de estos fármacos. Así como otros fármacos que presenten menores efectos secundarios en los hospederos.

INTRODUCCIÓN

El término teniosis designa al parasitismo causado por céstodos adultos del género *Taenia*, siendo la especie de mayor importancia médica *Taenia solium*, parásito que infecta al humano y al cerdo en su ciclo biológico.

T. solium pertenece al grupo de los platelmintos que son gusanos planos con cuerpo blando y en forma de cinta o listón. Son organismos triblásticos, acelomados con simetría bilateral y pseudometaméricos (Brusca y Brusca, 1990), su excreción es protonefridial y tienen un sistema nervioso ganglionar (Gardiner, 1978), este parásito corresponde a la clase Cestoidea, que incluye organismos con un cuerpo generalmente multisegmentado, con aparato reproductor hermafrodita en cada proglotido y con un aparato fijador, denominado escólex, en el extremo anterior, es un endoparásito intestinal en su etapa adulta (Cheng, 1978).

La clasificación taxonómica de *T. solium* (Brusca y Brusca, 1990) es la siguiente:

Reino: Animalia

Phylum: Platyhelminthes

Clase: Cestoidea

Sub-clase: Eucestoda

Orden: Cyclophyllidae

Familia: Taeniidae

Genero: *Taenia*

Especie: *Taenia solium* (Linnaeus, 1758)

Morfología

Taenia solium presenta tres estadios: el huevo, la larva ó metacéstodo y el adulto ó tenia, siendo el huevo el único estadio de vida libre del parásito. *T. solium* en su estadio adulto se muestra como un gusano plano de color blanquecino, habita en el intestino delgado del ser humano donde se encuentra anclado a la pared intestinal mediante un órgano de fijación llamado escólex, el cual es piriforme, formado por cuatro ventosas, un rostelo con 22-32 ganchos dispuestos alternadamente formando dos coronas, la interna constituida por ganchos largos de 160-180 μm y la externa por ganchos cortos de 110-140 μm (Cheng, 1978; Flisser *et al.*, 2004). Al órgano de fijación le continúa el cuello, que es la porción germinal de la cual se forman los segmentos llamados proglótidos, que en su conjunto constituyen el estróbilo. Los proglótidos más cercanos al cuello son inmaduros, les continúan los maduros, que presentan órganos reproductores femenino y masculino bien desarrollados, los cuales le otorgan la característica de hermafrodita a este organismo, los proglótidos más distales al escólex son los grávidos, estos presentan ramas uterinas arboriformes llenas de huevos, cada proglótido llega a medir entre cinco y seis milímetros de ancho por siete a 12 milímetros de largo y contiene cada proglótido grávido entre 50,000 y 60,000 huevos. El estróbilo puede tener más de 1000 proglótidos y medir de dos a cuatro metros (Davidsohn, 1978; Flisser *et al.*, 1997; Flisser *et al.*, 2004) (figuras 1A y 1B).

Este parásito carece de aparato digestivo, en su lugar posee una superficie externa más o menos transparente de gran importancia fisiológica denominado tegumento, el cual esta cubierto de extensiones citoplásmicas, conocidas como microtricas que amplifican el área superficial del gusano (Smyth y McManus, 1989), tal y como lo hacen las microvellosidades intestinales en los seres humanos.

El sistema excretor es protonefridial, recorre el estróbilo en cuatro canales colectores principales, dos ventrales que transportan los líquidos lejos del escólex y dos dorsales que lo hacen en dirección contraria. Existe un canal transversal que conecta los dos canales ventrales en el extremo posterior de cada proglótido, los cuatro canales tienen ramificaciones y en el extremo libre de estos existen células en flama que colectan los líquidos (Gardiner, 1978; Smyth y McManus, 1989).

El sistema nervioso está constituido por un complejo de ganglios situados en el escólex, de ahí dos grandes troncos nerviosos se extienden por todo el estróbilo. Las fibras nerviosas se presentan a lo largo de los proglótidos con conexiones laterales la serotonina y la L-acetilcolina, son algunos de los neuropéptidos de importancia en la transmisión de estímulos en los tenidos (Smyth y McManus, 1989; Flisser *et al.*, 1997).

Los órganos reproductores femeninos y masculinos están presentes en cada proglótido maduro. El aparato reproductor masculino está formado por numerosos testículos (150-200) dispersos en todo el proglótido, de cada testículo surge un vaso eferente, los cuales se unen formando un vaso deferente contorneado ó conducto espermático, éste conducto se ensancha para formar la vesícula seminal que almacena espermatozoides, de la que se continúa una estructura llamada cirro, que es el órgano copulador masculino, el cual se encuentra encerrado en el interior de un saco llamado bolsa del cirro (Flisser *et al.*, 2004). El cirro desemboca en una abertura a un costado del proglótido en el atrio genital, este se abre en un poro cuya disposición marginal es irregularmente alternada a lo largo del estróbilo (Flisser, 1994).

El aparato reproductor femenino esta constituido por un ovario formado por dos lóbulos grandes simétricos y uno pequeño, se encuentran situados en el tercio posterior del proglótido, a un lado del poro genital, sobre la porción inferior de los vasos deferentes, del que parte un oviducto que se dirige a una pequeña cámara llamada ootipo (Flisser *et al.*, 1997). Otras

estructuras que se conectan al ootipo son: la glándula de Mehlis, que es un conjunto de células mucosas que forman un complejo amorfo que lo rodea, el conducto vitelino común, que resulta de la unión de muchos conductos vitelinos primarios que proceden de las glándulas vitelinas y el conducto del receptáculo seminal, este último es una porción ensanchada del tubo vaginal que suele abrirse al atrio genital común (Flisser *et al.*, 2004). El útero es un órgano ciego ramificado que se origina de la cara anterior del ootipo, tiene una región central a lo largo del proglótido de la que salen de siete a trece ramas laterales a ambos lados y que se ramifican una o dos veces (García *et al.*, 2003; Flisser *et al.*, 2004). No se conoce el proceso de inseminación, si existe un sistema endocrino que controle la actividad reproductora y tampoco si la cópula ocurre dentro del mismo proglótido, entre dos proglótidos diferentes del mismo céstodo o incluso entre diferentes organismos.

Los huevos de la tenia son esféricos, miden entre 30 y 45 μm (figura 1C), presentan tres membranas; el vitelo, el embrióforo y la membrana oncosferal. El vitelo es característico de huevos inmaduros, constituye una membrana que los provee de nutrientes. El embrióforo es una cubierta de bloques embriofóricos unidos entre sí por una proteína cementante que le da al huevo una apariencia física radiada. La membrana oncosferal recubre al embrión hexacanto, el cual se llama así por presentar tres pares de ganchos (Smyth y McManus, 1989; Flisser *et al.*, 1997; Sciutto *et al.*, 2000).

La larva, metacéstodo ó cisticerco es una vesícula ovoide ó esférica, blanquecina, semitransparente y tiene un escólex esférico invaginado (Flisser *et al.*, 1997). La superficie interna es irregular, contiene células y fibras de colágena. El escólex invaginado forma el canal espiral, que es un conducto cuya pared se encuentra plegada y en su parte final se encuentran las ventosas y el rostelo (Rabiela *et al.*, 2000).

Los cisticercos pueden ser de forma celulosa, donde se aprecian como vesículas esféricas de 0.5 a 1.5 cm, con una pared translúcida, a través de la cual se puede observar el escólex como un gránulo sólido excéntrico (figura 1D), ó de forma racemosa, como una vesícula grande redondeada ó lobulada (como un racimo de uvas) y que llega a medir hasta 20 cm. La forma más frecuente en el cerebro humano es la celulosa, aunque en 9 a 13% de los casos de cisticercosis se ha observado que ambos tipos de cisticercos coexisten en un mismo cerebro (Flisser *et al.*, 1997). Los cisticercos vesiculares en el tejido son viables y pueden desencadenar cambios inflamatorios mínimos en los tejidos adyacentes, en cambio al morir la reacción inflamatoria es grande y estos se calcifican (Flisser *et al.*, 1997; Aluja y Vargas, 1988).

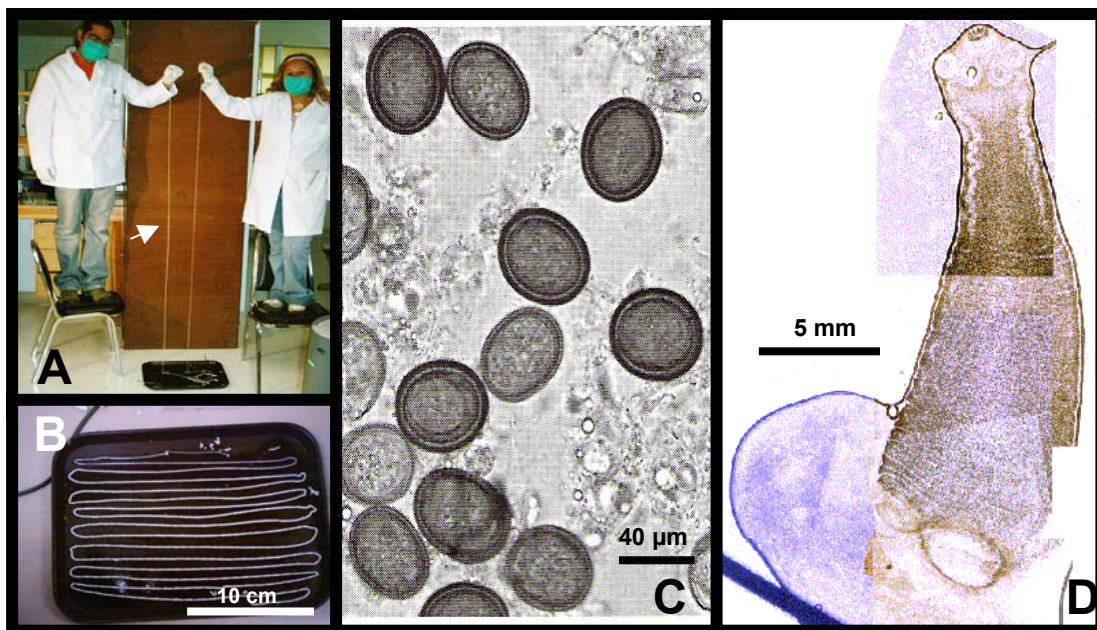


Figura 1. A: la flecha señala un ejemplar adulto de *Taenia* obtenido después de la desparasitación de un paciente. B: acercamiento de la misma tenia, el análisis morfométrico de proglótidos reveló la especie *T. saginata*. C: Preparación en fresco de huevos de *Taenia*. D: Preparación fija de un cisticercos evaginado de *T. solium*.

Ciclo de vida

El ser humano es el único hospedero definitivo de *Taenia solium* pues alberga la forma adulta, el cerdo es el hospedero intermediario principal, ya que aloja la forma larvaria. El hombre puede ser hospedero intermediario accidental y hospedar la forma larvaria, presentándose entonces la cisticercosis humana (Flisser *et al.*, 2004; García *et al.*, 2003).

En las heces del individuo parasitado con la forma adulta, se liberan los huevos de la tenia, estos libres del proglotido ó aún contenidos dentro de ellos son ingeridos por los cerdos, una vez adentro en el aparato digestivo de los cerdos, por la acción de los jugos digestivos (acción de enzimas y sales biliares del tracto digestivo) se separan los bloques embriofóricos y eclosiona la oncosfera, la cual se activa al entrar en contacto con el contenido duodenal. Al activarse los embriones hexacantos se adhieren a la mucosa intestinal mediante sus tres pares de ganchos y liberan enzimas hidrolíticas que destruyen el tejido y penetran en la pared intestinal hasta alcanzar los vasos sanguíneos y linfáticos, donde son transportados a diversos órganos y tejidos, su principal localización es en músculos y en el sistema nervioso central y al cabo de ocho a diez semanas se desarrollan completamente en cisticerco (Flisser, 1994; García *et al.*, 2003). El ser humano desarrolla la forma adulta de la tenia (teniosis) al ingerir carne porcina infectada con cisticercos vesiculares, la cual si esta insuficientemente cocida aloja a cisticercos viables. Al ingerir carne con cisticercos, estos llegan al estómago, posteriormente pasan al intestino delgado, donde por acción de los jugos gástricos y biliares, el escólex evagina y se fija en el primer tercio de la pared del intestino delgado mediante su rostelo y sus cuatro ventosas, una vez fijado el cisticerco comienza su desarrollo, hasta convertirse en una tenia adulta en un lapso de 3 a 4 meses (figura 2) (Flisser, 1994, Flisser *et al.*, 1997; García *et al.*, 2003).

El ser humano puede actuar como hospedero intermediario accidental, al ingerir alimentos contaminados con huevos de *T. solium* ó mediante el sistema ano-mano-boca; los huevos se

desarrollan en cisticercos en el ser humano como en el cerdo y se produce la cisticercosis humana, la cual en la mayoría de los casos de América Latina se presenta como neurocisticercosis, mientras que en los países asiáticos, la forma más común es la cisticercosis muscular (Flisser *et al.*, 1997; Engels *et al.*, 2003).

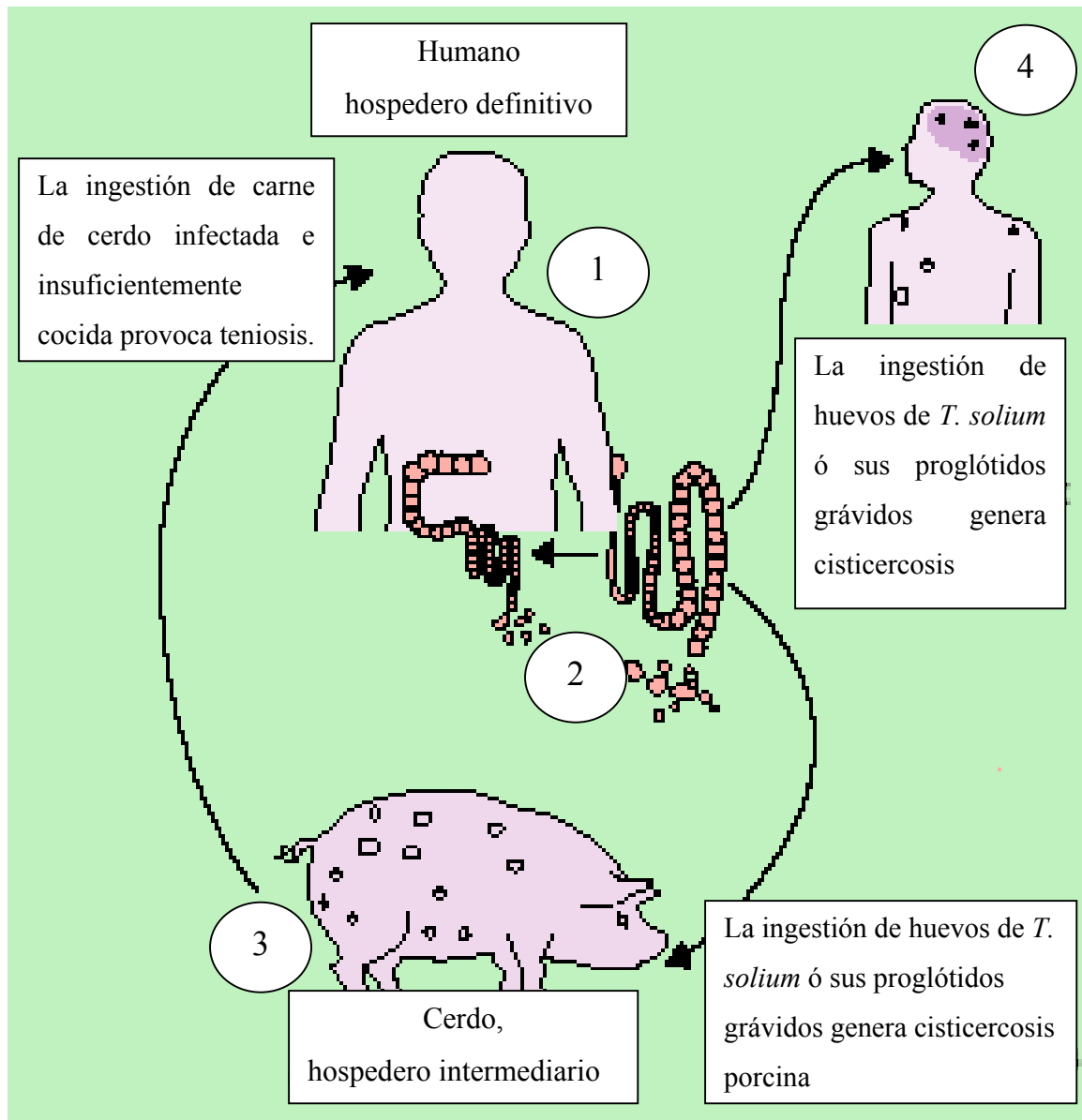


Figura 2. El ser humano es el hospedero definitivo del estadio adulto de *T. solium* (1), los proglótidos grávidos salen por medio de las heces al ambiente (2), en donde el hospedero intermediario natural, que es el cerdo, ingiere los huevos de *T. solium* y desarrolla la cisticercosis (3). Cuando el ser humano come carne cruda o mal cocida adquiere la teniosis y así continúa el ciclo. El ser humano desarrolla cisticercosis cuando ingiere accidentalmente los huevos de *T. solium*. (4)

ANTECEDENTES

Modelo experimental de teniosis por *T. solium* en el hámster dorado

El conocimiento de *T. solium* sobre los mecanismos de expulsión y permanencia de la tenia adulta y de la relación hospedero-parásito, así como distintos aspectos moleculares de la teniosis son escasos, ya que el ser humano es el único hospedero definitivo de la tenia. Esto ha conducido a desarrollar estudios enfocados a reproducir el estadio adulto de *T. solium* en diferentes animales de laboratorio infectados experimentalmente con metacéstodos de *Taenia*, con resultados muy variables (Maravilla *et al.*, 1998).

Para lograr establecer céstodos en los modelos experimentales se han empleado corticosteroides, ya que hacen susceptibles a los hospederos no naturales (en este caso a los roedores), incrementando la carga parasitaria, tal es el caso de: *T. solium* en hámster dorado (Verster, 1971; Ávila, 1992; Aguilar, 1995; Maravilla *et al.*, 1998), *T. crassiceps* en hámster dorado (Sato y Kamiya, 1989), *E. multilocularis* en hámster dorado (Sato y Kamiya, 1990a), *T. crassiceps* en gerbo mongol (Sato y Kamiya, 1990b), *T. crassiceps* en hámster dorado (Kitaoka *et al.*, 1990) y chinchilla en *T. solium* (Maravilla *et al.*, 1998). Sin embargo, debido a la administración periódica de los corticosteroides, los roedores desarrollan infecciones secundarias por microorganismos oportunistas y presentan un marcado detrimento en su estado general de salud, desarrollando un síndrome tipo Cushing, siendo que en diversos estudios, los animales sufren un deterioro físico y mueren antes de concluir el estudio (Verster, 1971, 1974; Garza, 2001; Avila *et al.*, 2002). Por lo tanto, la muerte temprana del hospedero experimental es una limitante en el desarrollo de los modelos experimentales, pues disminuye la obtención de material biológico de interés y la calidad de la experimentación.

En 1971 Verster estableció el modelo de teniosis en el hámster dorado y evaluó diversos inmunodepresores y diferentes dosis de estos. Para aumentar la susceptibilidad del hámster a la infección por *T. solium*, Verster inmunodeprimió hámsteres con diez y cinco miligramos de acetato de metil-prednisolona (AMP) semanalmente y los infectó por vía oral con tres a cuatro cisticercos y recuperó entre 74 % y 80 % de tenias respectivamente. Los parásitos recuperados presentaron proglótidos maduros pero el tratamiento con el esteroide favoreció infecciones secundarias, los animales tratados con diez miligramos de AMP comenzaron a morir a partir de los ocho días post infección (DPI) y no sobrevivieron más de 35 días. En un estudio posterior, en el que se repitieron los ensayos con dosis de cinco miligramos, el periodo de vida de los animales fue mayor, aunque el desarrollo de las tenias fue menor en comparación con el obtenido con dosis de diez miligramos de AMP (Verster, 1974). En este ensayo también se probó otro inmunodepresor, la azatropina, la que favoreció un 100 % de eficiencia de la infección, sin embargo a los 10 DPI, todos los hámsteres murieron.

Posteriormente, Pathak y Gaur en 1985 utilizaron el modelo del hámster dorado con distintos inmunodepresores: la ciclofosfamida (300 mg/kg de peso), maleato de mepramina (75 mg/kg de peso) y prednisolona (75 mg/kg de peso). La necropsia de los animales se realizó a los 7, 15, 25 y 30 DPI y se observó que del grupo inmunodeprimido con prednisolona se recuperó el mayor porcentaje de tenias.

Allan y colaboradores en 1991 infectaron hámsteres y obtuvieron parásitos de 30 a 60 cm con los órganos reproductores completamente desarrollados. Los primordios genitales fueron aparentes a los 15 DPI y a los 19 DPI el poro genital ya estaba presente, al día 42 de la infección obtuvieron tenias con proglótidos maduros y útero sin ramificar, en el día 59 de la infección los parásitos presentaban útero ramificado y algunos huevos en formación, a los 75 DPI tres tenias presentaron un estadio de desarrollo similar pero no se obtuvieron huevos.

Ávila en 1992 empleó hámsteres machos y hembras de 7 a 38 semanas de edad infectados por vía oral con 8 cisticercos de *T. solium* obtenidos de diferentes cerdos que tuvieron un porcentaje de evaginación de 90 a 98 %, los inmunodeprimió con dosis de cuatro miligramos de AMP por vía intramuscular, realizó también infecciones con animales sin inmunodeprimir y registró que los animales infectados sin el uso de esteroide comenzaron a perder la infección a partir del día 43 y a los 56 días únicamente el 14 % de los animales retuvieron la parasitosis. Además, observó que el mayor incremento en la longitud de las tenias fue de 22 cm y ocurrió en el intervalo de los 20 a 30 DPI en los hospederos inmunodeprimidos.

Monroy-Ostria y colaboradores en 1993 infectaron por vía oral hámsteres dorados hembras y machos con 10 cisticercos de *T. solium* sin inmunodepresión. A las dos semanas de infección encontraron 100 % de implantación de las tenias en el intestino delgado de los animales, con un tamaño promedio de 0.4 cm de longitud. Después de cuatro semanas, el número de parásitos decreció a un 83 % y midieron en promedio 0.8 cm. A las 6 semanas las tenias implantadas presentaron un tamaño promedio de 5.7 cm.

Aguilar en 1995 estudio la relación de la carga parasitaria con la dosis de esteroide AMP en el modelo del hámster infectado con *T. solium*. La edad de los animales osciló entre 11 y 25 semanas de edad y fueron inoculados con uno a cinco cisticercos de *T. solium*, que presentaron 90 % de evaginación, los roedores fueron inmunodeprimidos con dos miligramos de AMP por vía intramuscular cada 10 ó 14 días. La infección se mantuvo hasta 110 DPI y las tenias recuperadas fueron sexualmente maduras pero ningún ejemplar se desarrolló hasta la gravidez. La autora sugirió que las tenias no alcanzaron la gravidez debido al tamaño tan reducido del intestino delgado de estos roedores en comparación con el intestino humano.

Maravilla y colaboradores en 1998 infectaron con éxito a hámsteres, gerbos y chinchillas con tres a cinco cisticercos de *T. solium* y, sin éxito, a conejos, gatos, cerdos y monos rhesus.

Los hámsteres fueron tratados con 0 ó 2 mg de AMP cada 14 días: los gerbos con 0, 2, 4 y 8 mg de AMP, las chinchillas con 8 mg cada 14 días. En hámsteres, gerbos y chinchillas se pudieron recuperar tenias. Se obtuvieron parásitos pregrávidos con útero ramificado de los hámsteres no inmunodeprimidos y de los gerbos tratados con 8 mg de AMP, mientras que se obtuvieron tenias pregrávidas y grávidas con huevos infectivos de las chinchillas. Este fue el primer informe que mostró que es posible obtener una *T. solium* grávida de un roedor, con la que se infectó a un cerdo y después de 3 meses se recuperaron 14 cisticercos a la necropsia del animal.

Wang y colaboradores en 1999 infectaron con cisticercos de *T. solium* a hámsteres sirios y gerbos mongoles, los cuales fueron inmunodeprimidos con acetato de triamcinolona por vía subcutánea con una dosis de 10 mg cada 10 días. A la necropsia realizada a los 40 DPI, solo se obtuvo una tenia madura de un hámster.

Ávila y colaboradores en 2002 para estudiar la respuesta inflamatoria ocasionada por el adulto de *T. solium* en la mucosa intestinal de hámsteres y gerbos, utilizaron machos y hembras de 16, 32, 40 y 52 semanas de edad, los cuales fueron infectados con 8 cisticercos obtenidos de diferentes cerdos cuya evaginación fue del 70, 95 y 98 %. Al comparar la recuperación de tenias en gerbos de diferentes edades que fueron infectados con cisticercos con 70 % de evaginación no hubo diferencias en la recuperación de las tenias, pero en gerbos de la misma edad e infectados con cisticercos con 95 y 98 % de evaginación, obtuvieron una mayor recuperación de tenias. También observaron que la edad de los hámsteres y la evaginación de los cisticercos afectaron la recuperación de tenias, pues a mayor edad de los roedores y evaginación de los cisticercos, se obtuvo mayor carga parasitaria.

Terán en 2005 analizó diferentes infecciones experimentales de hamsteres infectados con cisticercos de *T. solium* para dilucidar las principales variables que afectan el desarrollo de las

tenias en este roedor y encontró que para obtener una eficiencia en la infección $\geq 50\%$ es necesario utilizar hámsteres (machos o hembras) mayores de 25 semanas de edad, que se infecten con cisticercos cuya evaginación sea mayor de 95 % y que sean inmunodeprimidos con dosis de 2 a 6 mg de AMP, sin embargo para recuperar tenias con longitudes mayores a 14 cm, es necesario infectar solo hámsteres hembras con las condiciones señaladas.

El hámster dorado, generalidades y su manejo en el laboratorio

Clasificación taxonómica del hámster dorado ó sirio (*Mesocricetus auratus*):

Reino: Animalia

Phylum: Chordata

Clase: Mammalia

Orden: Rodentia

Familia: Cricetidae

Genero: *Mesocricetus*

Especie: *Mesocricetus auratus* (Linnaeus, 1758)

El hámster dorado adulto mide de 13 a 18 cm de largo, el macho pesa de 95 a 150 gr y la hembra pesa de 140 a 200 gr, alcanzan la pubertad entre las seis y ocho semanas, su ciclo estral esta ligado a los ciclos de luz y dura cuatro días. Su gestación dura 18 días y tienen entre cuatro a ocho crías por camada. Cada cría puede ser destetada a los 21 días, son animales de hábitos nocturnos, el adulto tiene 4 dientes incisivos y 12 molares, su estómago esta dividido en dos regiones, una glandular y una no glandular (Karl y Amber, 1999). Los hámsteres generalmente

presentan pocos problemas de salud, su tamaño facilita su manejo, lo cual es ideal para implementar modelos experimentales en el laboratorio (Karl y Amber, 1999).

Actualmente se ha planteado que durante el manejo de los animales en trabajos de investigación, los responsables de los proyectos deberán mantenerlos en ambientes de bioterio que sean lo más tranquilos posible, evitando los gritos, ruidos excesivos, fuentes de contaminación externas y reducir el estrés, con la finalidad de brindarles mejor calidad de vida durante la experimentación de acuerdo a las especificaciones descritas en la Norma Oficial Mexicana 033-ZOO-1995 y la NOM-062-ZOO-1999.

De acuerdo a las normas zoológicas vigentes, es necesario realizar el sacrificio ó eutanasia (procedimiento empleado para inducir la muerte, sin producir dolor ó sufrimiento) cuando un animal en experimentación ha alcanzado su límite de deterioro físico, esto para evitar un sufrimiento excesivo, además, durante la experimentación no debe morir ningún animal hasta que el procedimiento experimental lo indique y no debe llevarse al límite a los animales en experimentación hasta una muerte repentina no programada (NOM-033-ZOO-1995; NOM-062-ZOO-1999).

Debido a la importancia de los animales durante la experimentación y las normas que regulan la forma de empleo de los animales para experimentación, se han implementado criterios para evaluar el estado físico y desgaste de los animales, así como los puntos terminales de estos, tratando de convertir observaciones cualitativas subjetivas, en valores numéricos objetivos que permitan establecer puntos claros para discernir entre un individuo sano, en mal estado, moribundo ó en fase final de experimentación. Varias instituciones de investigación tienen ya implementados sus criterios para el seguimiento físico de los animales en experimentación, entre ellos los desarrollados por el Consejo Canadiense de Protección de Animales (CCPA por sus siglas en francés) en 1998, la Comunidad de Protección de Animales (ACC por sus siglas en

inglés) en 2005 y las implementadas por Buckwell en 1999 y por Scharman en 2001. Estos grupos presentan semejanzas en el análisis de características conductuales como: actitud, postura y postraciones, y en características físicas como: temperatura, descargas óculo-nasales y peso (indicadores del estado físico del animal), considerando el peso como el indicador principal, ya que es el único indicador numérico objetivo.

Para la valoración de estos cuadros es numérica, se da el valor de uno a condiciones normales o cambios mínimos considerados dentro de patrones normales, el valor de dos a condiciones moderadas, el valor de tres a condiciones graves de alguna característica en particular. La ACC, el CCPA, Buckwell y Scharman consideran que si los valores de peso, conducta, físicos y apariencia, suman 12 puntos ó más, es necesario sacrificar al animal en experimentación para evitar su sufrimiento excesivo ó incluso su muerte repentina durante la experimentación. El análisis con más caracteres a considerar lo muestra Buckwell (1999).

Actualmente, el Comité para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CICUAL) del Hospital General “Dr. Manuel Gea González” exige que se valore y se realice el seguimiento del sufrimiento de todos los animales en los protocolos de investigación, por medio del cuadro descrito por Buckwell (1999). A cada carácter de sufrimiento: leve, moderado y grave, se le asigna un valor de uno, dos ó tres respectivamente, como se muestra en el cuadro 1, y cuando la suma de todos los rubros es igual ó mayor a los 12 puntos debe aplicarse inmediatamente la eutanasia del roedor en experimentación mediante un método adecuado, según lo establece el mismo CICUAL.

Cuadro 1. Escala para la evaluación del dolor en roedores y lagomorfos bajo experimentación (Buckwell, 1999).

Carácter	Sufrimiento		
	Leve (1)*	Moderado(2)*	Grave (3)*
PESO CORPORAL	Sin ganancia de peso	Pérdida del 20% de su peso corporal	Pérdida del 30% ó más de su peso corporal
PIEL	Piloerección parcial	Pelo erizado ó marcada piloerección Nariz, orejas y patas pálidas	Pelo erizado y deshidratación. Nariz, orejas y manos pálidas y frías
ACTITUD	Deprimido, pero responde normalmente a los estímulos	Deprimido, con respuestas débiles a los estímulos. Poca interacción con sus compañeros	Indiferente, no responde a estímulos, ni a la manipulación
POSTURA	Encogido ocasionalmente	Encogido frecuentemente	Encogido con aspecto “paralizado” o inmóvil
DESCARGAS ÓCULO–NASALES	Leves u ocasionales	Persistentes	Persistentes y evidentes
RESPIRACIÓN	Normal o taquipnea	Respiración alterada ocasionalmente. Patrón respiratorio anormal	Disnea o respiración anormal
TEMBLORES	Ocasionales	Frecuentes, con postraciones transitorias (de < 1 h)	Persistentes, postraciones > 1 h, automutilación, convulsiones

* Valores asignados por el CICUAL del Hospital General “Dr. Manuel Gea González”

En el manejo de hámsteres en experimentación se ha observado que se estresan durante su manipulación diaria y constante, lo que se refleja en un mayor desgaste físico en el desarrollo

del experimento, por lo que se debe implementar su manejo experimental en conjunto con la evaluación de su desgaste físico de manera periódica, evitando la sobre manipulación, y sin descuidar a los hámsteres, de acuerdo a lo que establece la ACC.

Generalidades sobre el acetato de metil prednisolona, micofenolato de mofetilo y metotrexato sódico

Los glucocorticoides como el AMP inhiben la producción de IL-1, IL-2, IL-6, IFN γ y TNF y afectan a monocitos y a linfocitos, por lo que propician que la inmunidad celular esté afectada, siendo posible que la respuesta primaria de anticuerpos pueda disminuir. La administración de AMP reduce el tamaño y contenido linfocitario de los ganglios linfáticos y el bazo e inhibe la producción de mediadores inflamatorios y ocasiona efectos secundarios como mayor susceptibilidad a infecciones, úlcera péptica, miopatía, cambios conductuales y osteoporosis, por lo que se presenta un decaimiento en el estado físico en pacientes con un uso prolongado del AMP. A pesar de esto actualmente es un medicamento comúnmente empleado en trasplantes, psoriasis, artritis y lupus (Barbutto *et al.*, 1996).

En el modelo experimental de teniosis, su uso se estableció de forma empírica con base en una recuperación mayor de gusanos, mayor desarrollo sexual y mayor tiempo de infección (Verster 1971, Ávila *et al.*, 2006). La dosis de AMP recomendada para la recuperación mayor de tenias sexualmente maduras en el hámster dorado es de 2mg/100gr de peso cada 14 días por vía intramuscular (Aguilar, 1995; Avila *et al.*, 2006), a pesar de que este es eliminado en su mayor parte a las 72 horas, por la orina (PLM, 2001; Goodman y Gilman, 1991).

El advenimiento de inmunodepresores no esteroideos como el micofenolato de mofetilo (MMF) y el metotrexato sódico (MTX) que presentan menos efectos secundarios y alteraciones

metabólicas con su administración frecuente para tratamientos de enfermedades autoinmunes, trasplantes y procesos inflamatorios, han ocasionado una reducción en el uso de los glucocorticoides (como el AMP), debido a que presentan menos efectos adversos en su efecto inmunodepresor durante su administración continua. En algunos casos se combinan varios inmunodepresores no esteroideos con el AMP para reducir los efectos secundarios, tanto del glucocorticoide como del inmunodepresor no esteroideo (Okada, 2005; Grbovic y Radenkovic, 2005).

El MMF es un fármaco no esteroideo que inhibe la inosin monofosfato deshidrogenasa, primera enzima específica para la síntesis de nucleótidos de guanina, con lo que afecta la síntesis de *novo* de los nucleótidos de guanina, ocasionando una disminución de IL-1 e IL-2 y de la molécula de adhesión VLA 4. Además, se ha observado que presenta un efecto citostático muy específico sobre los linfocitos T y B, debido a que existen 2 isoformas de la inosin monofosfato deshidrogenasa, la de tipo I o constitutiva que se expresa fundamentalmente en linfocitos no activados, y la de tipo II o inducible la cual se expresa fundamentalmente en los linfocitos activados, observándose que el ácido micofenólico, metabolito activo del MFF es 5 veces más eficaz inhibiendo la inosin monofosfato deshidrogenasa de tipo II que la de tipo I, por lo que es especialmente eficaz inhibiendo la expansión clonal de los linfocitos activados lo que reduce su gama de efectos secundarios, al mismo tiempo que afecta la inmunidad humoral y la mediada por células (Millan *et al.*, 2000). Debido a sus características este fármaco es un inmunomodulador empleado principalmente en trasplantes y procesos inflamatorios. Este fármaco en dosis altas y uso prolongado puede presentar efectos secundarios como anemia, hipertensión, alopecia, insomnio, depresión, diabetes y conjuntivitis (Shipkova *et al.*, 2005).

El MMF es el ester 2- morfolinometílico del ácido micofenólico, el cual se metaboliza a nivel hepático por acción de la glucuronil transferasa, (también presente en el tracto gastrointestinal). El mecanismo por el cual inhibe la inosin monofosfato deshidrogenasa es su habilidad de mimetizar estructuralmente al cofactor del dinucleótido de nicotinamida y la adenina, lo que previene la oxidación de inosin monofosfato a xantosa 5'-fosfato, la cual es decisiva en la síntesis de *ново* de guanina.

Tras la administración de MMF por vía oral, se absorbe en 30 minutos y se transforma en su metabolito activo, con un 94 % de biodisponibilidad, habitualmente se observa un aumento secundario del MMF después de 6 a 12 horas, de la administración, lo cual denota la presencia de una recirculación entero-hepática, se desecha 93 % en orina y un 6 % en heces (PLM, 2001; Goodman y Gilman, 1991).

El MTX es un inmunodepresor de amplio espectro relativamente antiguo, (que no ha sido probado en el modelo de teniosis), inhibe a la enzima dihidrofolato reductasa ácida, con lo que interfiere en la síntesis del DNA de células con alta proliferación como las células del sistema inmune, cánceres, médula ósea, mucosa intestinal y bucal. Es un inmunodepresor y anti-inflamatorio que ha sido usado en carcinomas y leucemias, psoriasis, artritis y en contra de procesos inflamatorios. El uso prolongado del MTX puede ocasionar efectos secundarios como leucopenia, náuseas, disminución de la resistencia a infecciones oportunistas, toxicidad hepática e ineffectividad de inmunizaciones. Se ha documentado que este fármaco causa una supresión del gen de IL-1, supresión del gen de la IL-2, así como el bloqueo de los receptores de IL-2, disminución de IFN γ , incremento de IL-4 e IL-10 (Grim *et al.*, 2003); disminución de CD3, CD8, CD38, CD68, IL1 β , TNF α , VCAM 1 (Dolhain *et al.*, 1998); disminuye la función de neutrófilos

y estimula la liberación de adenosina y en sitios inflamados disminuye la acumulación de leucocitos (Bruce *et al.*, 1991; Bruce *et al.*, 1993).

El MTX es un inmunodepresor de amplio espectro, actúa por inhibición de la enzima dihidrofolato reductasa, la cual transforma el ácido fólico inactivo en tetrahidrofolatos, que participan como portadores de radicales, de los grupos formilo y metilo en la síntesis de nucleótidos purínicos. La absorción en adultos alcanza sus valores máximos plasmáticos en 2 horas, a dosis de 30 mg y presenta una biodisponibilidad cercana al 60 %. En niños presenta una variabilidad de absorción oral, que va del 23 % al 95 %. Después de su absorción, el MTX es objeto de biotransformación hepática e intracelular, que lo transforman en sus formas poliglutamadas, que pueden ser reconvertidas en MTX por acción de hidrolasas. Estos poliglutamatos actúan como inhibidores de la dihidrofolato reductasa y de la timidilato-sintetasa. La vida media de este fármaco es de 15 horas (por lo que su administración va de diaria a semanal). La principal vía de eliminación es la excreción renal la cual ocurre por filtración glomerular y secreción tubular activa, 80 a 90 % de la dosis administrada se excreta sin cambios en la orina a las 24 horas (Grim *et al.*, 2003).

JUSTIFICACIÓN

El modelo de teniosis experimental por *T. solium* en roedores es indispensable para el abastecimiento constante de material antigénico y biológico que es empleado con fines de diagnóstico, vacunación e investigación encaminados al control de la teniosis y la cisticercosis; sin embargo, es fundamental disminuir el sufrimiento innecesario de los animales que son usados como hospederos experimentales. Por esto, la administración de fármacos no esteroideos que generen el efecto inmunodepresor necesario para el mantenimiento de la teniosis experimental, sin alterar de manera importante el estatus de salud de los animales empleados, redundará no solo en la calidad de vida de los animales parasitados, sino también en un mayor tiempo de infección, consecuentemente, en una mayor recuperación de material biológico-antigénico.

HIPÓTESIS

Si el deterioro en la condición general de salud que presentan los hospederos experimentales en el modelo de teniosis, es principalmente debido a los efectos secundarios de los glucocorticoides, al utilizar inmunodepresores no esteroideos, que presenten menores efectos secundarios, se conservará el estado de salud de los roedores y disminuirá su sufrimiento, lo que permitirá prolongar su infección e incrementar la recuperación de material biológico.

OBJETIVOS

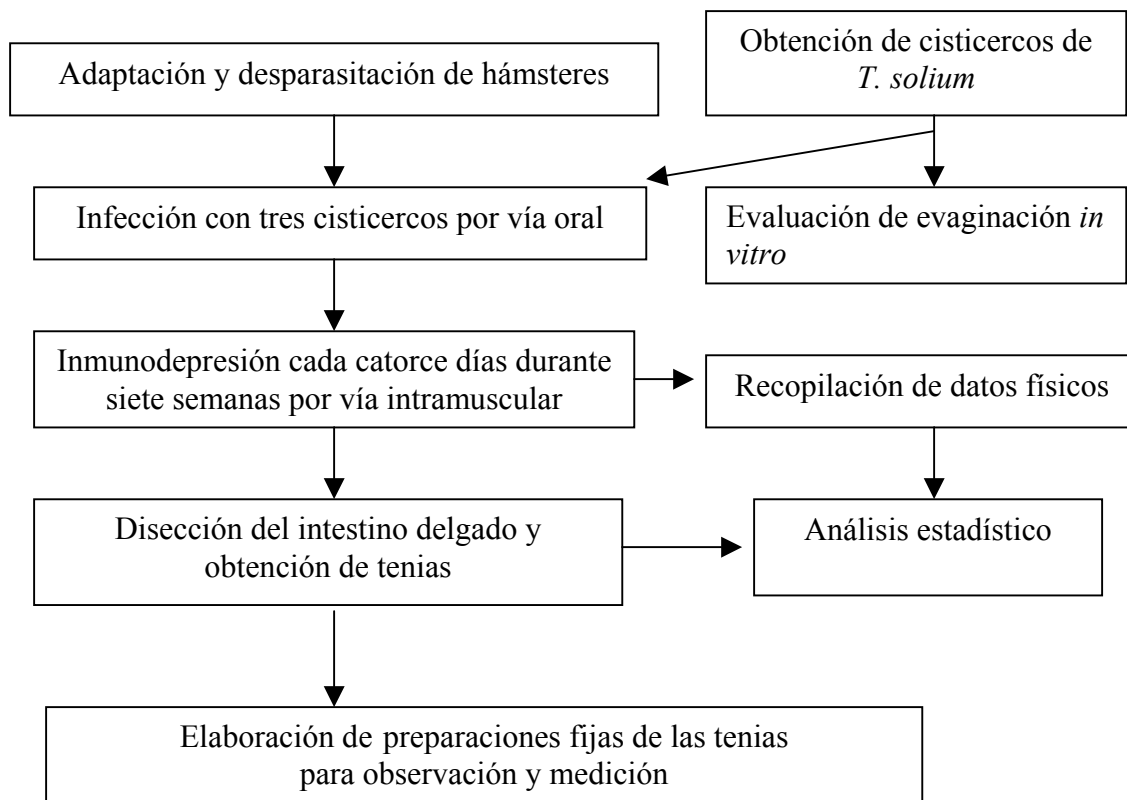
- Probar el efecto de los inmunodepresores no esteroideos MTX y MMF, en el modelo de teniosis en el hámster dorado, comparándolo con el AMP.

- Obtener y analizar datos sobre el estado físico de los hospederos durante la infección e inmunodepresión, para conocer el deterioro en su estado general de salud durante el desarrollo de la teniosis.

- Evaluar el efecto del MTX y el MMF en la evaginación *in vitro* de cisticercos de *T. solium*.

MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño experimental



Los animales y su alojamiento

El Bioterio de la Dirección de Investigación del Hospital General “Dr. Manuel Gea González” proporcionó 13 hámsteres hembras de 25 semanas de edad con un peso entre 145 gr y 210 gr. Los roedores fueron albergados en cajas de policarbonato con viruta de madera, la cual fue suficiente para la absorción de su orina, excremento y desperdicio de agua, favoreciendo su aislamiento térmico y construcción de nido, con el propósito de disminuir el estrés previo y durante la infección. Los animales tuvieron 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad, se les proporcionó alimento comercial para roedores (Laboratory rodent diet. 500r, PMI, México.) y agua a libre acceso, de acuerdo con lo establecido por la NOM-062-ZOO-1999.

Una semana antes del experimento, los animales se desparasitaron por vía oral con praziquantel (Cesol, Merk, México) a una dosis de 30 mg/kg, disuelto en vitaminas A y E (Aderogil, Aventis Pharma, México), albendazol (Vermin-plus, Streger, México) a una dosis de 20 mg/kg en dos tomas. Finalmente, los animales se identificaron mediante un código estándar de muesqueo en sus orejas y se distribuyeron en 2 grupos de 4 animales y 1 grupo de 5 animales.

Obtención y evaginación de cisticercos de *Taenia solium*

Se utilizaron dos lotes de cisticercos, uno para la infección y otro para la evaginación *in vitro* de los parásitos. Se extrajeron cisticercos del músculo esquelético de un cerdo infectado de manera natural y se retiró la cápsula del hospedero, se depositaron en un vaso de precipitados de 250 ml con solución salina (NaCl 0.15 M) amortiguada con fosfatos (0.01 M), pH 7.2 en baño de hielo (PBS por sus siglas en inglés). Se tomaron 10 cisticercos, a los cuales se les realizó un corte sobre la membrana para facilitar la entrada de sales biliares y enzimas que promueven su evaginación y se colocaron en 40 ml de RPMI-1640 (Gibco) y bilis porcina al 25 %, se incubaron a 37 °C, después de 3 y 24 horas se contaron los cisticercos evaginados (Rabiela *et al.*, 2000). El segundo lote de cisticercos fue usado para evaluar la evaginación en presencia de MMF y de MTX, se procesaron para la prueba de evaginación como se mencionó anteriormente y se agregaron 200 mg de MMF ó 2 mg de MTX molidos y mezclados con el medio de cultivo y la bilis, se incubaron a 37 °C; después de 3 y 24 horas se contaron los cisticercos evaginados, se realizó también la evaginación de cisticercos sin las drogas, como lo estableció Rabiela *et al.*, 2000 como evaginación testigo.

Infección de hámsteres e inmunodepresión

Se infectó a cada hámster con tres cisticercos de *T. solium* por vía oral, con 200 µl de PBS para facilitar la deglución de los cisticercos. Los roedores se ordenaron en tres grupos experimentales al azar de acuerdo al inmunodepresor a probar: MFF, MTX ó AMP.

El primer grupo constó de 4 hámsteres y se inmunodeprimieron con una dosis de 2 mg de AMP (Depo-medrol, UpJhon, México) por vía intramuscular en el día de la infección y posteriormente cada 14 días de acuerdo a la recomendación de Ávila y colaboradores (2006). El segundo grupo de roedores se conformó por cinco hámsteres y se inmunodeprimieron con MTX (Ledertrexate, Wyeth, México) por vía oral, con una dosis de 2 mg por cada 100 gr de peso cada siete días, de acuerdo al intervalo de dosis que generan inmunosupresión en ratas descrito por Uharek *et al.*, (1991) y Rubio *et al.*, (1998). El tercer grupo de cuatro hámsteres, se inmunodeprimió con MMF (Cell cept, Roche, México) por vía oral, a una dosis de 200 mg por cada 100 gr de peso cada siete días de acuerdo a una dosis estandarizada para inmunodeprimir ratas (Van Gelder *et al.*, 2001).

Medición de parámetros físicos de los hámsteres durante la infección

A partir de los cuadros de Buckwell (1999) y la información del CICUAL para los roedores que se usan en los protocolos de investigación del Hospital General Dr. “Manuel Gea González”, se diseñó el cuadro 2 en el que se concentraron los caracteres que valoran el desgaste físico y el sufrimiento de los hámsteres infectados para no generar una sobre manipulación y decidir el momento de la eutanasia, ya que estos animales tuvieron un tratamiento inmunodepresor y una manipulación periódica inherente al modelo de teniosis.

Cuadro 2. Escala para la evaluación del estado físico y sufrimiento en hámsteres inmunodeprimidos bajo experimentación*

Carácter	Valoración y asignación numérica de rasgos
Peso	Sin ganancia de peso (0)
	Pérdida de menos el 10 % de peso (1)
	Pérdida del 10 al 19 % de peso (2)
	Pérdida del 20 al 29 % de peso (3)
	Pérdida de mas del 30 % de peso (12)
Piel	Pileorección parcial (1)
	Pelo erizado ó zonas alopécicas, y/ó nariz y manos pálidas (2)
	Pelo erizado y deshidratación, nariz y manos pálidas y frías (3)
Actitud	Deprimido pero responde a estímulos (1)
	Respuestas débiles a estímulos (2)
	Irritable ó agresivo (3)
Postura	En movimiento (1)
	Posturas anormales (2)
	Postración prolongada (3)
Descargas oculó-nasales	Ligeras y ocasionales (1)
	Ligeras pero persistentes (2)
	Escurrecimiento persistentes y profusos (3)
Respiración	Alterada al manejo (ocasionalmente) (1)
	Alterada constantemente (2)
	Disnea o respiración anormal (3)
Temblores	Al manejo (ocasionales) (1)
	Frecuentes y con postración (2)
	Convulsiones (3)
Pupilas	Reflejo normal (0)
	Dilatadas (2)
	Sin reflejo en uno ó ambos ojos (3)
Vocalización	Sin vocalización (0)
	Vocalización al manejo (2)
	Vocalización constante (3)
Observaciones	Atención a la presencia de mutilaciones o heridas (3)

* Se consideró el mismo criterio de sufrimiento de Buckwell (1999) y el CICUAL, en donde los animales que exceden la puntuación de 12 ó alcanzan un estado crítico son sacrificados inmediatamente mediante un método humanitario *ad hoc*, como lo establece el propio CICUAL.

El seguimiento del estado de cada hospedero se llevó a cabo de forma semanal a partir de la primera semana post infección (SPI) y hasta la sexta semana post infección, ya que todos los animales se sacrificaron en la séptima semana. Con la información obtenida se construyó una base de datos, la cual se analizó para la búsqueda de diferencias en el estado físico de los hospederos de los tres grupos experimentales y para la observación en el comportamiento del estado físico de cada grupo según el inmunodepresor ocupado, así como para establecer que fármaco presenta menos efectos secundarios en este modelo. Debido a que los hámsteres son roedores de hábitos vespertino-nocturnos, las mediciones se llevaron a cabo después de las 18:00 hrs en el bioterio del hospital. Cada animal se sujetó y manipuló y evaluó en un solo momento es decir, antes de manipular al roedor se evaluó su conducta, postura y vocalización, posteriormente se registraron los datos físicos y la actitud durante la manipulación, en ese momento el animal fue inmunodeprimido con el fármaco según correspondía. Para la colección de los datos de la conducta, postura y vocalización, se evaluaron frente a la caja, con los hámsteres dentro del ambiente de roedores del bioterio. Cualquier cambio se registró inmediatamente dando prioridad al manejo e inspección cuidadosa de los roedores que acumularon un mayor puntaje. Los datos físicos se obtuvieron durante el pesado en una balanza granataria con tapa para roedores (Ohaus, México), posteriormente con ayuda de una lámpara de pilas con foco de 4 volts, se evaluó el reflejo ocular y su actitud durante la manipulación.

Necropsia de los hámsteres, recuperación y medición de las tenias adultas y elaboración de preparaciones fijas

El sacrificio de los hámsteres se llevó a cabo con una sobredosis de Pentobarbital sódico (Pfizer, México) (60 mg/ml) 210 mg/kg por vía intramuscular (NOM 062-ZOO-1999). Se extrajo el intestino delgado, al que se le realizó una incisión longitudinal para recuperar las tenias. Se

localizaron e identificaron los parásitos, se extrajeron y lavaron con PBS, y se conservaron en una solución de PBS con antibiótico (100 U penicilina G sódica/ml + 20 mg/ml de estreptomicina) a cuatro grados centígrados. La talla de las tenias se midió a las 24 horas una vez que se encontraban relajadas, se extendieron con ayuda de un pincel de cerdas suaves y se midieron con una regla.

Algunos de los parásitos recuperados se fijaron y montaron de acuerdo a lo descrito por Maravilla *et al.*, 1998. Para ello, se cortó el estróbilo en: escólex-cuello, proglótidos inmaduros y maduros. Los ejemplares se colocaron entre dos portaobjetos, procurando no doblar las tenias, se extendió cada fragmento, se fijaron los extremos de los portaobjetos con dos ligas para aplanar adecuadamente a las tenias y después se introdujeron en alcohol al 70 %, durante un día, para su fijación. Una vez fijadas las tenias, se deshidrataron pasando por alcohol al 90 % durante diez minutos, alcohol al 96 % durante diez minutos y alcohol al 100 % durante cinco minutos. Posteriormente se tiñeron con para-carmín de Mayer durante 30 minutos y se decoloraron con etanol acidulado al 2 % con HCl, durante dos minutos. Se lavaron los parásitos con etanol al 90 % durante cinco minutos para detener la acción del HCl y se deshidrataron en alcohol absoluto durante 10 minutos. Para aclarar los especímenes, se les dio un baño con salicilato de metilo y se montaron con resina sintética en un portaobjetos, rotulando cada preparación. Los ejemplares tanto en fresco como teñidos se observaron al microscopio para apreciar la teniosis debida a *T. solium*, así como para observar las estructuras características de *T. solium* y el grado de desarrollo alcanzado por los parásitos.

RESULTADOS

Viabilidad de los cisticercos y eficiencia de la infección

Para la infección de los hámsteres se recuperaron cisticercos de un cerdo infectado de manera natural proveniente del Estado de Morelos, los cuales tuvieron una evaginación *in vitro* del 100% a las 3 horas, por lo que se procedió a la infección de los roedores. A los 49 DPI se encontró que todos hámsteres inmunodeprimidos con AMP estaban parasitados (cuadro 3), lo que significó una infección del 100 % y ningún hámster de los grupos inmunodeprimidos con MMF y con MTX se encontró parasitado a la necropsia. La eficiencia de infección en el grupo inmunodeprimido con AMP fue del 67 % y representa el cociente del número total de cisticercos inoculados, entre el número de tenias obtenidas a la necropsia de los hámsteres, multiplicado por cien, la eficiencia en los otros dos grupos, MMF y MTX, fue de 0 % a los 49 DPI.

Cuadro 3. Carga parasitaria a los 49 DPI de hámsteres inmunodeprimidos con AMP e infectados con 3 cisticercos de *T. solium*

No de identificación del hámster	No. de tenias recuperadas	Longitud de las tenias (cm)	Desarrollo
1	1	32.5	Madura
4	3	32.3, 33, 39	Maduras
6	2	28.5, 38	Maduras
12	2	30.5, 32.7	Maduras

Ejemplares de *T. solium* recuperados

Las tenias adultas obtenidas presentaron un escólex con cuatro ventosas y un rostelo con una doble corona de ganchos característicos de *T. solium*. Los estróbilos mostraron proglótidos

con un desarrollo sexual de inmaduros a maduros y una alternancia irregular en la orientación del poro genital (figuras 3A y 3B).

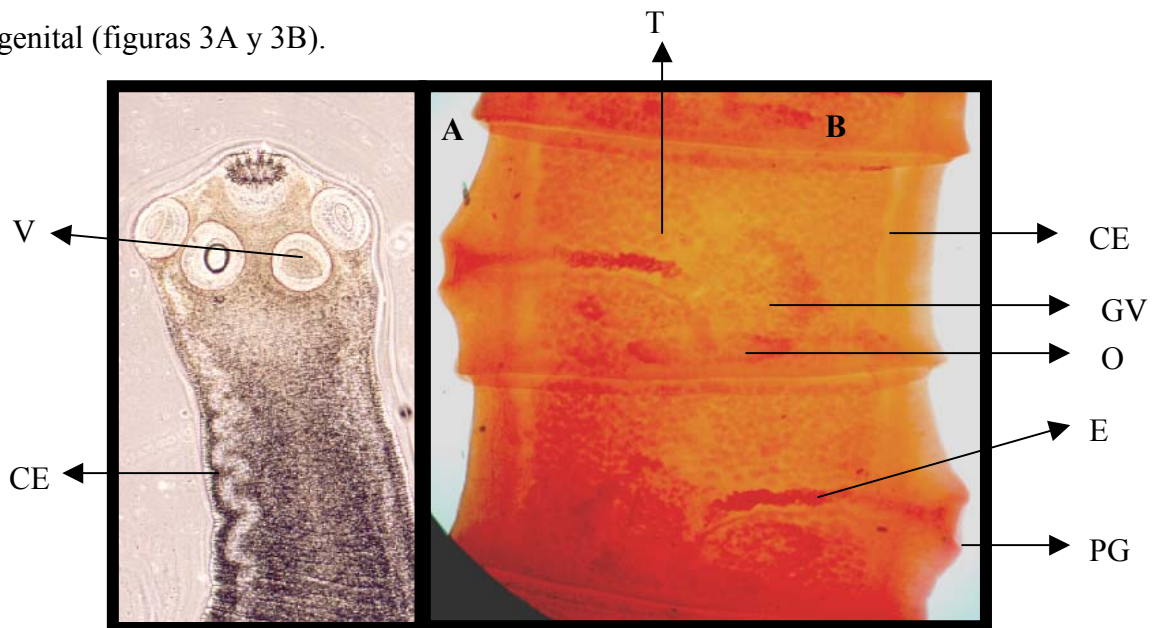


Fig. 3. A: escólex de *T.solium* extraído del intestino delgado de un hámster inmunodeprimido con AMP se aprecian sus cuatro ventosas (V) y los canales longitudinales excretorios (CE). B: proglótido de *T.solium* aumentado 40 veces, teñido con la técnica de para-carmín de Mayer, se observan los canales excretorios (CE), el poro genital (PG), el espermiducto enrollado (E), múltiples testículos (T) y la formación de glándulas vitelogenas (GV) y la formación del ovario (O).

Evaginación de cisticercos *in vitro* con micofenolato de mofetilo y metotrexato

Con el segundo lote de cisticercos se evaluó la evaginación de cisticercos *in vitro* en presencia de MMF y MTX. Después de 3 hrs en el medio de cultivo se observó que algunos cisticercos tuvieron una morfología elíptica con una ligera protuberancia en el sitio del canal espiral, lo que sugería un proceso de evaginación aún incompleta, por lo cual, la lectura se realizó a las 24 hrs y se encontró 40 y 50 % de los cisticercos evaginados en presencia de MTX y MMF respectivamente. En comparación los cisticercos del grupo testigo (solo medio con bilis), evaginaron en un 90% a las 3 horas, mientras que a las 24 hrs, todos los cisticercos evaginaron (figura 4).

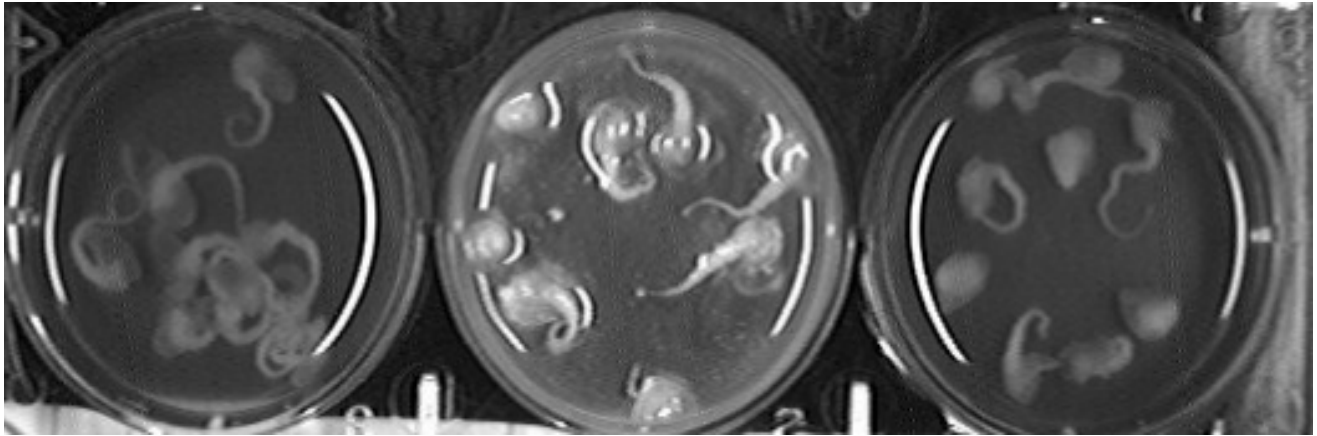


Figura 4. Evaginación de cisticercos a las 24 hrs de cultivo. En la caja del lado izquierdo se encuentran cisticercos en medio de cultivo con bilis, y con el 100 % de evaginación, en el centro, cisticercos evaginados en presencia de MMF (50% de evaginación) y en el extremo derecho cisticercos evaginados en presencia de MTX (40 % de evaginación).

Seguimiento del estado físico de los animales inmunodeprimidos con mofetil micofenolato

Durante el seguimiento semanal del sufrimiento y el estado físico de cada hámster, se observó que ninguno de los animales llegó a los 12 puntos (cuadro 4, figura 5, anexo 1); sin embargo, llamó la atención que todos los hámsteres de este grupo presentaron un mismo puntaje global de cinco en la primera semana y que posteriormente este valor osciló entre 4.25 y 6.25 durante la infección, presentándose una tendencia irregular de incrementos entre las semanas 1 a 2 y de la 4 a 6, y un decremento entre las semanas de 2 a 4, siendo el valor mas bajo en la semana 4 (figura 5). En la figura 6 se observa el seguimiento del peso de los roedores, en este caso se observó que la variación en el peso de los roedores fluctuó entre una pérdida del 3.5 % y una ganancia del 4.2 % del peso con respecto al valor inicial, con una disminución ligera en el peso de los roedores en las primeras dos semanas y un incremento en el peso de algunos roedores en la tercera y la última semana post infección.

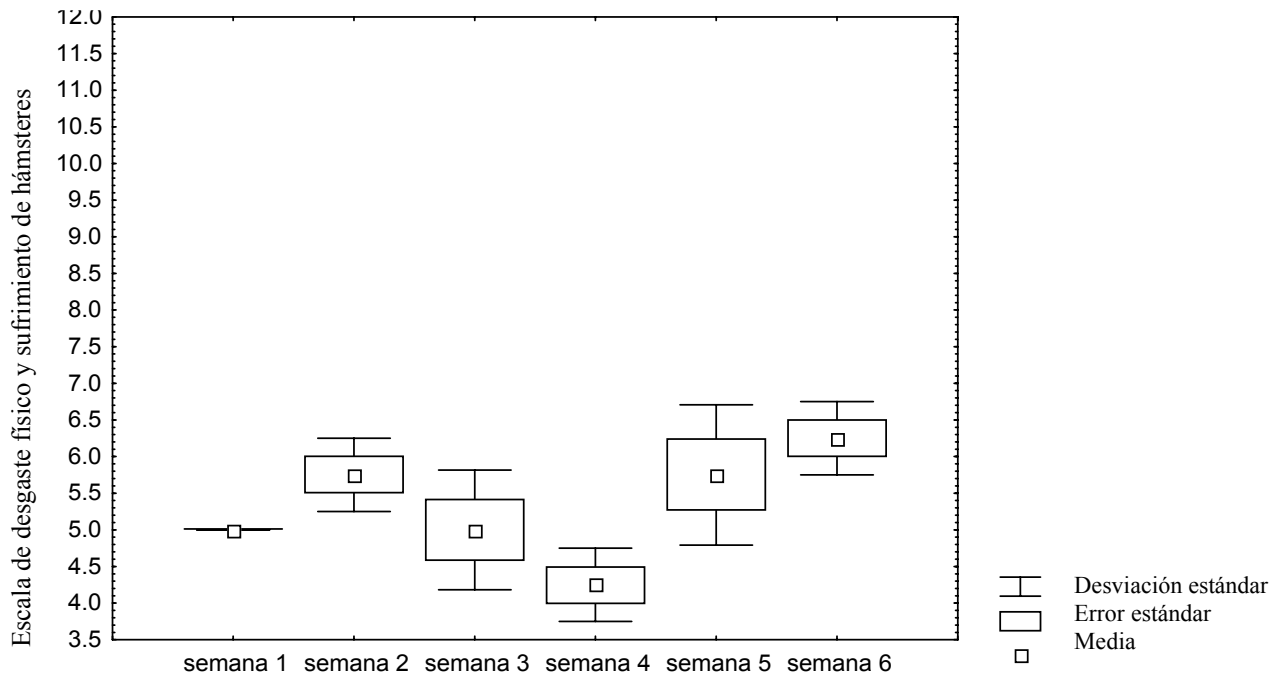


Figura 5. Seguimiento físico semanal de los hámsteres inmunodeprimidos con micofenolato de mofetilo, según la escala establecida en el cuadro 3.

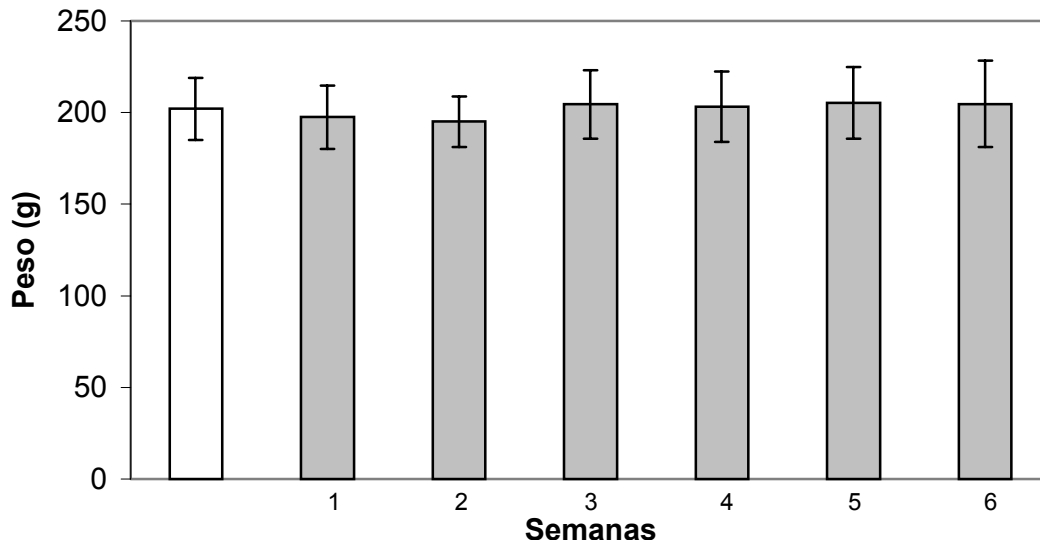


Figura 6. Peso de los hámsteres inmunodeprimidos con micofenolato d mofetilo, durante la experimentación. La primera columna corresponde al peso de los animales antes de la infección e inmunodepresión.

En el cuadro 4 se presenta el análisis por la prueba de t-student que mostró diferencias significativas entre el decaimiento físico semanal del grupo de hámsteres inmunodeprimidos con MMF, de las 16 combinaciones posibles en el análisis bivariado, (1 vs 2; 1 vs 3; 1 vs 4; 1 vs 5; 1 vs 6; 2 vs 3; 2 vs 4; 2 vs 5; 2 vs 6; 3 vs 4; 3 vs 5; 3 vs 6; 4 vs 5; 4 vs 6 y 5 vs 6), se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre la primera y la sexta semana, entre la segunda y la cuarta semana y entre la cuarta y la sexta semana, sin embargo ninguna animal se encontró próximo a los 12 puntos.

Cuadro 4. Prueba de t para muestras dependientes, con respecto al decaimiento físico y sufrimiento semanal del grupo de hámsteres inmunodeprimidos con MMF.

Semanas	N	Dif.	Dif.Dv.Std.	t	p
1 vs 6	4	-1.25	0.50	5.00	0.015
2 vs 4	4	1.5	0.57	5.19	0.013
4 vs 6	4	-2	0.81	4.89	0.016

Diferencias significativas si $p < 0.050$

N: Número de roedores analizados

Dif: Diferencia entre las medias comparadas

Std.Dv.Dif: Diferencia entre las desviaciones estándar.

t: valor de t

p: Probabilidad de error.

Seguimiento del estado físico de los animales inmunodeprimidos con metotrexato

Este grupo alcanzó índices más altos en la valoración de su estado físico, pero no se acercó al límite de los 12 puntos (cuadro 5, anexo 2). Al graficar el seguimiento semanal del sufrimiento y el estado físico de cada hámster, se observó que este grupo de animales mostró una tendencia similar al grupo de hámsteres inmunodeprimido con MMF, con valores oscilando entre los cuatro y ocho puntos, con incrementos entre las semanas 2 y de la 4 a la 6, y un ligero decremento en la semana 3, el valor mas bajo se observó en la semana 1 (figura 7). El peso de los roedores fluctuó

entre una pérdida inicial del peso en la primer semana de el 3.1 % hasta una ganancia de peso en la ultima semana de 8.7 % del peso con respecto a su valor inicial (figura 8).

Escala de desgaste físico y sufrimiento de hámsteres

estándar

Figura 7. Seguimiento físico semanal de los hámsteres inmunodeprimidos con metotrexato.

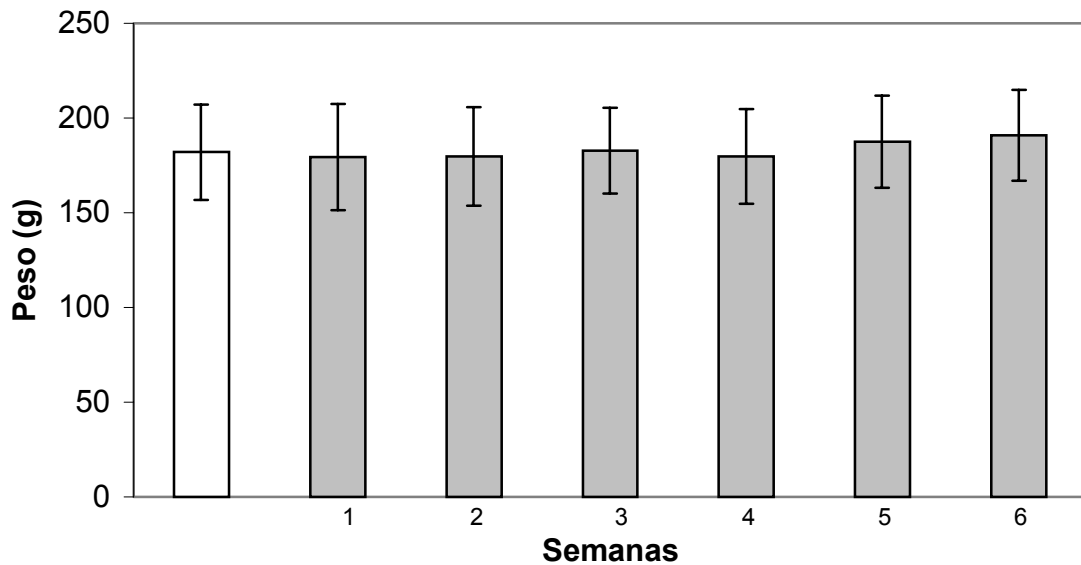


Figura 8. Peso de los hámsteres inmunodeprimidos con metotrexato, durante la experimentación. La primera columna corresponde al peso de los animales antes de la infección e inmunodepresión.

El análisis de la prueba de t-student entre las distintas semanas post infección mostró diferencias significativas entre las semanas 1 vs 5, 1 vs 6, 2 vs 6, 4 vs 5 y 4 vs 6. Debido a que en la semana 4 se registró la mayor desviación estándar, las comparaciones con esta semana y las anteriores no fueron estadísticamente significativas. Finalmente en la sexta semana post infección, se presentaron los valores mas altos, lo que significó un mayor decaimiento físico de los hospederos en la última semana (cuadro 5).

Cuadro 5. Prueba de t, para muestras dependientes, con respecto al decaimiento físico y sufrimiento semanal del grupo de hámsteres inmunodeprimidos con MTX.

Semanas	N	Dif.	Std.Dv.Dif.	t	p
1 vs 5	5	-2	1.22	-3.65	0.021
1 vs 6	5	-2.8	0.83	-7.48	0.001
2 vs 6	5	-1.8	1.09	-3.67	0.021
4 vs 5	5	-1.4	0.54	-5.71	0.004
4 vs 6	5	-2.2	1.48	-3.31	0.029

Diferencias significativas si $p < 0.050$

N: Número de roedores analizados

Dif: Diferencia entre las medias comparadas

Std.Dv.Dif: Diferencia entre las desviaciones estándar.

t:valor de t

p: Probabilidad de error.

En los grupos de MTX y MMF no se presentó un decaimiento físico evidente en los animales, no existió pérdida de mas del 10 % de peso de los roedores, ni cambios significativos en su conducta, sin embargo, la dosis y vía de administración empleadas de estos medicamentos no fueron útiles para mantener la teniosis, ya que no se recuperaron ejemplares de *Taenia* a la necropsia de los hámsteres.

Seguimiento del estado físico de los animales inmunodeprimidos con acetato de metil prednisolona

Durante el seguimiento de los hámsteres inmunodeprimidos con AMP se observó de manera clara que estos animales sufrieron un decaimiento físico, el cual se acentuó en las últimas dos semanas, (cuadro 6, figura 9, anexo 3). Los valores obtenidos en la quinta y sexta semanas superaron los valores obtenidos en los grupos de hámsteres inmunodeprimidos con MMF y MTX, aunque ningún hámster alcanzó los 12 puntos, por lo que la infección se mantuvo hasta los 49 DPI.

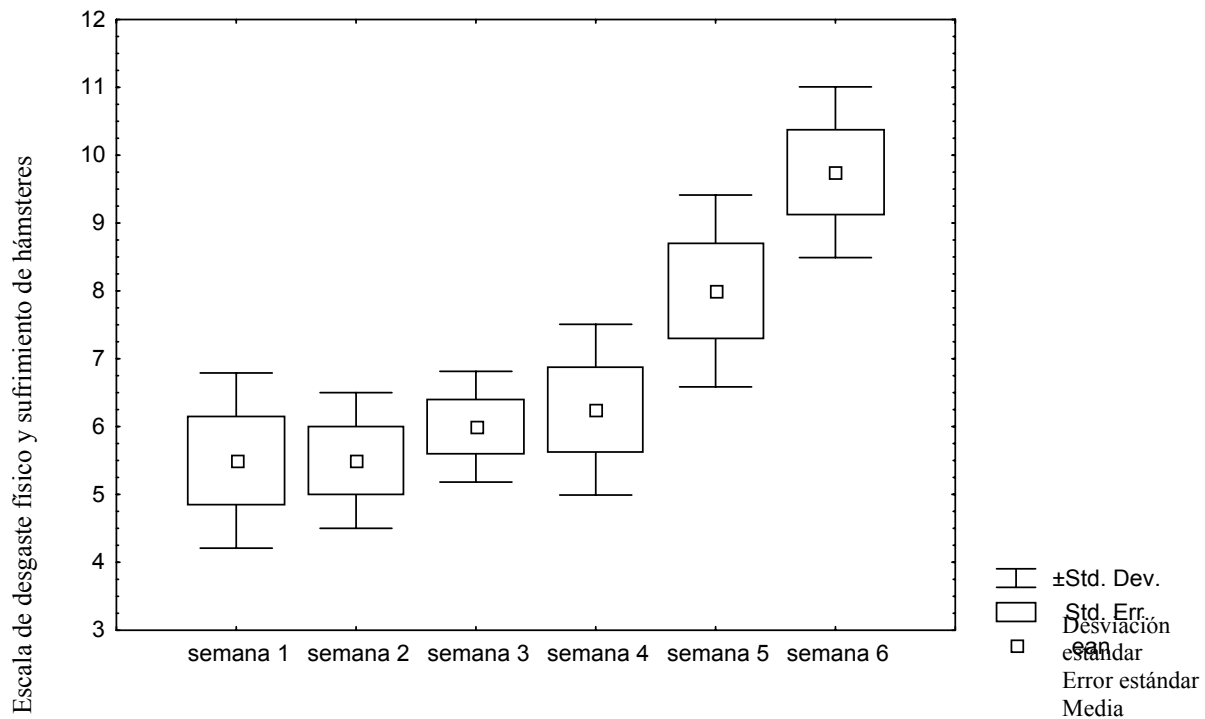


Figura 9. Seguimiento físico semanal de los hámsteres inmunodeprimidos con acetato de metil prednisolona, según la escala establecida en el cuadro 3

Se observó una disminución del peso de los roedores, en las dos últimas semanas la pérdida de peso se encontró entre el 11 % y 17 % con respecto al peso inicial de cada roedor,

pero en la sexta semana post infección un hámster perdió 21% de su peso. Además del peso fue evidente que estos animales presentaron descargas óculo nasales, la presencia de pelo erizado y zonas alopécicas así como una actitud agresiva al manejo.

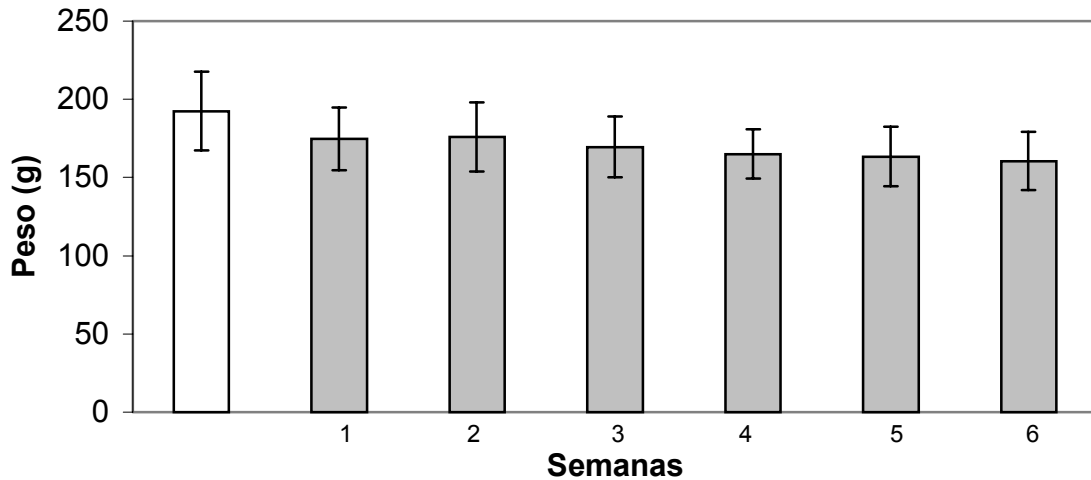


Figura 10. Peso de los hámsteres inmunodeprimidos con acetato de metil prednisolona, durante la experimentación. La primera columna corresponde al peso de los animales antes de la infección e inmunodepresión.

Se realizó una prueba de t-student, para encontrar las diferencias significativas entre los valores de cada semana, así como para establecer cuando comienza a decaer el estado físico de los hámsteres inmunodeprimidos. Por la tendencia de la curva de la figura 9, se puede observar que no existen diferencias entre las primeras cuatro semanas, por lo que las diferencias que se encontraron mediante la prueba de t se dan entre las primeras cuatro semanas con respecto a las últimas dos semanas y entre la quinta y la sexta semana también existen diferencias significativas. Se puede observar que en este grupo no se presentó reposición en el estado físico de los roedores en las semanas 2 a 4 como se observó en el grupo de roedores inmunodeprimidos

con MFF, además de que fue el único grupo que presentó una disminución en el peso de los hospederos.

Cuadro 6. Prueba de t para muestras dependientes, con respecto al decaimiento físico y sufrimiento semanal del grupo de hámsteres inmunodeprimidos con AMP.

Semanas	N	Dif.	Std.Dv.Dif.	t	p
1 vs 5	4	-2.5	1	-5	0.0153
1 vs 6	4	-4.25	0.95742711	-8.87796045	0.003
2 vs 5	4	-2.5	0.57735027	-8.66025404	0.003
2 vs 6	4	-4.25	0.5	-17	0.000
3 vs 5	4	-2	0.81649658	-4.89897949	0.016
3 vs 6	4	-3.75	0.95742711	-7.83349452	0.004
4 vs 5	4	-1.75	0.95742711	-3.65563078	0.035
4 vs 6	4	-3.5	1.29099445	-5.42217668	0.012
5 vs 6	4	-1.75	0.95742711	-3.65563078	0.035

Diferencias significativas si $p < 0.050$

N: Número de roedores analizados

Dif: Diferencia entre las medias comparadas

Std.Dv.Dif: Diferencia entre las desviaciones estándar.

t:valor de t

p: Probabilidad de error.

El análisis estadístico reveló que entre las semanas 5 y 6 se exacerbó el desgaste físico de los animales; sin embargo, no se alcanzaron los 12 puntos, aunque se observó una tendencia a un decremento en el estado físico de los hospederos.

Análisis comparativo y retrospectivo sobre la eficiencia de infección y longitud de las tenias recuperadas en el modelo de teniosis experimental en el hámster dorado.

Se realizó un análisis de la base de datos con información recabada sobre las infecciones realizadas por: Ávila (1992), Aguilar (1995), Benítez (1997), Maravilla *et al.*, (1998, Avila *et al.*,

(2002) y Terán (2005), todas las infecciones fueron realizadas en hámsteres inmunodeprimidos con AMP. Se obtuvo una curva sobre la eficiencia de la infección de los hámsteres y otra sobre el desarrollo (longitud) de las tenias. Debido a la gran dispersión de los datos se manejaron solo los valores obtenidos de infecciones en hembras, con más de 20 semanas de edad, inmunodeprimidas con 2 mg de AMP, ya que son variables que permiten obtener mayor carga parasitaria y mayor desarrollo de tenias, de acuerdo a lo descrito por Ávila *et al* (2006).

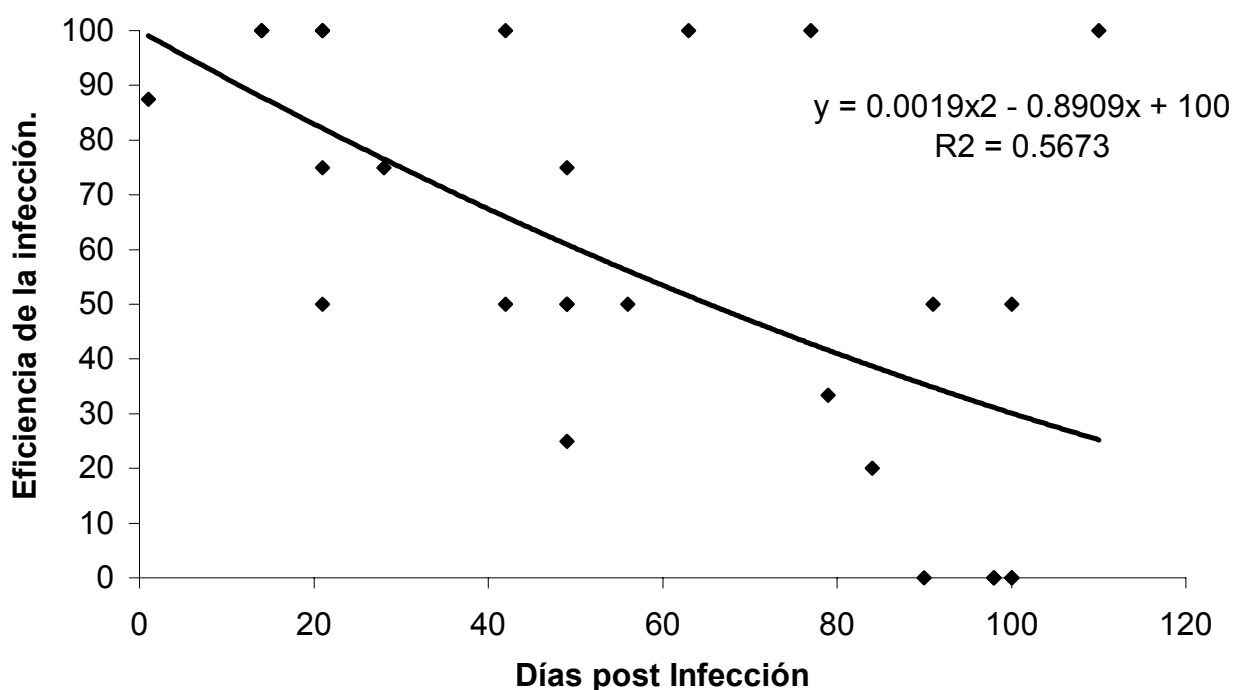


Figura 11 Eficiencia de las infecciones en el modelo experimental de teniosis en hámsteres en hembras de más de 20 semanas de edad e inmunodeprimidas con 2mg de acetato de metil prednisolona cada 14 días. La curva de tendencia esta dada por la ecuación: $y = 0.0019x^2 - 0.8909x + 100$.

El análisis sobre la eficiencia de las infecciones mostró una curva con pendiente negativa con un valor de R^2 de 0.5673, aunque se presenta una gran dispersión entre los datos sin una alta correlación (figura 11), que nos indica que a los 50 DPI, la eficiencia de la infección esta por arriba del 50 %.

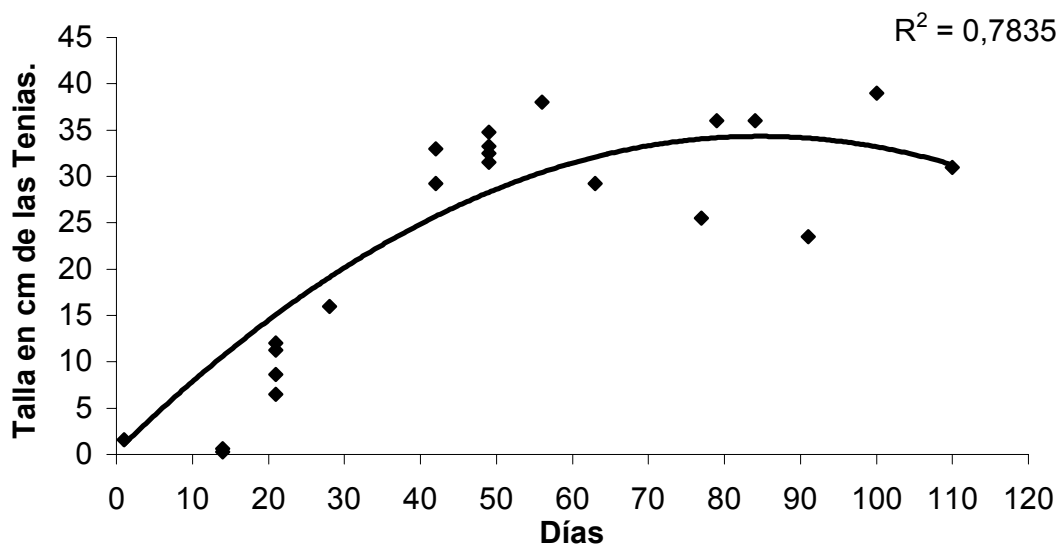


Figura 12 Longitud promedio de las tenias en el modelo experimental de teniosis en hámster dorado, en hembras de más de 20 semanas de edad e inmunodeprimidas con 2mg de AMP cada 14 días. La curva de tendencia esta dada por la ecuación: $y = -0,0048 x^2 + 0,8043x + 0,3$.

El análisis de las longitudes de las tenias mostró una curva tipo parábola, con una R^2 de 0.7835, lo cual corresponde a una correlación entre el tamaño de las tenias recuperadas del modelo experimental vs los días post infección. De acuerdo a esta gráfica, en los hámsteres, las tenias presentan su mayor crecimiento en los primeros cuarenta días de la infección, posteriormente el incremento en la talla de las tenias es mínimo y después de los 90 días se observa una disminución en el tamaño de las tenias. Las tenias de mayor talla se obtienen entre los 42 y los 80 DPI, aunque el incremento en la longitud de las tenias es mínimo en este lapso de tiempo.

Decaimiento físico de los hámsteres inmunodeprimido con AMP en el modelo experimental de teniosis.

A partir de los datos obtenidos en la presente tesis, se puede realizar una proyección sobre el decaimiento físico de los hámsteres inmunodeprimidos con AMP. Para ello, se graficaron los

valores de desgaste físico vs semanas post infección, para cada uno de los 4 hámsteres del grupo inmunodeprimido con AMP (Figura 13).

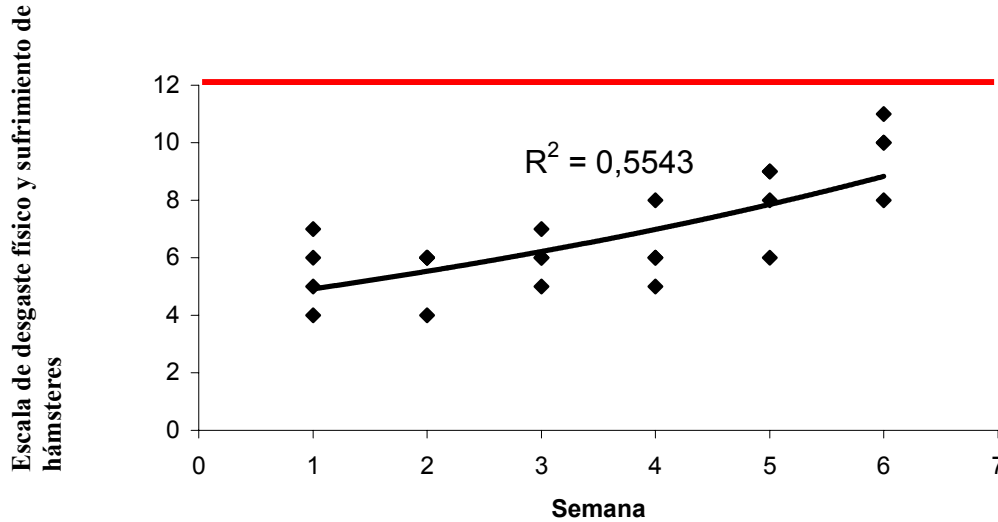


Figura 13. Estado físico de los hámsteres inmunodeprimidos con acetato de metil prednisolona, con respecto a la escala establecida en el cuadro 3 para evaluar el sufrimiento de los roedores vs las semanas de infección, la línea roja marca el punto donde debe realizarse el sacrificio humanitario de los roedores. La curva de tendencia esta dada por $y = 4,3746e^{0,1171x}$ con una $R^2 = 0.5543$.

De acuerdo al valor alcanzado en los cuadros del sufrimiento, el patrón de datos obtenidos se asocia a su ecuación con una correlación de 0.5543 y una desviación promedio de 1.173, por lo cual, a la semana 7, tenemos que en el cuadro del seguimiento físico, se alcanzarían los 9.9 puntos en promedio, con una desviación estándar promedio de +/- 1.41, lo que da valores de deterioro de 11.3 y 8.5, por lo que es posible que algunos hospederos alcancen los 12 puntos ya que en las tablas se obtienen números enteros, lo que indicaría que algunos roedores alcancen su límite crítico a las siete semanas post infección y por lo tanto no se encuentren en condiciones para mantenerlos en experimentación.

Al relacionar los datos de las figuras 11, 12 y 13, se observa que las infecciones experimentales no deben sobrepasar los 46 días, periodo de tiempo que permite un desarrollo promedio de las tenias de 32cm, con una eficiencia de la infección superior al 50 %.

DISCUSIÓN

Un factor crucial en el modelo de teniosis experimental por *T. solium* ha sido la inmunodepresión, en la que se demostró que se favorece la infección de los hámsteres cuando éstos son tratados con esteroides (Gnezdilov, 1957; Verster, 1971; Maravilla *et al.*, 1998). Se han utilizado diferentes protocolos de inmunodepresión que incluyen sueros antilinfocitarios (Verster, 1974), esteroides (Verster, 1974, Pathak y Gaur, 1985), así como antihistamínicos en distintas dosis y vías de administración (Verster, 1974; Pathak y Gaur, 1985); sin embargo, se ha observado que los esteroides son los únicos fármacos que permiten una mejor recuperación de ejemplares de *T. solium* (Verster, 1974; Pathak y Gaur, 1985; Sato y Kamiya, 1989; Ávila *et al.*, 2006).

Se han ensayado otros inmunodepresores no esteroides en modelos de cestodos en céstodos en roedores, como es el caso del modelo experimental ratón/*Hymenolepis*, en el que se observó que la ciclosporina A, independientemente de la dosis utilizada para generar inmunodepresión, presentó un efecto cestocida, ya que esta droga inhibe la transducción de señales de la calcineurina de los gusanos (Roberts *et al.*, 1997). Por ello, aunque este fármaco es un potente inmunodepresor, por su acción cestocida fue descartado para su evaluación en el modelo experimental de teniosis. Se decidió evaluar el MMF y el MTX como inmunodepresores, ya que ambos han sido empleados exitosamente como inhibidores de la respuesta inmunológica celular y su uso crónico presenta efectos secundarios menores, además de su amplia disponibilidad en el mercado (Grim *et al.*, 2003; Shipkova *et al.*, 2005).

El MMF es un inhibidor potente, reversible de la inosin-monofosfato deshidrogenasa, por lo que bloquea la síntesis de *ново* de los nucleótidos de la guanosina (Shipkova *et al.*, 2005), tiene un efecto citostático potente en los linfocitos y por lo tanto inmunodeprime la respuesta celular del sistema inmunológico, ya que la proliferación de los linfocitos T y B depende en

forma crítica de la síntesis de *novo* de las purinas, mientras que otros tipos de células pueden utilizar vías alternas.

Sin embargo Qiu *et al.*, en el 2000 demostraron que el MMF puede generar una disminución del GTP, lo que conlleva a un decremento en el ATP. Durante la evaginación de los cisticercos con este fármaco, es probable que el MMF disminuyera los niveles de GTP y ATP, por lo cual solo la mitad de los cisticercos evaginaron. Por otra parte, debido a que en el cuello de la tenia se presenta una tasa alta de crecimiento y diferenciación celular (Presas *et al.*, 2005), podemos suponer que este parásito debe requerir vías de síntesis de *novo* de bases nitrogenadas por lo que, los pocos cisticercos que pudieron haberse establecido no se desarrollaron ya que el MMF afectó la síntesis de las bases nitrogenas e inhibió el crecimiento celular. Otra posibilidad que explique el efecto de este medicamento sobre las tenias, es que al dar el fármaco por vía oral, este simplemente le resultó tóxico e irritante al estróbilo del parásito conduciendo a su expulsión.

El MTX actúa por inhibición de la enzima dihidrofolato-reductasa, la cual transforma el ácido fólico inactivo en tetrahidrofolatos, que participan como portadores de radicales con un átomo de carbono, como los grupos formilo y metilo en la síntesis de nucleótidos purínicos y timidilato (Grim *et al.*, 2003). Por lo tanto, el MTX interfiere en la síntesis de DNA y afecta a las células con alta tasa de proliferación como son las células del sistema inmunológico. Aunque este fármaco no se ha empleado en el modelo experimental de teniosis, ha sido usado para inmunodeprimir a cobayos infectados con larvas de *Dictyocaulus viviparus* (Kumar *et al.*, 1979) observando que aunque es capaz de generar una disminución en la respuesta inmunológica celular, disminuye la carga parasitaria durante el transcurso de la infección, sugiriendo que este fármaco afectó el desarrollo de los parásitos.

También se ha descrito la importancia de la glucólisis entre los céstodos, como la ruta principal de generación de energía (Smyth y McManus, 1989) y se han identificado perfiles de

isoenzimas que sugieren una gran actividad enzimática específica para los distintos estadios de *T. solium*, caso concreto se presenta en la transformación de malato a oxalacetato por las enzimas malato deshidrogenasa y enzima málica, la primera se activa en presencia de oxígeno y se expresa de forma importante en los cisticercos de *T. solium*, y la enzima málica, que se activa en condiciones de anaerobiosis, se expresa principalmente en la tenia adulta (Maravilla *et al.*, 2003). Se ha documentado que el MTX inhibe la actividad de la malato deshidrogenasa *in vitro* (Bastos *et al.*, 1990); por lo que es probable que en nuestro sistema, el MTX hubiera disminuido el potencial energético requerido para la evaginación de los cisticercos, a través de la reducción de la actividad de la malato deshidrogenasa, además los cisticercos que si se hubieran anclado en el intestino delgado del hospedero no lograron desarrollarse, ya que además de la disminución del potencial energético, se sumó el efecto inespecífico de este fármaco sobre la inhibición de la síntesis de DNA de las células con alta proliferación que constituyen el estróbilo de la tenia.

Respecto al seguimiento del sufrimiento de los animales, se observó que tanto el MTX como el MFF, prácticamente no afectaron el estado físico de los hámsteres. Aunque fue evidente que en la primera y segunda semana post infección se generó un incremento ligero en el estrés, de algunos roedores de los tres grupos, debido en parte a que los roedores no estaban acostumbrados al manejo, lo que produjo cierto grado de estrés en los animales, pero una vez familiarizados con este los roedores presentaron una mayor comodidad en cuanto a su manejo, lo que se reflejó en valores bajos en la valoración física de los hámsteres inmunodeprimidos con MTX y MFF en la segunda a cuarta SPI, pero el desgaste físico se incrementó conforme avanzó el tiempo, ya que se acumularon algunos efectos secundarios, propios de los inmunodepresores, lo cual sucedió en las quinta y sextas semanas post infección, sin que presentara un desgaste físico grave en los roedores de estos grupos.

En cuanto al AMP se observó una clara curva dosis-respuesta, en la cual de la primera a la cuarta SPI, los animales se vieron estables, y después se incrementaron marcadamente los indicadores de sufrimiento (quinta a sexta semana post infección) cuando se observó que los roedores perdieron peso, presentaron escurrimiento nasales y la presencia de zonas alópecicas, por lo cual de haber continuado el experimento, a la 7 SPI, el valor promedio en la valoración del estado físico de los hámsteres, se hubiera ubicado en los 9.9 puntos, aunque si consideramos que la desviación estándar de los valores semanales fluctuó entre 1.41 y .081, tendríamos entonces que algunos hámsteres hubieran alcanzado su límite físico y deberían ser sacrificados, razón por la cual se sacrificaron los roedores a este tiempo. Para la octava SPI solo algunos roedores podrían continuar con la infección, ya que muchos rebasarían los 11 puntos en la escala del sufrimiento y a las 9 SPI la mayoría de los roedores tendría que ser sacrificados por alcanzar 12 puntos en la escala del sufrimiento. En cuanto a las proyecciones realizadas sobre la eficiencia de la infección mostraron que a las siete semanas (figura 11) se presenta una eficiencia promedio de infección de 55 %, y de acuerdo a la figura 12 se obtienen ejemplares adultos de *T. solium* con una longitud promedio de 28.2 cm, (R^2 de 0.78), y a las 8 SPI con una longitud de 32 cm.

En el modelo de chinchilla / *T. solium* se ha documentado que estos roedores comienzan a arrojar proglótidos grávidos a partir de la 9 SPI (Garza, 2001; Avila *et al.*, 2006), aunque las chinchillas reciben menor dosis de AMP que los hámsteres (1 mg/100gr) y pueden mantener la infección hasta 12 SPI y desarrollar tenias grávidas. Al comparar la duración de la infección en ambos modelos, se observa que en el hámster dorado, independientemente de las limitantes fisiológicas que se han sugerido de que este animal no es capaz de desarrollar tenias grávidas, como son el tamaño reducido en la longitud del intestino o de problemas por escasos nutrientes en la luz intestinal (Aguilar, 1995; Maravilla *et al.*, 1998; Terán 2005), el hámster dorado no

puede estar infectado por más de 8 SPI, por lo que no es un modelo óptimo para desarrollar tenias grávidas, aunque este modelo puede servir para estudiar la relación hospedero parásito.

Es importante estudiar nuevos inmunodepresores que no generen un sufrimiento exacerbado de los hospederos experimentales empleados en los modelos de teniosis debidas a *T. solium*, ya que actualmente con el empleo de AMP se presentan índices de mortalidad que van del 10 al 40 % (Verster, 1974; Ávila, 1992; Aguilar, 1995), además de que los roedores experimentan una disminución en su calidad de vida, bajan de peso, alteran su conducta y sufren infecciones secundarias, todo esto debido al empleo periódico de AMP, aunque en los modelos de teniosis sigue siendo necesario su uso, ya que incrementan la recuperación de tenias, resalta la necesidad de realizar un seguimiento cuidadoso de los hospederos, con el fin de llevar un cuidado de su integridad física.

Finalmente, la tendencia actual sobre el bienestar de los animales, ha logrado que las principales revistas de investigación en parasitología establezcan en sus lineamientos de publicación que si emplean animales, se refiera que se contó con el respaldo y aprobación de un comité para el cuidado de los animales de laboratorio. También existen publicaciones periódicas que invitan a las instituciones científicas a evaluar el estrés de los animales de experimentación y a evitar su sufrimiento (Hopkin, 2006).

CONCLUSIONES

En MMF y el MTX causaron un daño mínimo a los hámsteres infectados con *T. solium* a lo largo de las seis semanas del estudio, daño que fue menor al causado por el AMP, sin embargo, a diferencia del AMP que si favoreció el desarrollo de ejemplares de *T. solium*, con MFF y MTX no se desarrollaron tenias.

En hámsteres inmunodeprimidos con AMP e infectados con cisticercos *T. solium* se observa un decaimiento pronunciado en su estado físico en las dos ultimas semanas, por lo que a los 42 días post infección no se alcanza el punto critico de desgaste físico, sin embargo se recomienda no llevar a más de 56 días la infección, ya que muy probablemente a este tiempo se alcancé el punto crítico de desgaste físico y sufrimiento grave.

Se sugiere que se prueben otras vías de administración no orales con distintas dosis de los inmunodepresores no esteroideos evaluados en esta tesis, así como otros fármacos que presenten menores efectos secundarios que el AMP y que no presenten un efecto cestocida.

Anexo 1:

Valores recabados del seguimiento semanal de los roedores inmunodeprimidos con MFF

Característica / No de animal	semana 1				semana 2				semana 3			
	3	5	8	13	3	5	8	13	3	5	8	13
Peso (g)	1 173	1 206	1 213	0 197	1 175	1 205	1 202	1 197	1 178	0 211	0 222	0 205
Piel	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0
Actitud	0	3	0	3	3	3	3	1	0	0	0	0
Postura	1	1	2	2	2	2	1	0	3	3	3	0
Descargas oculó-nasales	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1
Respiración	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1
Temblores	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
Pupilas	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Vocalización	2	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2
Observaciones	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Total individual	5	5	5	5	6	6	6	5	6	4	5	5
Promedio por grupo	5				5.75				5			
Desviación estándar por grupo:	0				0.5				0.81			

Característica / No de animal	semana 4				semana 5				semana 6			
	3	5	8	13	3	5	8	13	3	5	8	13
Peso (g)	1 178	0 211	0 223	0 199	0 182	1 202	0 230	0 206	1 174	0 217	0 228	0 200
Piel	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1
Actitud	0	0	3	0	3	1	1	3	3	3	0	0
Postura	1	0	1	1	1	3	3	1	1	1	1	1
Descargas oculó-nasales	1	1	0	1	1	1	1	0	1	1	1	1
Respiración	0	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0
Temblores	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Pupilas	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3
Vocalización	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	2	0
Observaciones	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Total individual	4	4	5	4	6	7	6	5	7	6	6	6
Promedio por grupo	4.25				5.75				6.25			
Desviación estándar por grupo:	0.5				0.95				0.5			

Anexo 2:

Valores recabados del seguimiento semanal de los roedores inmunodeprimidos con MTX

Característica / No de animal	semana 1					semana 2					semana 3				
	2	7	9	10	11	2	7	9	10	11	2	7	9	10	11
Peso (g)	1 210	1 210	1 145	1 189	1 174	1 201	1 210	1 148	1 188	1 173	0 213	0 208	0 154	1 189	0 179
Piel	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0
Actitud	0	0	3	0	3	0	3	0	1	0	0	0	3	3	0
Postura	1	2	0	2	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Descargas oculó-nasales	0	0	0	1	1	2	1	1	0	0	1	1	1	1	1
Respiración	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0
Temblores	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Pupilas	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2	0	0	0	0	2
Vocalización	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0
Observaciones	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	1	0	0	1
Total individual	4	4	5	4	5	5	7	5	5	5	5	5	5	6	5
Promedio por grupo	4.4					5.4					5.2				
Desviación estándar por grupo	0.54					0.89					0.44				

Característica / No de animal	semana 4					semana 5					semana 6				
	2	7	9	10	11	2	7	9	10	11	2	7	9	10	11
Peso (g)	0 216	0 209	0 148	1 184	1 178	0 222	0 216	0 156	1 190	0 187	0 221	0 218	0 161	0 197	0 186
Piel	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	2	1	1
Actitud	0	0	3	0	0	3	0	3	3	3	1	3	3	3	3
Postura	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Descargas oculó-nasales	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1	1
Respiración	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0
Temblores	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Pupilas	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
Vocalización	0	2	0	0	2	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0
Observaciones	1	0	1	0	0	0	1	0	1	1	1	1	0	1	1
Total individual	4	5	7	4	5	6	5	6	8	7	7	7	8	7	8
Promedio por grupo	5					6.4					7.2				
Desviación estándar por grupo	1.22					1.14					0.44				

Anexo 3:

Valores recabados del seguimiento semanal de los roedores inmunodeprimidos con AMP

Característica / No de animal	semana 1				semana 2				semana 3			
	1	4	6	12	1	4	6	12	1	4	6	12
Peso (g)	1 201	1 180	1 160	1 158	1 203	1 184	1 161	1 155	2 193	1 176	1 157	1 151
Piel	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	1
Actitud	3	3	1	3	3	2	1	2	1	1	3	3
Postura	1	1	1	1	1	1	1	2	1	1	0	0
Descargas oculó-nasales	0	0	1	1	1	1	1	0	1	1	0	0
Respiración	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Temblores	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Pupilas	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Vocalización	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Observaciones	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	1	1
Total	6	5	4	7	6	6	4	6	7	6	5	6
Promedio por grupo	5.5				5.5				6			
Desviación estándar por grupo	1.29				1				0.81			

Característica / No de animal	semana 4				semana 5				semana 6			
	1	4	6	12	1	4	6	12	1	4	6	12
Peso (g)	2 182	1 156	1 174	1 148	2 185	2 172	2 154	2 142	2 185	3 163	2 150	2 143
Piel	2	1	1	1	1	2	1	2	1	2	2	2
Actitud	0	1	1	1	0	3	3	3	3	0	0	3
Postura	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Descargas oculó-nasales	1	0	0	1	1	1	0	0	1	1	1	1
Respiración	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Temblores	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Pupilas	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	3	0
Vocalización	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Observaciones	1	0	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1
Total	8	6	5	6	6	9	8	9	8	11	10	10
Promedio por grupo	6.25				8				9.75			
Desviación estándar por grupo	1.26				1.41				1.25			

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguilar Vega L. 1995.** Efecto de la carga parasitaria y la dosis del esteroide metil prednisolona en el desarrollo del estadio adulto de *Taenia solium* en el modelo experimental del *Mesocricetus auratus*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias UNAM. 84 p.
- Alexander J. y Stimson H. W. 1988.** Sex hormones and the course of parasitic infection. *Parasitology Today*. 4: 189-193.
- Allan J. C. y García-Domínguez C. 1991.** Sexual development of *Taenia solium* in hamsters. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*. 85: 573-576.
- Aluja A. y Vargas G. 1988.** The histopathology of porcine cysticercosis. *Veterinary Parasitology*. 28: 65-77.
- Animal Care Committee. 2005** Guidelines-Humane experimental endpoints, version 1.0. U.S.
- Avila G., L. Aguilar., S. Benítez., L. Yopez. M., I. Lavenat y Flisser A. 2002.** Inflammatory responses in the intestinal mucosa of gerbils and hamsters experimentally infected with the adult stage of *Taenia solium*. *International Journal for Parasitology* 32: 1301-1308.
- Ávila Ramírez G. 1992.** Detección de antígenos de *Taenia solium* en heces por un método inmunoenzimático. Tesis de Maestría en Ciencias Biomédicas, área Inmunología. Facultad de Medicina UNAM. 126 p.
- Ávila Ramírez G. 2003.** Participación de las células cebadas en la expulsión del estadio adulto de *Taenia solium* en los modelos experimentales del hámster dorado y el gerbo mongol. Tesis de Doctorado en Ciencias. Facultad de medicina UNAM. 64 p.
- Avila G., Teran N., Aguilar-Vega L., Maravilla P., Mata-Miranda P., Flisser A. 2006.** Laboratory animal models for human *Taenia solium*. *Parasitology international*. 55: 99-103.
- Barbuto D., Kim Y.B., Lagasse L.D., Karlan B.Y. 1996.** Successful treatment of neuroendocrine small cell carcinoma of the cervix metastatic to regional lymph nodes. *Gynecologic Oncology*. 62:411-4.
- Bastos M.T., Oliveria M.B., Campello A.P., Kluppel M.L. 1990.** Methotrexate: studies on cellular metabolism. IV. Effect on the mitochondrial oxidation of cytosolic-reducing equivalents in HeLa cells. *Cell Biochemistry and Function*. 4:199-203
- Benítez Guzmán, M. 1996.** Estudio de la respuesta inmune humoral en el modelo experimental de *Taenia solium* en el hámster dorado. Tesis de Licenciatura. Facultad de Química UNAM. 112 p.
- Buckwell T, en: Dolan K. 1999.** *Ethics, animals and science*. Blackwell Science: Great Britain, p 160.

- Bruce N. Cronstein, Mark A. Eberle, Harry E. Gruber and Richard I. Levin. 1991.** Methotrexate inhibits neutrophil function by stimulating adenosine release from connective tissue cells. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 88:2441-2445.
- Bruce N. Cronstein, Qwight Naime, and Edward Ostad. 1993.** The anti-inflammatory mechanism of methotrexate. Journal of Clinical Investigation. 92: 2675-2682.
- Brusca R. y G. Brusca. 1990.** Invertebrates. Ed. Sunderly. EUA. 922 p.
- Castillo A. A. 2000.** Simulación en computadora para un modelo matemático para teniosis-cisticercosis bajo diferentes medidas de control. Tesis de Maestría. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM. 70 P.
- Cheng, T.C., 1978.** Parasitología General. Ed. AC. Madrid. 474-542.
- Correa D., Laclette, J.P. Rodriguez-del Rosal, E., Merchant, M., y Flisser, A. 1987.** Heterogeneity of *Taenia solium* cysticerci obtained from different naturally infected pigs. Journal Parasitology. 73: 443-445.
- Davidsohn. 1978** Todd-Sanford-Diagnóstico y tratamiento clínico por el laboratorio. Salvat. 2262p.
- DECRETO LEY DE PROTECCIÓN A LOS ANIMALES DEL DISTRITO FEDERAL.**
Gaceta del Gobierno del Distrito Federal. 21 de noviembre de 2002.
- Dolhain R.J., Tak P.P., Dijkmans B.A., De Kuiper P., Breedveld F.C., Miltenburg A.M. 1998.** Methotrexate reduces inflammatory cell numbers, expression of monokines and of adhesion molecules in synovial tissue of patients with rheumatoid arthritis. British Journal of Rheumatology. 37:508.
- Engels D., Urbani C., Belotto A., Meslin F. y Savioli L. 2003.** The control of human neurocysticercosis: which way forward? Acta Tropica. 87: 177-182.
- Conseil Canadien de Protection des Animaux. 1998.** Examples of observational checklist used to determinated endpoints. Canada.
- Flisser A. 1994.** Taniasis and cysticercosis due to *Taenia solium*. En: Progress in Clinical Parasitology. Ed. CRC Press, NY,USA. 77-116.
- Flisser A., Madrazo I. y Delgado H. 1997.** Cisticercosis humana. Ed. Manual Moderno. México, DF. 176p.
- Flisser A., Viniegra A.E., Aguilar-Vega L., Garza-Rodriguez A., Maravilla P., Avila G. 2004.** Portrait of human tapeworms. Journal of Parasitology. 90:914-6.

- García H., González A. E., Gavidia C., Falcon N., Bernal T., Verastegui M., Rodríguez M., Tsang V. C. W y Gilman R. H. 2003.** Seroincidence of porcine *Taenia solium* infection the peruvian highs. Preventive Veterinary Medicine.57: 227-236.
- Gardiner M.S. 1978.** Biología de los Invertebrados. Ed. Omega Barcelona, España. 940 p.
- Garza Rodríguez A. 2001.** Desarrollo de *Taenia solium* en el modelo experimental de *Chinchilla laniger*. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. 63 p.
- Gnezdilov V. G.1957.** The golden hamster (*Mesocricetus auratus*) as potential definitive host of tapeworm *Taenia solium*. Zoologicheski Zh. 36: 1770-1773.
- Goodman Gilman A., Roll T.W., Nies A.S., Taylor P. 1991.** Las bases farmacológicas de la terapéutica, 8va. Ed. Editorial médica panamericana USA,
- Grbovic L., Radenkovic M. 2005.** Therapeutic use of glucocorticoids and immunosuppressive agents. Srpski arhiv za celokupno lekarstvo. 133 Suppl 1:67-73.
- Grim J., Chladek J., Martinkova J. 2003.** Pharmacokinetics and pharmacodynamics of methotrexate in non-neoplastic diseases. Clinical Pharmacokinetics. 42:139-51.
- Hopkin M. 2006.** Animal research reporting set for shift. News@nature.com. http://www.nature.com/news/2006/060403/pf/060403-5_pf.html
- Jian X., Sen L., Hui-Quin Q., Hai-Nana R., Tie-Hua L., Hai-Chou X., Hotez J.P. y Xiao Shu-Hua. 2003 a.** *Necator americanus*: maintenance through one hundred generations in golden hamsters (*Mesocricetus auratus*) I. Host sex-associated differences in hookworm burden and fecundity. Experimental Parasitology. 104:62-66.
- Jian X., Sen L., Hui-Quin Q., Hai-Nana R., Tie-Hua L., Hai-Chou X., Hotez J.P. y Xiao Shu-Hua. 2003 b.** *Necator americanus*: maintenance through one hundred generations in golden hamsters (*Mesocricetus auratus*) II. Morphological development of the adult and its comparison with humans. Experimental Parasitology. 105:192-200.
- Jie L. Y., Zhang L. Q., y Yan-Hong H. 2003.** Morphological changes to early stage *Taenia solium* cysticercosis following oxfendazole treatment. Veterinary Journal. 165: 73-77.
- Karl J. Field, Amber L. Sibold 1999.** The Laboratory Hamster & Gerbil. CRC Press.149p.
- Kitaoka M., Oku, Y., Okamoto M. y Kamiya, M. 1990.** Development and sexual maturation of *Taenia crassiceps* (cestoda) in the golden hamster. Journal of Parasitology. 6: 399-402.
- Klein S.L. 2004.** Hormonal and immunological mechanisms mediating sex differences in parasite infection. Parasite Immunology. 26: 247-264.

- Kumar V., Geerts S., Jochems M., Ceulemans F. 1979.** The effect of immunosuppressive therapy on the course of development of *Dictyocaulus viviparus* in guinea-pigs. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*. 5:331-339.
- Maravilla Campillo J. P. 1996.** Desarrollo de *Taenia solium* en diferentes modelos experimentales. Tesis de Licenciatura. Facultad de Química UNAM. 81 p.
- Maravilla P., Ávila G., Cabrera V., Aguilar L. y Flisser A. 1998.** Comparative development of *Taenia solium* in experimental models. *Journal of Parasitology*. 84: 882-886.
- Matsuo K., Nonaka N., Oku Y. y Kamiya M. 2000.** dose dependency of prednisolone tertiary butylacetate (PTBA) treatment on the establishment and site predilection of *Echinococcus multilocularis* in an alternative definitive host model using Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*). *Parasitology research*. 86: 21-523.
- Millan O., Oppenheimer F., Brunet M., Vilardell J., Rojo I., Vives J., Martorell J. 2000.** Assessment of mycophenolic acid induced immunosuppression: a new approach. *Clinical chemistry*; 46:9;1376-1383.
- Monroy-Ostria A., Monroy- Ostria, T.J., Gómez G.J. y Hernández M.O. 1993.** Some studies on the experimental infection of golden hamsters with *Taenia solium*. *Revista Latinoamericana de Microbiología*. 35: 91-98.
- Morales Montor, J., Baig, S., Mitchell R., Deway K., Hallal-Calleros C. y Damian, R. T. 2001.** Immunoendocrine interactions during chronic cysticercosis determine male mouse feminization: Role of IL-6. *Journal of Immunology*. 167: 4257-4533.
- Norma Oficial Mexicana NOM-033-ZOO-1995.,** Sacrificio humanitario de los animales domésticos y silvestres. *Diario Oficial de la Federación*, 16 de julio de 1997.
- Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999.** Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. *Diario Oficial de la Federación*, 22 de agosto de 2001.
- Okada A. 2005.** Immunomodulatory therapy for ocular inflammatory disease: a basic manual and review of the literature. *Ocular Immunology and Inflammation*. 5:335-51.
- Pathak K. M. L. and Gaur S.N.S. 1985.** Effect of immunosuppressants and antihistaminics on the development of *Taenia solium* in golden hamsters. *Indian Journal of veterinary medicine*. 5: 1
- PLM. 2001./** **Diccionario de especialidades farmaceuticas.** Editorial PLM, S.A. de C.V. México D.F. 2392p.
- Presas A.M., Robert L., Jimenez J.A., Willms K. 2005.** Apoptosis patterns in experimental *Taenia solium* and *Taenia crassiceps strobilae* from golden hamsters. *Parasitology Research*. 96(1):1-5.

- Qiu Y., Fairbanks L.D., Ruckermann K., Hawrlowicz C.M., Richards D.F., Kirschbaum B., Simmonds H.A. 2000.** Mycophenolic acid-induced GTP depletion also affects ATP and pyrimidine synthesis in mitogen-stimulated primary human T-lymphocytes. *Transplantation*. 69:890-7
- Rabiela M., Hornelas Y., García-Allan C., Rodríguez R. E. y Flisser A. 2000.** Evagination of *Taenia solium* cysticerci: A histologic and electron microscopy study. *Archives of Medical Research*. 31: 605-607.
- Roberts H.C., Sternberg J.M., Chappell L.H. 1997.** Characterization of calcineurin from *Hymenolepis microstoma* and *H. diminuta* and its interaction with cyclosporin A. *Parasitology*. 114 279-83
- Rubio I.T., Cao Y., Hutchins L.F., Westbrook K.C., Klimberg V.S. 1998.** Effect of glutamine on methotrexate efficacy and toxicity. *Annals of Surgery*. 227:772-8.
- Santamaría E. Plancarte A. y Aluja A. 2002.** The experimental infection of pigs with different numbers of *Taenia solium* eggs: immune response and efficiency of establishment. *Journal of Parasitology* 88:69-73.
- Sato H. y Kamiya M. 1989.** Viable egg production of *Taenia crassiceps* developed in the intestine of prednisolone-treated golden hamsters. *Japan. Journal Parasitology*. 38:46-53.
- Sato H. y Kamiya M. 1990. a.** Survival, strobilation and sexual maturation of *Echinococcus multilocularis* in the small intestine of golden hamsters. *Parasitology*. 100: 125-130.
- Sato H. y Kamiya M. 1990 b.** Establishment, development and fecundity of *Taenia crassiceps* in the intestine of prednisolone-treated Mongolian gerbils and inbred mice. *Journal of Helminthology*. 64: 217-222.
- Sciutto E., Fragoso G., Fleury A., Laclette J.P., Sotelo J., Aluja A., Vargas L., Larralde C. 2000.** *Taenia solium* disease in humans and pigs: an ancient parasitosis disease rooted in developing countries and emerging as a major health problem of global dimensions. *Microbes Infect*. 2:1875-90.
- Smyth J. D. y McManus D. P. 1989.** The physiology and biochemistry of cestodes. Cambridge University Press. New York. 398p..
- Scharman W. 2001.** Physiological and ethological aspects of the assessment of pain, distress and suffering. *Institut für Gesundheitlichen Verbraucherschuts und Veterinarmedizin*. 1 D-12277.
- Shipkova M., Armstrong V.W., Oellerich M., Wieland E. 2005.** Mycophenolate mofetil in organ transplantation: focus on metabolism, safety and tolerability. *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*. 1:505-26.

- Terán Hernández N. 2005.** Principales variables que afectan el desarrollo de *Taenia solium* en el modelo experimental de hámster dorado (*Mesocricetus auratus*) Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias UNAM. 50 p.
- Uharek L., Gassmann W., Fleischhauer D., Wottge H.U., Loeffler H., Mueller-Ruchholtz W. 1991.** Effect of post-transplant methotrexate, cyclosporin A and prednisolone on graft rejection after allogeneic bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 7:17-22.
- Van Gelder T., Klupp J., Barten M.J., Christians U., Morris R.E. 2001.** Comparison of the effects of tacrolimus and cyclosporine on the pharmacokinetics of mycophenolic acid. *Therapeutic drug monitoring.* 23:119-28.
- Verster A. 1971.** Preliminary report on the golden hamster as a definitive host of *Taenia solium* Linnaeus, 1758 and *Taenia Saginata* Goeze, 1782. *Onderstepoort Journal Veterinary Research.* 38: 63-64.
- Verster A. 1974.** The golden hamster as a definitive host of *Taenia solium* and *Taenia saginata*. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research.* 41: 23-28.
- Wang I. C. J., Guo, Y. X., Ma, W. C., Chung S. C. y Fan P. C. 1999.** Sexual development of *Taenia solium* in hamsters from rodent-derived cysticerci. *Journal of Helminthology.* 73: 347-350.