



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE CIENCIAS

REGULACIÓN NEUROINMUNOENDÓCRINA DE LA  
MOTILIDAD INTESTINAL DURANTE LA INFECCIÓN AGUDA  
POR *Trichinella spiralis*

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

B I Ó L O G O  
P R E S E N T A:

ARMANDO TREJO RODRÍGUEZ



DIRECTOR DE TESIS:  
DR. JORGE MORALES MONTOR  
2014



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.

## ÍNDICE

1. Sistema Endócrino y Sistema Inmunológico
  - 1.1 Red Neuroinmunoendócrina en el Tracto Gastrointestinal
  - 1.2 El tracto Gastrointestinal
  - 1.3 Innervación simpática y parasimpática
  - 1.4 Inmunidad de la mucosa del Tracto Gastrointestinal
  - 1.5 Regulación Endócrina del Tracto Gastrointestinal
  - 1.6 Red Neuroinmunoendócrina en infecciones parasitarias; respuesta inmune asociada a la fase aguda por *T. spiralis*.
2. *Trichinella spiralis*
  - 2.1 Clasificación taxonómica
  - 2.2 Ciclo de Vida
  - 2.3 Infección por *T. spiralis*
  - 2.4 Aspectos Clínicos
  - 2.5 Epidemiología
3. Hipótesis
4. Objetivos
  - 4.1 Objetivo General
  - 4.2 Objetivos Particulares
5. Diseño Experimental
  - 5.1 Obtención de grupos de Animales experimentales
  - 5.2 Obtención y mantenimiento del Ciclo de vida de *Trichinella spiralis*
  - 5.3 Infección
  - 5.4 Vagotomía (Vgx)
  - 5.5 Recuperación
  - 5.6 Eutanasia y obtención de tejidos
  - 5.7 Cuenta de parásitos intestinales
  - 5.8 Citometría de Flujo
  - 5.9 Análisis estadístico
6. Resultados
  - 6.1 Carga parasitaria
  - 6.2 Sub-poblaciones celulares (Citometría de Flujo)
7. Discusión
8. Conclusión
9. Bibliografía (Referencias Bibliográficas)

## Resumen

*Trichinella spiralis*, es un helminto parásito de importancia médica y veterinaria. Tan solo en México, se reportan anualmente alrededor de 2500. Mas de 11 millones de personas se encuentran infectadas por *Trichinella spiralis*. Durante la infección temprana, las larvas musculares son liberadas en el estómago por acción de los jugos gástricos y migran al intestino. En este sitio, las larvas alcanzan la madurez sexual, copulan y se liberan las larvas recién nacidas. Estas larvas, penetran la pared intestinal para alcanzar la circulación y migrar a músculo esquelético. Una vez en este sitio, se forma nuevamente la célula nodriza y se completa el ciclo de vida. Durante la infección aguda por *T. spiralis*, se induce una respuesta inmunológica de tipo TH2, caracterizada por la producción de IL-4, IL-5, IL-7, IL-9 e IL-13, las cuales incrementan la motilidad intestinal y estimulan a las células caliciformes para producir una mayor cantidad de mucinas. La expulsión de las larvas se favorece con una incrementada motilidad intestinal y una elevada producción de moco. Debido a que estos dos mecanismos están modulados, tanto por la inervación vagal (parasimpática) del tracto gastrointestinal (TGI) como por la respuesta inmune, nosotros analizamos el efecto de la vagotomía sobre la infección aguda por *T. spiralis* y la respuesta inmune asociada a la infección. Para ello, se realizó la vagotomía gastrointestinal por cirugía, y se analizaron las cargas parasitarias en el intestino de ratas Wistar (Control, SHAM, Vagotomizados) y que fueron infectadas con 1200 larvas musculares. A los 5 días post-infección, se determinó el porcentaje de las sub-poblaciones de linfocitos T CD3+, T CD4+, CD8+, células NK y linfocitos B en el intestino delgado, el bazo y los nódulos linfáticos mesentéricos. Nuestros resultados muestran que las cargas parasitarias están disminuidas en un 50% en el grupo de ratas vagotomizadas. Así mismo, observamos una disminución en las poblaciones celulares de tejido en bazo, el grupo de ratas vagotomizadas, las células NK, no se muestran diferencias en las poblaciones CD4+ y CD8+. En el intestino hay una aparente disminución en las poblaciones de CD4+ CD8+. En los NLMs, no se muestran diferencias en ninguna sub-población.

## Lista de Abreviaturas

Buffer de Fosfatos Salino	PBS
Colecistocinina	CCK
Enterocromoafines	EE
Interferon gamma	IFN- $\gamma$
Interleucina	IL
Larva 1	L1
Larva Muscular	LM
Larva Recién Nacida	LRN
Nódulos Linfáticos Mesentéricos	NLM
Peptido Intestinal Vasoactivo	VIP
Post-Vagotomía	PV
Sistema Endócrino	SE
Sistema Endócrino Gastrointestinal	SEG
Sistema Gastrointestinal	SGI
Sistema Inmunológico	SI
Sistema Nervioso	SN
Sistema Nervioso Autónomo	SNA
Sistema Nervioso Central	SNC
Sistema Neuroinmunoendócrino	NIE
Sustancia P	SP
Tejido Linfoide Asociado a Mucosas	MALT
Tejido Linfoide Asociado al Intestino	GALT
Temperatura Ambiente	TA
Tracto Gastrointestinal	TGI
Vagotomía	VGX

## 1 Sistema Endócrino y Sistema Inmunológico

El sistema endócrino (SE) de los mamíferos comprende una compleja red de regulación homeostática, capaz de responder a estímulos externos e internos. Este sistema se encuentra constituido por una gran gama de órganos y tejidos (piel, huesos, páncreas, gónadas, intestino, endotelio vascular, entre otros) comunicados entre sí a través de hormonas y neuropéptidos. Las hormonas que pueden ser de naturaleza química esteroide o protéica, son producidas por células especializadas, organizadas en estructuras tisulares conocidas como glándulas endócrinas. Una vez liberadas al torrente circulatorio, estas sustancias viajan a través del organismo, actuando como mensajeros químicos entre los diversos componentes del sistema endocrino (Hernández-Ruiz et al. 2011). El término "endócrino" fue acuñado por Starling para marcar el contraste entre las hormonas de secreción interna (endócrinas) y las de secreción externa (exócrinas) o secretadas hacia una luz como por ejemplo las del aparato digestivo (Williams 2008).

Su nombre proviene del griego endo- (dentro), segregar y significa "ciencia de las secreciones internas". El sistema endócrino, comprende el conjunto de órganos y tejidos que sintetizan hormonas. El sistema endócrino junto con el sistema nervioso (SN) regula casi todas las actividades metabólicas y homeostáticas del organismo, determinan el ritmo de crecimiento, desarrollo, e influyen sobre muchas formas de conducta y controlan la reproducción. La glándula endócrina es todo órgano o tejido con cierta individualidad anatómica que secreta una o varias hormonas. El término hormona, significa "poner en movimiento" y describe las acciones dinámicas de estas sustancias circulantes que despiertan respuestas celulares y regulan los procesos fisiológicos a través de mecanismos de retroalimentación o "feedback" (Harrison, et al. 2005).

Una multitud de factores influyen en el SE, fundamentalmente a través del SN. Estas relaciones se establecen principalmente entre el SNC y el hipotálamo, pero también mediante el aporte sanguíneo a las glándulas endocrinas mediante la regulación nerviosa de la presión arterial. Otra forma de regulación se realiza a través de una inervación directa de diversas glándulas endócrinas, ya que las terminaciones nerviosas, liberan

neurotransmisores que influyen modulando las mismas; estimulando o inhibiendo a las secreciones endócrinas (Hicks 2000; Harrison, et al 2005).

El sistema Inmunológico (SI) es uno de los sistemas homeostáticos más importantes de los vertebrados superiores, pues se encarga de la defensa del organismo ante agentes invasores externos (como pueden ser virus, bacterias, hongos y parásitos), así como del control de agentes nocivos internos como células transformadas y tumorales. Dada su extraordinaria capacidad de discernir entre lo propio y lo extraño, el SI puede generar respuestas inmediatas, sostenidas y de memoria contra agentes foráneos o propios que hayan sufrido una transformación que comprometa el bienestar del organismo (Abbas 1999). El SI está conformado por órganos inmunes centrales y periféricos. Dentro del primer tipo se encuentran la médula ósea y el timo. Los órganos periféricos del sistema inmune se encuentran representados por las amígdalas, adenoides, ganglios linfáticos, el bazo, el apéndice y las placas de Peyer, así como el sistema linfático asociado a bronquios, intestino y piel. A nivel celular, este sistema se encuentra organizado por miles de células inmunológicas, originadas de un progenitor hematopoyético. Dentro del sistema inmune, existen diversos tipos celulares; los linfocitos que se clasifican en linfocitos T (Th colaboradoras CD4+, T citotóxicos CD8+, y T NK (natural killers), linfocitos B (células plasmáticas productoras de anticuerpos), además de células profesionales presentadoras de antígenos (macrófagos y células dendríticas), y granulocitos (neutrófilos, basófilos y eosinófilos). Dependiendo del estímulo antigénico, estos tipos celulares poseen la capacidad de actuar de manera coordinada, a través del despliegue de la respuesta inmune, que de acuerdo a sus características puede ser clasificada en innata o adaptativa. La respuesta inmune innata es la primera barrera de defensa del organismo y, a diferencia de la adaptativa, no posee memoria antigénica, la cual permite el rápido reconocimiento ante infecciones en el sistema inmunitario (Abbas 1999; Jaenway 2002).

De manera análoga a lo que ocurre en el SE, los órganos y células del SI se comunican mediante citocinas. Las citocinas, que con base en el tipo de respuesta inmune que evoquen pueden ser Th1 (celulares) Th2 (humorales), o Treg (supresoras) son hormonas del sistema inmunitario, capaces de ser reconocidas por receptores específicos localizados

en la membrana de células linfoides y de otros tipos celulares de origen no linfoide. Otras como la Th 17, encargadas de la producción y reclutamiento de neutrófilos, está más enfocada frente a algún agente microbiano y algunos hongos. Dentro de las principales funciones de estos mensajeros químicos se encuentran inducir y regular la respuesta inmune contra un patógeno, inducir proliferación celular, producir una gran variedad de anticuerpos, facilitar procesos fagocíticos, promover destrucción de células transformadas y tumorales, entre otros. Sin embargo, las citocinas no solo actúan sobre tejido típicamente inmune, si no también a nivel de otros componentes del organismo tales como el tejido nervioso, epitelial, hepático, y reproductivo. Hacia finales del siglo XIX, se consideraba que el SI era regulado de forma autónoma (Gaillard 2001; Harrison's 2010). Sin embargo se demostró que en lugar de tres sistemas autónomos e independientes, el sistema neuro-inmuno-endócrino (NIE) funciona como una macro sistema de regulación homeostática, conformado por diferentes células y moléculas mensajeras de distinta naturaleza química, todo perfectamente orquestado en un solo organismo.

Las primeras observaciones de esta estrecha interacción entre los distintos componentes del sistema NIE fueron realizadas en conejos completos y castrados, en donde se observó que la castración inducía un aumento en el tamaño del timo y que esta aparente hipertrofia desaparecía con la administración de andrógenos (Chiodi, 1990; Grossman 1979). Estudios acerca de este macrosistema, se ha descrito que la producción de anticuerpos es mayor en mujeres que en hombres, debido a que los estrógenos son capaces de estimular la respuesta plasmática de células B. De manera complementaria, citocinas como la IL-1 $\beta$  y la IL-6, poseen múltiples efectos sobre neuronas del hipocampo e hipofisarias (Tonelli y Postolache, 2005). Estas estructuras cerebrales, inducen a su vez la producción intestinal de neuropéptidos como el VIP (péptido intestinal vasoactivo, por sus siglas en ingles) la somatostatina y la sustancia P (SP), cuya acción en la regulación de la inflamación sistémica y de mucosas es trascendental para la homeostasis del organismo y la tolerancia inmunológica hacia la flora intestinal normal (Argo y Stanisz, 1995). De manera recíproca, los glucocorticoides son capaces de deprimir la respuesta inflamatoria,

induciendo una disminución en la expresión del interferón gama (IFN- $\gamma$ ) y de IL-12 (Elenkov, 2004).

El tipo de respuesta que se genera ante un reto antigénico depende de las células T cooperadoras (Th) y su patrón de secreción de citocinas (Th1, Th2, Th3, Th17) (Abbas et al., 1991; 1996). Estos subtipos, secretan de manera diferencial cierto tipo de citocinas. Las clonas de linfocitos Th1 producen principalmente interleucina (IL-2), (IFN-  $\gamma$ ), mientras que los linfocitos de tipo Th2 secretan IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, e IL-13 (Mossman y Coffman 1989). La respuesta mediada por linfocitos de tipo Th1, esta involucrada en la inmunidad de tipo celular, y participa en la activación de macrófagos. Por otro lado, las citocinas producidas por los linfocitos de tipo Th2, participan en la respuesta inmune humoral promoviendo la proliferación de linfocitos B (Morales 2006). En el contexto fisiológico del organismo, el sistema inmunológico interactúa con otros sistemas como es el caso de los ejes neuroendócrinos. Diferentes hormonas y neuropéptidos modulan la función inmunológica (Armstrong y Klein 2001; Gaillard 2001). Actualmente se acepta la existencia de una comunicación bidireccional entre el sistema inmune y los ejes neuroendócrinos (Gaillard 2001). Por ejemplo se ha demostrado que la interacción entre el eje Hipotálamo hipófisis-adrenal y el sistema inmune regulan la respuesta de estrés (Armstrong y Klein 2003).

Algunos estudios han demostrado que la respuesta inmunológica muestra un dimorfismo sexual que se puede apreciar en el hecho de que ciertas patologías asociadas al sistema inmunológico, cómo las enfermedades autoinmunes, se presentan preferentemente en un sexo y no en el otro. (Grossman 1989). Es claro que el SI regula y es regulado por el macrosistema neuroendocrino, a través de los distintos mensajeros químicos que lo conforman, así como de la gran gama de receptores y moléculas efectoras y compartidas entre las estirpes de este macrosistema de regulación. (Morales-Montor et al, 2004) (Armstrong et al 2003).

## 1.1 Red Neuroinmunoendócrina en el Tracto Gastrointestinal

Los plexos entéricos que se extienden desde el esófago hasta el recto, controlan el tracto gastrointestinal (TGI) estos plexos son redes formadas por varios filamentos nerviosos o vasculares entrelazados. Numerosos grupos de células ganglionares se interconectan en una red de fibras entre las capas musculares. Los relés sinápticos se localizan en el plexo mientérico de Auerbach y en el plexo submucoso de Meissner. Los plexos de Meissner son gruesos y están compuestos por un entramado de haces gruesos y finos de fibras, que son sus partes primarias, secundarias y terciarias (Khan 2008; Elenkov 2004). Los plexos siguientes aparecen en otras aéreas cubiertas por peritoneo. Los plexos entéricos tienen un patrón variable en diferentes regiones del tracto digestivo. Están menos desarrollados en el esófago y más desarrollados desde el estómago hasta el recto. Las células ganglionares no están distribuidas uniformemente; su presencia es mínima en el plexo de Auerbach y en el esófago, aumentan en el estómago y alcanzan sus valores máximos en el píloro. La distribución es intermedia a lo largo de todo el intestino delgado y aumenta a lo largo del colon y en el recto. La densidad poblacional de células en el plexo de Meissner es paralela al del plexo de Auerbach (Khan 2008).

El nervio vago, contiene fibras parasimpáticas pre-ganglionares que emergen en su núcleo dorsal y se dirigen al esófago, al estómago y las ramas intestinales. Su porcentaje de fibras parasimpáticas eferentes es menor que el de sus fibras sensoriales. Las fibras eferentes preganglionares vagales cuentan con ramificaciones en los ganglios pequeños de las paredes viscerales; los axones son fibras post ganglionares parasimpáticas (Khan 2008). Las ramas gástricas desempeñan funciones secretomotoras en el músculo liso del estómago, salvo en el esfínter pilórico, que se halla inhibido. Las ramas intestinales funcionan de modo similar que en el intestino delgado, en el ciego, el apéndice, y el colon, son secretomotoras para las glándulas y motoras para el músculo liso intestinal e inhiben el esfínter. Los plexos entéricos contienen fibras simpáticas post ganglionares y parasimpático pre y post ganglionares, fibras aferentes y células ganglionares intrínsecas (Harrison 2008). Las fibras pre ganglionares simpáticas son transmitidas a los ganglios para y pre vertebrales; por consiguiente, las fibras simpáticas de los plexos son post

ganglionares y pasan a través de ellas y de sus terminaciones sin interrupciones sinápticas. Las fibras aferentes del esófago, el estómago y el duodeno se dirigen al tronco cerebral y a la médula a través del nervio vago y simpático, pero no forman conexiones sinápticas con las células ganglionares de los plexos entéricos (Harrison 2008). A excepción de las células intersticiales de Cajal, en los plexos entéricos existen dos formas principales de células nerviosas, los tipos 1 y 2. Las células intersticiales de Cajal son células marcapasos en los músculos lisos del intestino y se asocian con los plexos basales de todos los nervios autónomos. Las células de tipo 1 son multipolares y se limitan al plexo de Auerbach y sus dendritas se ramifican cerca de las células precursoras. Sus axones avanzan distancias variables a través de los plexos para establecer sinapsis con las células de tipo 2, las cuales son más numerosas y se encuentran en los plexos de Auerbach y Meissner (Khan 2008). La mayoría de células de tipo 2 son multipolares y sus dendritas más largas discurren en haces durante distancias variables antes de ramificarse en otras agrupaciones celulares. Otros muchos axones pasan externamente para acabar en el músculo, y otros internamente para inervar la mucosa muscular y ramificarse alrededor de los vasos sanguíneos y entre células secretoras epiteliales. Su distribución sugiere que son de naturaleza motora o secretomotora (Harrison 2008); (Khan 2008).

En condiciones experimentales, se producen movimientos peristálticos en porciones aisladas en el intestino, lo cual indica la relevancia de los mecanismos neuromusculares intrínsecos, si bien los nervios extrínsecos son probablemente esenciales para una regulación coordinada de todas las actividades intestinales. Los movimientos peristálticos son defectuosos o ausentes en el segmento afectado, lo que indica la importancia del mecanismo neuromuscular intrínseco ocasionado también por la inervación del nervio vago (Khan 2008).

## 1.2 El tracto Gastrointestinal TGI

El tracto gastrointestinal (TGI) está compuesto por un canal que viaja a través de la boca y llega hasta el ano y está asociado a órganos glandulares los cuales integran este canal. El TGI está compuesto principalmente por iones y agua, las cuales ayudan a convertir el bolo alimenticio en una solución acuosa, posee moléculas que pueden ser transportadas a través de la sangre. En el TGI ocurren procesos fisiológicos de suma importancia para el procesamiento del alimento; dentro de estos procesos encontramos a la motilidad, la secreción, digestión, absorción, y eliminación (Helen 2011; Stephen 2008).

Brevemente, la comida que es llevada a la boca contiene macromoléculas que no pueden ser absorbidas por el organismo, la comida sufre un proceso de trituración en la boca el cual pasa al TGI, convirtiéndose en bolo alimenticio y este, gracias a la ayuda de iones y agua pueden entrar al estómago, a esta actividad se le conoce como motilidad. Las enzimas convierten las macromoléculas en moléculas absorbibles por el organismo proceso el cual llamamos digestión; los productos de la digestión, así como las secreciones de las partes superiores del tracto gastrointestinal, son transportados a través del epitelio para entrar en la sangre o la linfa mediante un proceso denominado absorción (Stephen 2008). Después de haber ocurrido todos estos procesos, las secreciones contenidas desde la boca hasta el ano, son eliminadas gracias a la motilidad del TGI (Helen 2011, Stephen 2008).

El hígado está anatómicamente acoplado al TGI, a través de la circulación y el árbol biliar. Tiene numerosas funciones vitales, tales como formación de las secreciones biliares, consumo y almacenamiento de nutrientes, generación de proteínas y desintoxicación (Harrison 2008). Las funciones principales del TGI y del hígado son regular tres principales mecanismos: parácrinos, endócrinos, y neurales. La regulación endocrina, describe procesos por los cuales las células detectan o responden a estímulos liberados o contenidos en la circulación sanguínea de células distantes (fig. 1). Una respuesta neural o neurócrina, está mediada por la liberación de neurotransmisores a través de nervios (fig.2). Un ejemplo de respuesta neural es la respuesta a estímulos mediante sensores

neuronales, como la detección de la presencia de nutrientes, los ácidos gástricos en el lumen del intestino, el estiramiento y contracción del intestino delgado y de la pared del intestino, también controla la activación de neuronas intrínsecas y extrínsecas que alteran la secreción motora del intestino. Otro sería también la distensión del esófago lo cual conduce a la relajación de la pared del estómago (Helen 2011). La regulación parácrina describe procesos químicos liberados por células intersticiales y otras células vecinas (fig.3). Un ejemplo de mecanismo parácrino es la inhibición de la gastrina liberada por la somatostatina. La somatostatina es liberada por células de la mucosa gástrica en respuesta a los bajos niveles de pH intragástrico. La regulación parácrina describe el proceso por medio del cual un químico liberado a partir de una célula sensora difunde a través del espacio intersticial esta información viaja a las células blanco que se encuentran adyacentes. También la histamina, la cual es liberada por células enterocromafines (EE) localizadas en el fondo de la mucosa gástrica, estimulando la secreción de ácido gástrico, a través de la acción directa de las células parietales (Helen 2011). Dentro del TGI, incluye la acción de la gastrina la cual incrementa la secreción de ácido gástrico, debido a la acción de la colecistocinina por sus siglas en ingles (CCK), las cuales estimulan la secreción de enzimas pancreáticas, y el glucagón ayuda a mejorar la glicogenólisis hepática y la gluconeogénesis (Helen 2011).

La respuesta del tracto gastrointestinal a una comida se divide clásicamente en 6 fases: cefálica, oral, esofagal, gástrica, duodenal, intestinal y colónica. Por lo tanto es necesario saber el funcionamiento del TGI, en respuesta a la ingesta del alimento y los detalles de la función de cada órgano que proporciona en cada lugar del organismo. Todo esto nos ayuda a entender los mecanismos reguladores que existen el en TGI, y la interdependencia que requieren unos de los otros para poder llevar acabo un buen funcionamiento de todo este proceso (Harrison 2008; Khan 2008).

# Mecanismo Endócrino

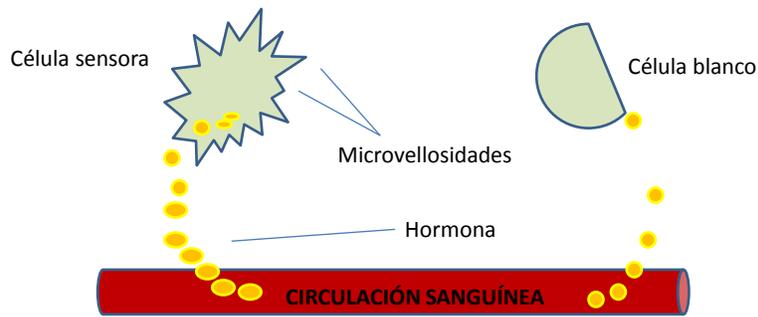


Fig.1 Regulación endócrina. Las células responden a estímulos liberados en la circulación sanguínea.

# Mecanismo Neural

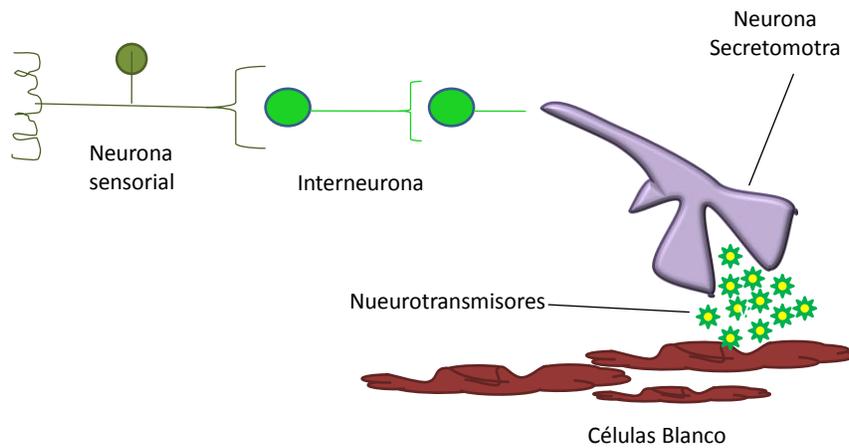


Fig.2 Regulación neural. Mediada por la liberación de neurotransmisores, responden a estímulos mediante sensores neurales.

# Mecanismo Parácrino

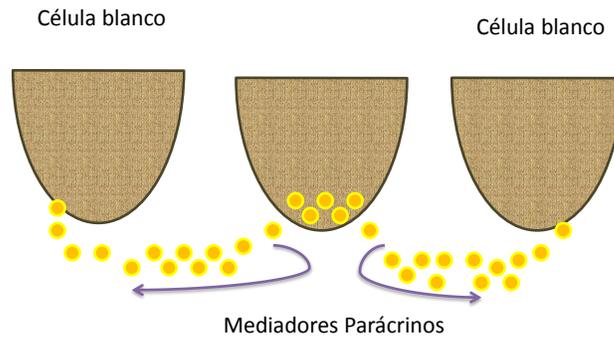


Fig.3 Regulación parácrina. Químicos liberados a partir de una célula sensora hacia las células blanco.

## 1.3 Inervación simpática e Inervación parasimpática

El esófago está inervado por nervios simpáticos y parasimpáticos. El nervio simpático responde a un estímulo el cual puede presentarse en acciones voluntarias del organismo, sus principales funciones es dilatar las pupilas, aumentar la frecuencia de los latidos del corazón y aumentar las contracciones gastrointestinales. Los nervios parasimpáticos controla las funciones y actos involuntarios, manteniendo al cuerpo en un estado de relajación, este se encarga de disminuir los esfínteres intestinales, haciendo que el peristaltismo se disminuya, la frecuencia cardíaca llegue a un estado de reposo, entre otras. Existe una comunicación constante entre las fibras eferentes y aferentes que transmiten impulsos a y desde los vasos sanguíneos, las glándulas y la mucosa del esófago. El nervio vago anterior y posterior, transporta fibras parasimpáticas eferentes al esófago. Las fibras finalizan en el núcleo dorsal vago, el cual contiene células eferentes y aferentes viscerales. El músculo estriado de la faringe y la porción superior del esófago están controlados por fibras parasimpáticas que emanan del núcleo ambiguo. Los nervios vago se entremezclan con las fibras nerviosas de los troncos simpáticos paravertebrales y sus ramas de modo que los nervios en el cuello y por debajo de este, constituyen una

combinación del sistema parasimpático y simpático. A la altura del cuello el esófago recibe fibras de los nervios laríngeos recurrentes y fibras variables del nervio vago, y se sitúa por detrás y entre la carótida común y la vena yugular interna en la vaina carotidea. En el lado derecho el nervio laríngeo recurrente del nervio vago y desciende arrollándose alrededor de la arteria subclavia derecha antes de ascender en la acanaladura esófago-traqueal. En el lado izquierdo el nervio laríngeo recurrente se ramifica del nervio vago izquierdo, desciende y se enrolla alrededor del arco aórtico, asciende entre la tráquea y el esófago. (Akhio 2002).

En el mediastino superior el esófago recibe fibras del nervio laríngeo recurrente izquierdo y de ambos nervios vago. A medida de que estos descienden, pequeñas ramas se entremezclan con fibras de troncos simpáticos para formar los plexos pulmonares, siendo así el anterior más pequeño y posterior más grande. Por debajo de los bronquios principales, el nervio vago se divide de dos a cuatro ramas que se adhieren íntimamente al esófago del mediastino posterior. Las ramas de los nervios derecho e izquierdo poseen componentes anterior y posterior que se dividen y, posteriormente, se entremezclan para formar un plexo nervioso a modo de entramado, que también contiene ganglios pequeños (Akhio 2002). Cuando el nervio vago entra en el abdomen, se divide en nervio anterior, situado variablemente en la pared esofágica, y un nervio posterior, que no se adhiere al esófago, si no que se enmarca dentro de una capa de tejido adiposo. Pequeñas ramas del plexo y el vago principal entran en la pared del esófago. Son importantes las variaciones en los nervios vagales y en los plexos para los cirujanos que llevan a cabo una vagotomía poder existir más de un nervio vago anterior y posterior (fig. 4).

Las fibras preganglionares simpáticas emanan de axones de las células cornuales interlaterales, situadas en el sexto segmento de la espina torácica. Las raíces nerviosas espinales anteriores corresponden a los segmentos que contienen sus células precursoras. Dejan los nervios espinales dorsales en ramas comunicantes blancos o mixtos, y entran en los ganglios simpáticos paravertebrales. Algunas fibras efectúan sinapsis con células de los ganglios torácicos medios y se dirigen a los ganglios más proximales y distales en los troncos. Los axones de las células ganglionares poseen fibras posganglionares que

alcanzan el esófago (Akhio 2002). Las fibras aferentes siguen la misma trayectoria en sentido inverso; no obstante, no se sustentan en los troncos simpáticos y penetran en la médula espinal a través de raíces nerviosas espinales posteriores. Los nerviosos aferentes se sitúan en los ganglios de las raíces nerviosas espinales posteriores. El plexo faríngeo inerva a la porción superior del esófago. A medida de que el esófago desciende, recibe fibras de las ramas cardíacas de los ganglios cervicales superiores, aunque rara vez recibe los ganglios cervicales o vertebrales medios de los troncos sinápticos. Las fibras también pueden alcanzar el esófago a partir del plexo nervioso que discurre con la vascularización. En la porción superior del tórax, los ganglios estrellados suministran filamentos esofágicos, que se denomina subclavia, y los nervios cardíacos torácicos pueden asociarse con fibras del esófago, la tráquea, la aorta y de algunas estructuras pulmonares. En la porción inferior del tórax hay fibras que conectan los nervios esplánicos torácicos mayores con el plexo esofágico. Los nervios esplánicos mayores surgen de tres a cuatro vías grandes y un número variable de raíces mas pequeñas emerge del quinto al décimo ganglio torácico y de los troncos simpáticos. Las raíces discurren en múltiples direcciones por los lados de los cuerpos y los discos vertebrales torácicos para formar un nervio grande. En ambos lados el nervio penetra el abdomen a través del diafragma pasando entre los márgenes laterales de la región crural y el ligamento arqueado medial. En el abdomen los nervios se ramifican el plexo celíaco. Los nervios esplánicos torácico menor y mínimo finalizan en su mayoría, respectivamente, en los ganglios torrencales y en los plexos renales. Los filamentos de la parte terminal del nervio esplánico mayor y del plexo frénico inferior derecho alcanzan la porción abdominal del esófago (fig. 5) (Akhio 2002).

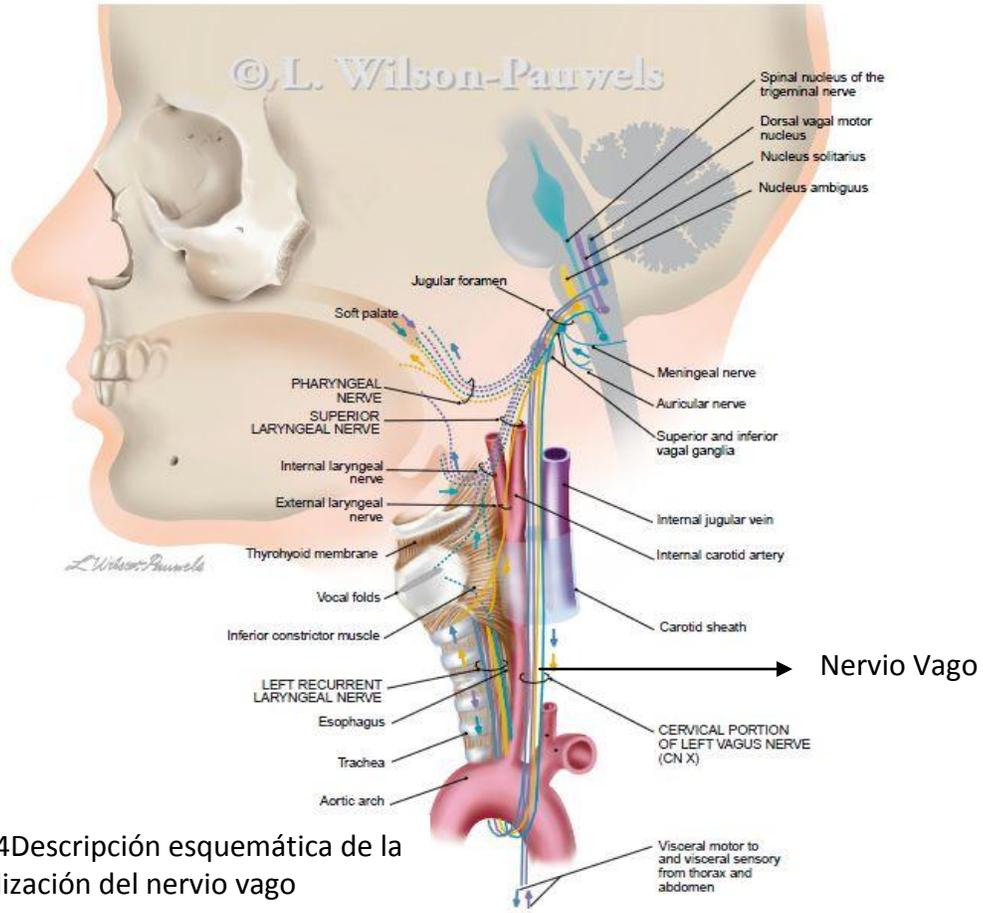


Fig. 4 Descripción esquemática de la localización del nervio vago

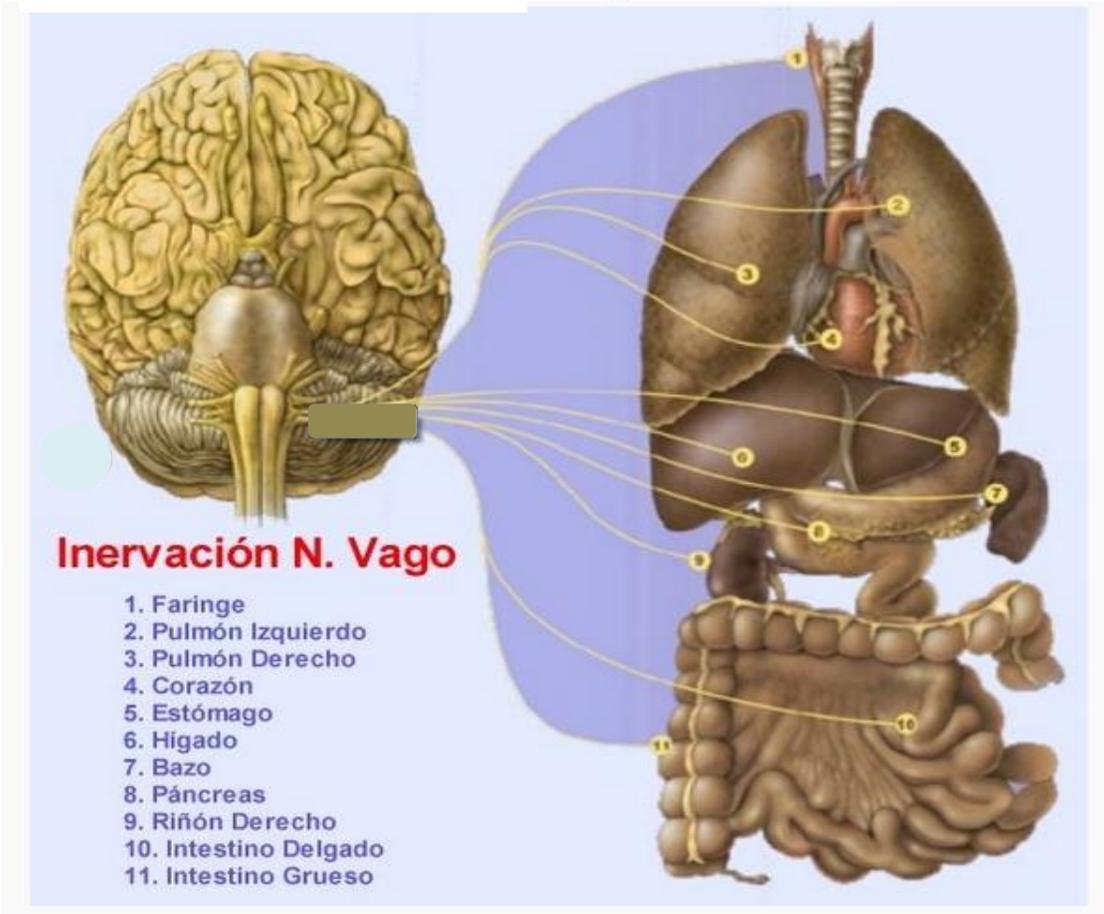


Fig.5 Órganos inervados por el Nervio Vago.

## 1.4 Inmunidad de la mucosa del Tracto Gastrointestinal

La defensa contra las infecciones intestinales se lleva a cabo en las membranas de la mucosa y está mediada por mecanismos inmunológicos específicos y no específicos, estos se manifiestan como secreciones de la mucosa, las cuales actúan como una barrera fisicoquímica y como una matriz viscosa en la que los agentes patógenos pueden ser atrapados, lo que inhibe su desarrollo o hace posible su eliminación. Por otro lado, la contracción peristáltica del músculo liso puede ayudar a expulsar a los agentes invasores de las zonas intestinales, urinarias y respiratorias. Existen zonas de la superficie del cuerpo no recubiertas por piel, como los ojos, el intestino, el tracto respiratorio y el tracto genitourinario, en que hay fluidos que colaboran en la eliminación de los microorganismos. La superficie de las mucosas que recubren las vías respiratorias o el tracto digestivo tiene funciones primordiales: absorbe y transporta macromoléculas, sirve como barrera y posee además la capacidad de secretar productos generados por las células que constituyen dicha mucosa.

La superficie de las mucosas posee un sistema inmune único que controla de forma rigurosa el balance entre la respuesta y la no respuesta. Dicho sistema consiste de una red integrada de tejidos, células linfoides y no linfoides y moléculas efectoras, tales como anticuerpos, y citocinas que participan en la protección del organismo. A este mecanismo se le conoce como inmunología de las mucosas.

El sistema de las mucosas puede dividirse morfológica y funcionalmente en dos partes principales: 1) En tejidos linfoides organizados que conforman los folículos de la mucosa (MALT, del inglés Mucosa Associated Lymphoid Tissues), dentro de los cuales podemos encontrar tejidos linfoides asociados al intestino (GALT, del inglés Gut Associated Lymphoid Tissues), y 2) el tejido linfoide difuso, que consiste de células con una amplia distribución localizadas en la lámina propia de la mucosa capaces de generar una respuesta inmune; Las dos partes que constituyen el sistema inmune de las mucosas se unen por un mecanismo mucoso de residencia, de tal forma que las células activadas de los folículos linfoides pueden viajar hacia las áreas del tejido linfoide difuso donde pueden

interactuar mejor con sus antígenos. Esta mucosa intestinal esta conformada principalmente por componentes esenciales como las Placas de Peyer, Nódulos linfáticos mesentéricos, células epiteliales intestinales y células caliciformes (goblet).

Las placas de peyer, son cúmulos de tejido linfático que recubren interiormente la mucosa y el intestino. Su función es reconocer y absorber antígenos y patógenos y desencadenar una respuesta inmune específica contra el antígeno en las mucosas. Las células epiteliales intestinales desempeñan múltiples funciones como absorción, secreción, y barrera inmunitaria. Algo que es importante resaltar es la presencia de eosinófilos, estas células aparecen en tejidos que están en la interfase entre el entorno interno y el externo, que incluyen los pulmones, el útero y la lámina propia del estómago. Han sido vinculados con infecciones parasitarias participando como primera línea de defensa en algunas infecciones. Las células caliciformes, son células glandulares secretoras de moco, utilizan a las membranas de la mucosa como el lugar de la enfermedad, también ocupan revestimientos epiteliales de las mucosas de vías respiratorias y del sistema digestivo; el moco generado por una célula caliciforme es secretado a la luz del tubo intestinal, su función es importante para mantener húmeda la mucosa y el intestino. Se ha reconocido desde hace mucho tiempo que, en la mayoría de las infecciones, el sitio de invasión es quizá finalmente el sitio de inicio de la replicación de la enfermedad.

### **1.5 Regulación Endócrina del tracto gastrointestinal**

La organización del sistema endócrino gastrointestinal (SEG) es la clave de su potencia y flexibilidad. Regularmente los eventos gastrointestinales son dinámicos y complejos, la ingestión de los alimentos ocasionan que existan cambios en las secreción y absorción, a través del tracto del intestino, todo esto asociado a los órganos digestivos y su composición química, la cual puede variar notablemente en tiempo y espacio. El efecto de la diferenciación de células entéricas es de suma importancia para una respuesta óptima del sistema digestivo, esto también depende de la forma de alimentación de cada individuo. Algo importante en este aspecto es la porción de la ingesta de alimento; el sistema endócrino gastrointestinal es capaz de detectar altas respuestas programadas, no

solo para la asimilación del mismo, si no también que el SEG haga que la experiencia de comer sea tan placentera para la mayoría de las personas (Miller, 2010; Helen 2011).

El SEG, responde a eventos digestivos, cuando hay una combinación de células endócrinas abiertas o cerradas, los nervios proveen al SEG la capacidad de reconocer el status nutricional, el estado general de salud y algunas necesidades metabólicas las cuales necesita el organismo para llevar a cabo su buen funcionamiento.

El término endócrino, específicamente se refiere a la liberación de hormonas mediante el torrente sanguíneo, lo que va a estimular o regular la actividad de diferentes órganos, algunos ejemplos de órganos endócrinos son: la glándula tiroidea, el hipotálamo, la glándula pineal, la hipófisis, (también conocida como glándula pituitaria). Todos los anteriores van a secretar diferentes tipos de hormonas (fig. 6; tabla 1).

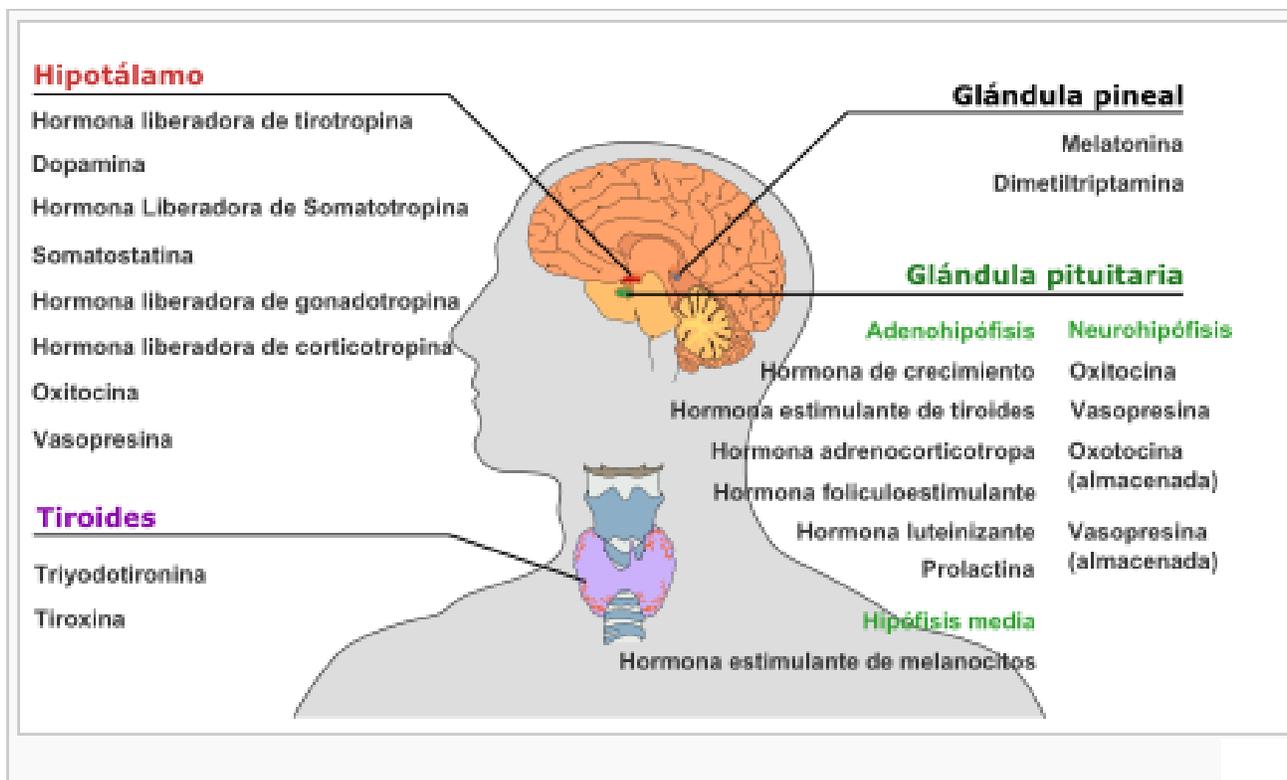


Fig. 6 Principales hormonas liberadas por los órganos endócrinos. (en: Hould F. et al 1988). «Progesterone receptors regulate gallbladder motility» (6): pp. 505–12.

Tabla1 Funciones y efectos de hormonas secretadas por órganos endócrinos

Hormona secretada	Abreviatura	Sito de producción	Efectos
Hormona liberadora de tirotropina	TRH ó TSHRH	Neuronas neurosecretoras parvocelulares	*Estimula la liberación de hormona estimulante de tiroides (TSH) de la adenohipófisis(principalmente) *Estimula la liberación de prolactina de la adenohipófisis
Dopamina (hormona inhibidora de prolactina)	DA	Neuronas productoras de dopamina del núcleo arcuato	*Inhibe la liberación de prolactina de la adenohipófisis
Somatostatina (hormona inhibidora de la hormona de crecimiento)	GHIH	Células neuroendocrinas del núcleo periventricular	*Inhibe la liberación de la hormona de crecimiento (GH) de la adenohipófisis *Inhibe la liberación de la hormona estimulante de tiroides (TSH) de la adenohipófisis
Hormona liberadora de gonadotropina	GnRH ó LHRH	Células neuroendocrinas del área preóptica	*Estimula la liberación de hormona foliculoestimulante (FSH) de la adenohipófisis *Estimula la liberación de la hormona luteinizante (LH) de la adenohipófisis
Hormona liberadora de corticotropina	CRH ó CRF	Neuronas neurosecretoras parvocelulares	Estimula la liberación de hormona adrenocorticotropa (ACTH) de la adenohipófisis
Oxitocina	—	Células neurosecretoras magnocelulares	*Concentración uterina *lactancia materna
Vasopresina	ADH ó AVP	Neuronas neurosecretoras parvocelulares	* controla la reabsorción de moléculas de agua mediante la concentración de orina y la reducción de su volumen

Tabla2 Principales hormonas secretadas en el aparato digestivo.

Hormona Secretada	Abreviatura	Células Secretoras	Efectos
Gastrina (Principalmente)		Células G	Secreción de ácido gástrico por las células parietales
Grehelina		Células P/D1	Estimula el apetito
Neuropéptido Y	NPY		Estimula el aumento de alimentos, y disminuye la actividad física
Histamina		Células ECL	Estimula la secreción de ácido gástrico
Endotelina		Células X	Ayuda a la contracción del músculo liso estomacal
Somatostatina		Células delta	Suprime la liberación de gastrina, colecistocinina (CCK), secretina, motilina, péptido intestinal vasoactivo (VIP), polipéptido intestinal gástrico (GIP), enteroglucagón. La baja tasa de vaciamiento gástrico reduce las contracciones del músculo liso y flujo sanguíneo dentro del intestino

La división en endocrinología clásica y endocrinología gastrointestinal surgen en 1902, propuesta por Bayliss y Starling, tras el descubrimiento de la primera hormona, la secretina y el reconocimiento de que los mensajeros químicos que viajan a través del torrente sanguíneo. El periodo de la endocrinología gastrointestinal fue llamado “la era del jugo gastrointestinal”. El descubrimiento de la gastrina fue en 1905, por Eddins. Todo esto hizo que se convirtiera en una era de bastante auge durante varios años, lo cual llevó a realizar varios métodos para saber como eran liberadas estas hormonas, las cuales ya estaban seguros que eran liberadas gracias a la acción de las células endócrinas. Aquellos autores postularon la existencia de agentes químicos, que en forma de hormonas, alcanzan a través de la circulación sanguínea sus órganos diana, realizando de esta forma una función reguladora de los procesos fisiológicos semejante a la del sistema nervioso autónomo. A pesar de esta aportación pionera, transcurrieron más de 50 años, hasta que el desarrollo tecnológico permitió la identificación y caracterización química y fisiológica de numerosos péptidos y aminas presentes en el tracto digestivo. Independientemente de sus propiedades endocrinas, estas hormonas también pueden actuar como neurotransmisores y neuromoduladores (Hellen 2011). Por otra parte, se ha

detectado su presencia fuera de la mucosa gastrointestinal, mientras que péptidos de origen nervioso han sido encontrados en células endocrinas del páncreas y mucosa gastrointestinal. Todo ello ha obligado a considerar a estas sustancias como péptidos reguladores, en vez de simples hormonas (Álvarez Crespo 2009; Khan 2008); Asimismo, se ha llegado a la conclusión de que existen íntimas relaciones funcionales entre el páncreas y aparato digestivo, a partir de péptidos generados en ambas estructuras que favorecen la digestión, absorción y posterior utilización de los nutrientes. Todo esto particularmente se ha relacionado con el aumento de factores de secreción de insulina después de la ingestión de glucosa. Sin embargo, actualmente se acepta que la actividad gastrointestinal puede afectar a otras hormonas y que esto ocurre no sólo a través de rutas hormonales, sino también mediante mecanismos nerviosos, neurohormonales y parácrinos (Álvarez Crespo 2009) (Harrison 2005). Tabla2 Para designar a los péptidos intestinales involucrados en el tracto gastrointestinal, se les ha asignado varias abreviaturas, siendo varios los péptidos propuestos con semejante actividad. El gran desarrollo científico realizado durante los últimos 30 años en el campo de los péptidos reguladores, ha permitido un mejor conocimiento sobre su localización, estructura y aspectos fisiológicos (Álvarez Crespo 2009; Harrison 2005).

El TGI constituye el mayor órgano endocrino, aunque posee características diferentes a los tradicionales órganos de secreción interna. En contraposición con éstos, no está formado por una masa glandular uniforme, sino que las células endocrinas se encuentran diseminadas en la mucosa del estómago, intestino delgado y colon, Asimismo sus productos pueden actuar localmente, o bien a distancia sobre las células vecinas. Aunque el principal estímulo para la liberación de las hormonas gastrointestinales es la presencia de alimentos en la luz intestinal, su secreción también puede ser afectada por estímulos nerviosos o por otras hormonas (Álvarez Crespo 2009; Dorantes 2012). Las hormonas gastrointestinales regulan los procesos digestivos, modificando la secreción, absorción, motilidad y flujo sanguíneo, mediante efectos endocrinos, utilizando la circulación sanguínea para alcanzar sus células diana, a través de efectos neurócrinos, llevando a cabo su actividad como neurotransmisores o neuromoduladores, o bien actuando de forma

parácrina en la vecindad de las células que las producen (Harrison 2005). Esta multiplicidad de funciones, ha motivado a que se le conozca como péptidos modulador o regulador, en vez de hormonas gastrointestinales (Harrison 2005).

### **1.6 Red Neuroinmunoendócrina en infecciones parasitarias; respuesta inmune asociada a la fase aguda por *T. spiralis*.**

Los sistemas inmune, neurológico y endócrino, se integran de una red multidireccional de regulación fisiológica, cuya función primordial es la preservación de la homeostasis del organismo. Este macrosistema neuro-inmuno-endócrino (NIE) se comunica a través de hormonas de naturaleza proteica y esteroide, tales como las citocinas, neurotransmisores, neuropéptidos y hormonas esteroides.

La Comunicación bidireccional entre estos sistemas fue comprobada en la década de los años 70's con los trabajos de (Besedovsky 1986), al observar como los niveles de glucocorticoides se elevan durante la respuesta inmunitaria, produciendo un efecto supresor sobre la misma. Posteriormente, se confirmó esta conexión por otros investigadores. De este modo se estableció un sistema Neuroinmunoendócrino que permite el mantenimiento de la homeostasis corporal y por tanto de la salud de los individuos (Besedovsky 1986).

Esta comunicación bidireccional es estudiada en la actualidad; de tal manera de saber la bidireccionalidad que se tiene entre el cerebro y sistema inmune. Existen varias líneas de investigación, por ejemplo los órganos linfoides primarios y secundarios, estos están inervados por fibras nerviosas noradrenérgicas, postganglionares y por fibras que contienen neuropéptidos, y las células linfoides expresan adrenoreceptores en la superficie celular así como receptores para muchos neurotransmisores (Besedovsky 1986). Estas últimas son capaces de modular la respuesta inmune del hospedero, por medio de la activación de neurotransmisores y de diversos mecanismos efectores celulares, humorales e inflamatorios. Al mismo tiempo, estos mensajeros químicos pueden afectar de manera directa la viabilidad, reproducción y/o diferenciación del parásito. A través de un proceso que se semeja a un mecanismo de "llave-cerradura". El

hospedero sintetiza la “llave” una hormona, mientras que el parásito produce la “cerradura”, es decir, un receptor. Este fenómeno, consecuencia de millones de años de coevolución entre ambos organismos, garantiza un ahorro metabólico para el parásito, quien explota en su completo beneficio los recursos producidos por el hospedero, llevando nuestra concepción de la relación hospedero-parásito a los niveles molecular y celular. De esta manera, el estudio de la red integrada de regulación NIE puede ayudarnos a entender los múltiples mecanismos involucrados durante una infección parasitaria, comprendidos por el establecimiento del patógeno, su reproducción y el concomitante mantenimiento del ciclo infeccioso a través de la dispersión del parásito. Esto, sin importar el tipo de patógeno sigue representando graves problemas de salud en países en vías de desarrollo y de economías emergentes, como es el caso de los pertenecientes a los continentes asiático, africano y latinoamericano, incluyendo México, Además, debido a los altos índices de migración en países desarrollados como Estados Unidos y España las infecciones parasitarias son ahora consideradas problemas emergentes de salud pública. Finalmente, tomando en cuenta el concepto de la llave-cerradura, la comprensión de la red NIE puede ayudarnos en el diseño de nuevos fármacos que afectan exclusivamente al parásito con efectos mínimos para el hospedero, así como en el entendimiento de los mecanismos moleculares que determinan el dimorfismo sexual durante una infección y el advenimiento de diversas enfermedades autoinmunes e inflamatorias crónicas. (Hernández-Ruiz et al. 2011).

El sistema inmunitario al tener un papel relevante en el mantenimiento de la homeostasis corporal se considera uno de los más importantes para el sistema del organismo actualmente se considera un sistema regulador, en igualdad en condiciones con los sistemas reguladores como el nervioso y el endócrino (fig. 7). Algo que merece la pena ser destacado es que el sistema inmunitario no trabaja aisladamente, si no que lo hace en conexión con estos sistemas reguladores del organismo el sistema nervioso y endócrino.

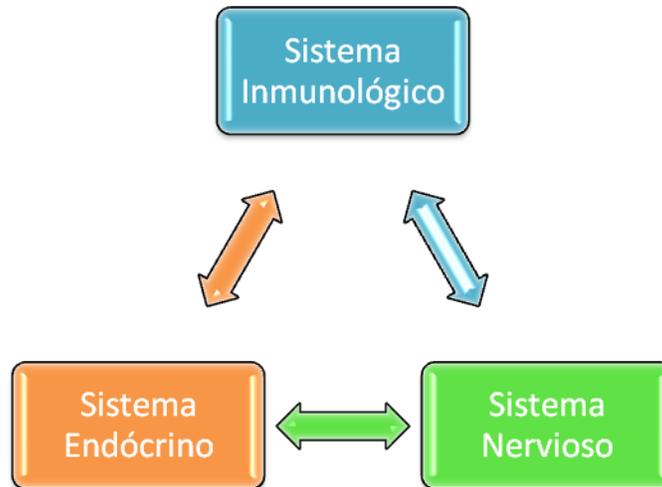


Fig.7 Red Neuroinmunoendócrina

### Respuesta inmune asociado a la fase aguda *T. spiralis*.

Un aspecto importante considerado para la elección del modelo de *Trichinella spiralis* como reto antigénico probado en el proyecto, es el hecho de que existe mucha literatura disponible en relación a la respuesta inmune contra este parásito. Con base en esta información, se sabe que para su expulsión del intestino, están implicados componentes fisiológicos del sistema Gastro-Intestinal (SGI), principalmente los que respectan a los cambios asociados al músculo liso y a las células caliciformes; ambas, reguladas por el sistema inmune. Así, la infección con *T. spiralis*, conduce a una entropía caracterizada por la hiperplasia de células caliciformes y sobre-regulación de las mucinas de tipo secretorio y de membrana; además de la hipercontractibilidad del músculo liso. (Akiho 2002; Khan 2008). Las mucinas son los principales componentes macromoleculares del moco, el cual es sintetizado y secretado por las células caliciformes durante la infección por *T. spiralis*, (Khan W., 2008). Se ha encontrado una hiperplasia en estas células, ya que las mucinas pueden desalojar a los parásitos establecidos o capturarlos en el moco, inhibiendo su motilidad, expulsándolos del intestino ver (fig. 8) (Khan W., 2008).

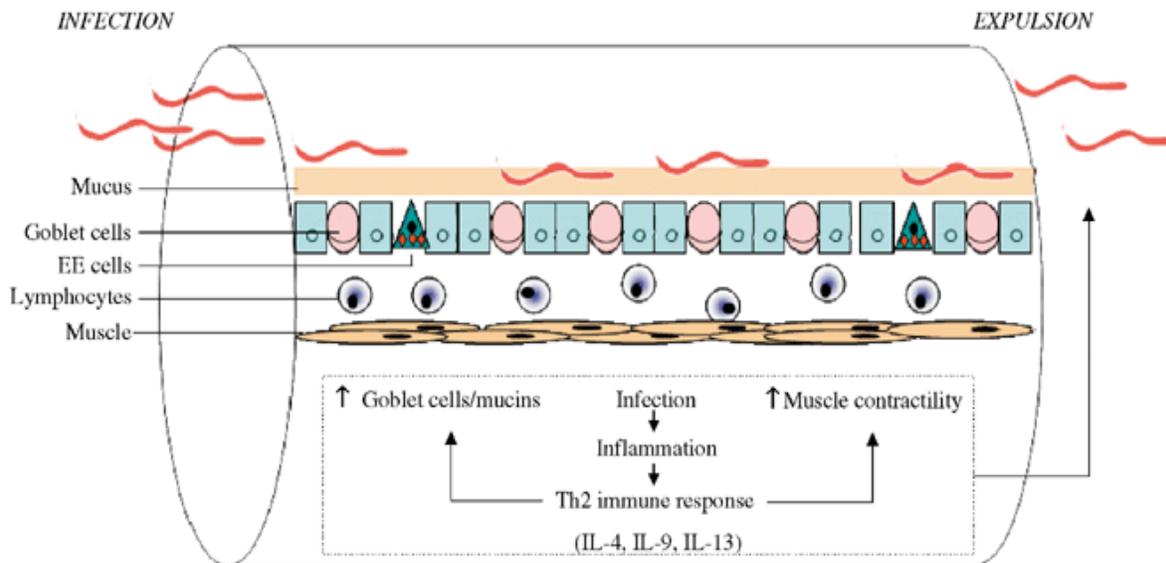


Fig.8 Modificado de Khan W. y Collins S. Parasite Immunology 26, 2004.  
 Respuesta inmune contra parásito intestinal *Trichinella spiralis*.

En lo que respecta al sistema inmune, las células Th2 son importantes en la inmunidad protectora del hospedero contra la infección por diversos nemátodos, incluyendo a *T. spiralis*; este tipo de células, están caracterizadas por la expresión de citocinas IL-4, IL-5, IL-9, IL-13 (Khan 2008; Michels C. 2008). Los cambios en la función de células caliciformes y de la producción de mucina, la fase intestinal de infección por *T. spiralis* esta acompañada de un aumento en la contractibilidad intestinal y en la modulación de este proceso.

## 2. *Trichinella spiralis*

*Trichinella spiralis* es un nemátodo filiforme dioico, es decir que presenta organismos de cada sexo machos y hembras, en individuos de la misma especie. Es propio de zonas geográficas templadas y presenta tres estadios: las larvas recién nacidas que miden 120  $\mu\text{m}$  de longitud por 7  $\mu\text{m}$ , los parásitos adultos machos y hembras, estas miden de 3 a 4 mm de longitud por 60  $\mu\text{m}$  de diámetro y los machos, entre 1.4 mm a 1.6 mm de longitud por 40  $\mu\text{m}$  de diámetro; el último estadio respecta a las larvas musculares que presentan la etapa infectante del parásito. (Chávez 2006; Hernández 2008).

**Larva infectante.** También conocida como larva muscular, presenta cuerpo cuticular, abertura oral, esófago, anillo nervioso, intestino medio, y cloaca. El esticosoma está en la parte posterior, después del esófago granular, cuyas células poseen gránulos secretorios altamente antigénicos que descargan en la luz del esófago (Capó V, 2008). Compuesto por 50 a 55 esticocitos que son células discoides cerca de la región media. Tiene al menos 5 subtipos de gránulos que se diferencian en forma y tamaño, tipo de inclusión, antigenicidad y localización dentro del esticosoma, estos gránulos son;  $\alpha 0$ ,  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$ ,  $\beta$  y  $\gamma$ .

**Larva recién nacida.** Representan la fase de invasión al músculo. Vive en el citoplasma de la célula muscular e induce la agregación de mitocondrias, alargamiento de núcleo con nucleolos prominentes, hipertrofia del glucocálix encubierta gruesa de colágena formada por una compleja red de vénulas que se cree facilitan el transporte de nutrientes. La célula muscular se convierte en “célula nodriza”, aunque en infecciones masivas puede encontrarse más de una larva en cada célula nodriza. Las larvas comienzan a enrollarse y se completa la forma del quiste (1 mes aproximadamente). El complejo larva y célula nodriza puede permanecer estable toda la vida en el hospedero (Capó 2008; Hernández 2008).

## 2.1 Clasificación taxonómica

La enfermedad producida por la infección con *T. spiralis*, es conocida como triquinelosis y afecta a mamíferos silvestres y domésticos; pero puede ser transmitida al hombre por la ingestión de carne cruda o mal cocida procedentes de animales infectados. La principal fuente de infección para el hombre es el cerdo. *Trichinella spiralis* fue descrita por Owen 1835, y encontrada por Toussaint 1893. El parásito presenta características inigualables e inconfundibles, es el nemátodo de menor tamaño que parasita al humano y un solo hospedero cubre las funciones de hospedero definitivo e intermediario. La forma infectante es la larva 1 (L1) (Pozio et al., 2009). Se reconoce un género de *Trichinella*, 8 especies, 3 especies más a nivel de genotipo de taxonomía no determinada y 1 con especie identificada recientemente (tabla3) (Pozio, et al. 2012;

Zarlenga *et al.* 2006; Krivokapich *et al.*, 2008; Pozio *et al.*, 2009) agrupados en 2 clados: Con cápsula y sin cápsula (Pozio E. 2007).

Tabla3 Distribución geográfica de las especies de *Trichinella spiralis*

Especie	Genotipo	Hospedero	Distribución
<b>*<i>Trichinella spiralis</i></b>	<b>T1</b>	<b>Mamíferos</b>	<b>Cosmopolita</b>
<i>Trichinella nativa</i>	T2	Mamíferos	Región ártica y subártica de América, Europa y Asia
<i>Trichinella britovi</i>	T3	Mamíferos	Áreas templadas de Europa y Asia, noreste y oeste África
<i>Trichinella pseudospiralis</i>	T4	Mamíferos y aves	Cosmopolita
<i>Trichinella murelli</i>	T5	Mamíferos	Áreas templadas de Norteamérica
<i>Trichinella nelsoni</i>	T7	Mamíferos	Este y Sureste de África
<i>Trichinella papuae</i>	T10	Mamíferos y reptiles	Papua Nueva Guinea
<i>Trichinella zimbabwensis</i>	T11	Mamíferos y reptiles	África, sur del Sahara

## 2.2 Ciclo de vida

El ciclo de vida de *Trichinella spiralis* consta de dos fases y cada una respecta al sitio anatómico donde ocurre la infección: la fase entérica, principalmente se lleva a cabo a nivel del intestino delgado y la fase sistémica, que ocurre a nivel del músculo esquelético, aunque puede presentarse en otros órganos y tejidos del mismo organismo (Murrell y Pozio.2011).

El ciclo comienza con la fase entérica, cuando el hospedero consume carne cruda o insuficientemente cocida que está contaminada con larvas musculares (LM). Posteriormente entran en contacto con los jugos gástricos, los cuales van a digerir la carne y las larvas musculares van a ser liberadas en el intestino delgado, estas penetran la mucosa intestinal y tras cuatro mudas de cutícula se convierten y diferencian de hembras y machos adultos. Después de dos a cuatro días, la cópula entre los parásitos hembras y machos se da en el lumen intestinal; las hembras fecundadas liberan las larvas recién nacidas (LRN) y estas van a penetrar en la lámina propia del intestino y alcanzan a través de los capilares linfáticos y venosos de la circulación general, diseminándose por todo el organismo pero enquistándose solamente en el músculo esquelético; sin embargo, pueden infectar otros tejidos y órganos, como SNC o corazón (Murrell y Pozio.2011). Las larvas se introducen en el interior de las fibras musculares destruyéndolas parcialmente e iniciando la formación de la célula nodriza, esta es una estructura que les va a proporcionar protección y le va a permitir al parásito adquirir nutrientes y exportar desechos a través de una red de vénulas, su formación dura aproximadamente 20 días después de los cuales, la LM se ha desarrollado y ahora es infectiva y con capacidad de ser transmitida a otro hospedero reiniciando el ciclo de vida (fig. 9) (Chávez 2006).

El ciclo doméstico de *T. spiralis* incluye principalmente a cerdos y algunos animales sinantrópicos; entre éstos se considera de gran importancia a los roedores (ratas, ratones), pero también están involucrados caballos, gatos y perros. Las formas infectantes, son adquiridas por estos animales cuando son alimentados con desperdicios cárnicos contaminados, a través de la ingesta de roedores infectados, o por canibalismo.

El ciclo silvestre se desarrolla cuando los hospederos (osos negros, jabalíes, gato montés, pumas, animales marinos como morsas, osos polares, otros carnívoros) ingieren la carne contaminada de sus presas o carroña.

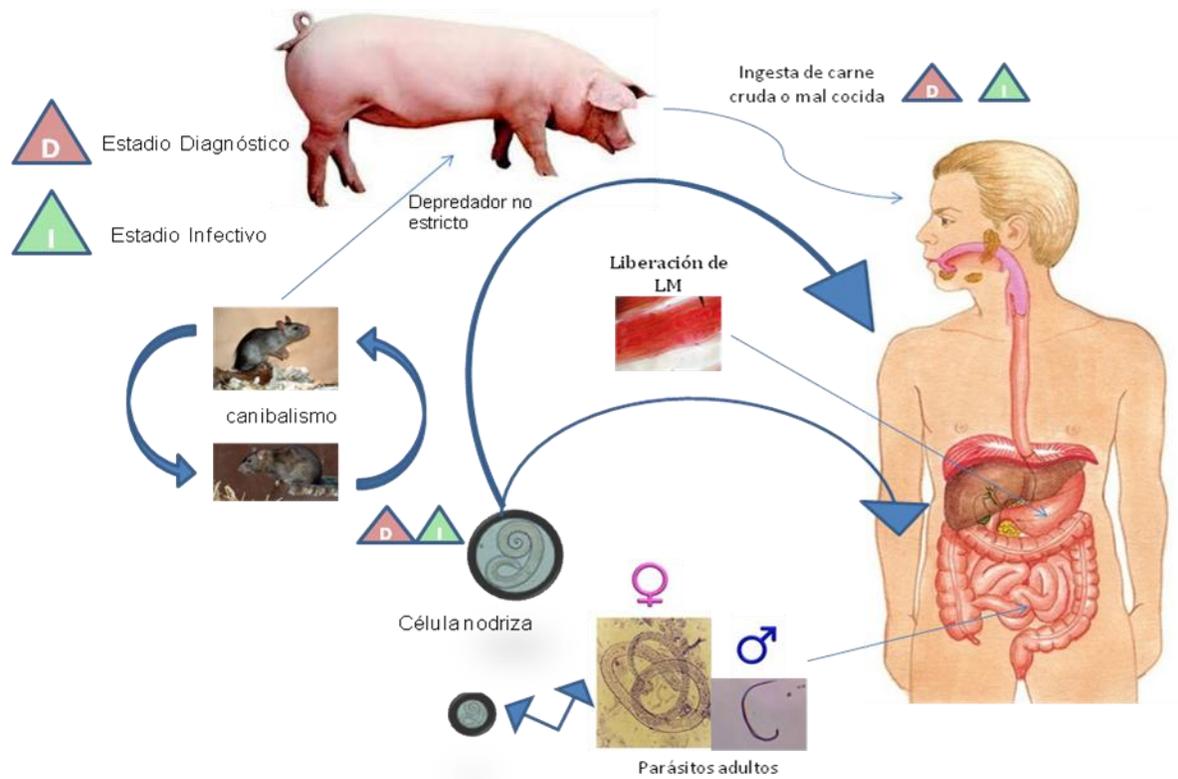


Fig.9 Ciclo de vida de *Trichinella spiralis*

### 2.3 Infección por *Trichinella spiralis*

*Trichinella spiralis* es la especie más importante como agente etiológico de enfermedad en el humano, con distribución cosmopolita. La respuesta del hospedero consiste en un infiltrado inflamatorio (células cebadas, eosinófilos, monocitos, linfocitos), con producción de IgE, en un perfil de orientación Th2. Las larvas LRN pasan a torrente sanguíneo y sistema linfático y se diseminan en el cuerpo, ubicándose finalmente en los músculos estriados de mayor actividad (más oxigenados), tales como los masticatorios, diafragma,

intercostales, oculares y miembros superiores e inferiores. Las larvas, adopta una posición en espiral y presenta un continuo movimiento de vaivén dentro de la célula muscular, rodeada de un infiltrado linfocitario. El miocito se desarrolla como "**célula nodriza**", una estructura funcional diferente de cualquier otra célula de mamíferos, unos 14 - 16 días después de la penetración de la larva, y pierde sus características de célula muscular estriada, adquiere una cápsula de colágeno, evidencia un alto grado de angiogénesis y modifica la actividad de sus organelos (serie de cambios anatómicos y fisiológicos que aseguran la nutrición, eliminación de desechos de la larva anaerobia). Este complejo larva-célula nodriza modula de alguna manera la respuesta inmune y puede permanecer viable durante años (hipobiosis) o sufrir calcificación eventualmente (semanas, meses, años) (Murrell & Pozio.2011).

La infección intestinal se asocia a infiltrados masivos en submucosa, atrofia de microvellosidades, hiperplasia de criptas, células de Paneth y células caliciformes. Los signos y síntomas de la enfermedad dependen de la carga parasitaria y la vasculitis asociada, son consecuencia de reacciones de hipersensibilidad, inducidas por los parásitos adultos y larvas (Murrell y Pozio.2011). Las infecciones leves suelen ser asintomáticas o cursar con datos inespecíficos. Es útil recordar que casi siempre existe el antecedente de ingesta de carne de cerdo, moronga, embutidos (chorizo, longaniza), habitualmente en reuniones familiares, de amigos o trabajo, lo que da lugar a brotes epidémicos. Desde luego, no debe desecharse la posibilidad de la parasitosis en casos aislados o de una trichinelosis crónica.

Las manifestaciones clínicas se deben a los nematodos creciendo e invadiendo las vellosidades intestinales. El cuadro clínico varía, dependiendo de la dosis infectante, la susceptibilidad del individuo y posiblemente de la especie de *Trichinella*. En las infecciones severas, pueden presentarse signos y síntomas intestinales en el transcurso de una semana de la ingesta de carne contaminada con larvas. Los datos habituales consisten en dolor abdominal, diarrea, malestar general, hiporexia, que persisten durante algunos días, a esto se le conoce como fase intestinal (Murrell & Pozio.2011).

La fase sistémica o muscular, ocurre transcurridas 1 - 2 semanas la infección, pero es posible que se manifieste hasta 4 -6 semanas después, cuando se han acumulado un mayor número de larvas en los músculos. El cuadro clínico característico incluye: fiebre elevada, edema periorbital, facial (edema en extremidades en casos severos), mialgias, cefalea, fiebre, erupciones cutáneas, hemorragias conjuntivales y subungueales (Murrell y Pozio.2011). Asimismo, se encuentran rigidez muscular, fatiga.

## 2.4 Aspectos Clínicos

La sintomatología dependerá principalmente de la carga parasitaria consumida y de los órganos comprometidos, siendo esta desde inaparente o asintomática a presentar malestar abdominal, cólicos, diarrea, dolor muscular (especialmente al respirar, masticar o al usar músculos largos), fiebre y en algunos casos hipersensibilidad a estímulos visuales y auditivos y puede cursar con edemas (Hernández 2008). Los pacientes pueden tener antecedentes de haber consumido carnes raras o mal cocidas. Los exámenes para diagnosticar esta afección abarcan: Biopsia muscular, Compresión, Digestión Cortes histológicos, Pruebas inmunológicas como: IDR Bachman, floculación y ELISA (tabla4) (Hernández 2008).

Tabla 4 Cuadro clínico de la triquinelosis. Se describen la fase entérica y la fase sistémica.

Fases	Síntomas	Diagnóstico	Tratamiento
<b>Fase Entérica</b>	*Diarrea	*Examen CPS	✓ Mebendazol
	*Dolor abdominal	*Aspiración duodenal	✓ Albendazol
	*Anorexia		✓ Tiabendazol
	*Nauseas		
	*Vómito		

<b>Fase Sistémica</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>*Fatiga</li> <li>*Mialgia</li> <li>*Cefalea</li> <li>*Edema facial</li> <li>*Fiebre</li> <li>*Neurotriquinelosis</li> <li>*Miocarditis</li> <li>*Invasión en diafragma y riñones</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>*Eosinofilia del 5-50% leucocitos.</li> <li>*Valores elevados de DHL(lactato deshidrogenasa) CPK. (creatinin fosfocinasa)</li> <li>*Trichinoscopia</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>❖ No existe Tx específico, pero pueden utilizarse analgésicos para mitigar el dolor</li> </ul>
-----------------------	--	--	---

Modificado de Trichinella.org.mx

## 2.5 Epidemiología.

La trichinelosis es cosmopolita. La fuente de infección habitual es el cerdo doméstico; sin embargo, se han reportado brotes epidémicos por ingesta de carne de caballo, jabalí, perro, principalmente (Murrell y Pozio.2011). Actualmente, la diversidad gastronómica posibilita la infección a partir de carne de animales considerados exóticos.

Un análisis de los brotes reportados desde 1986 a 2009, ofreció los siguientes datos: 65,818 casos y 42 muertes en 41 países. La Organización Mundial de la Salud Región Europea representó el 87% de los casos, 50% de los cuales ocurrieron en Rumania (fig.10). La trichinelosis afectó principalmente a adultos (edad media 33.1 años). Las principales manifestaciones clínicas, de acuerdo a 5,377 casos, fueron: mialgias, diarrea, fiebre, edema facial y cefalea. El cerdo fue la principal fuente de infección (Murrell y Pozio.2011).

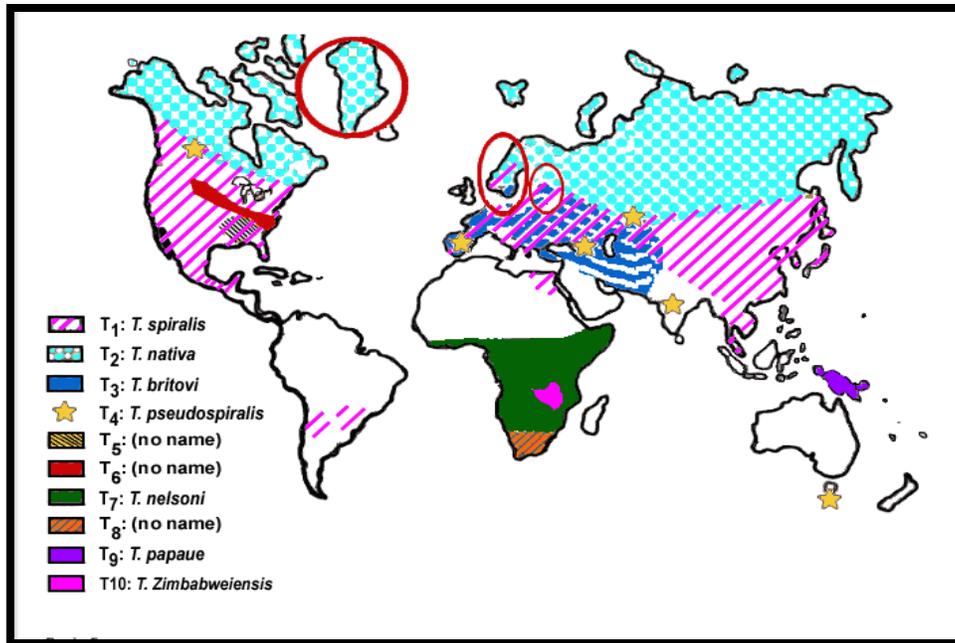


Fig.10 distribución mundial de *Trichinella spiralis* tomado de Trichinella.org.mx

En México, la mayor parte de los reportes corresponde a brotes epidémicos, principalmente por consumo de cerdo y sus derivados; se han detectado caballos infectados, lo cual constituye un factor de riesgo, ya que su carne se consume debido a factores económicos. También se han identificado infecciones en perros, gatos, ratas y algunos animales exóticos en zoológicos. Los estados de mayor endemicidad son Zacatecas, Durango, Puebla, Edo. de México y Distrito Federal. Jalisco, Chihuahua y Michoacán reportan una incidencia media. El menor número de casos se ha encontrado en Querétaro, Guerrero, Guanajuato, Colima, San Luis Potosí, Aguascalientes, Nuevo León, Oaxaca, Veracruz y Sonora (fig. 11) (Hernandez 2008; Chávez 2006).



Fig. 11 Distribución de casos de trichinelosis en México

### Pregunta de estudio

Dentro del marco de las interacciones neuroinmunoendócrinas del tracto gastrointestinal, ¿existe una interacción entre la innervación parasimpática y la respuesta inmune de la mucosa intestinal que regule las cargas parasitarias en el intestino durante la infección aguda por *Trichinella spiralis*?

### 3 Hipótesis

Existe una interacción entre la innervación parasimpática y la respuesta inmune de la mucosa intestinal que al interrumpirse mediante vagotomía altera el curso de la infección por *Trichinella spiralis* y la respuesta inmune hacia la misma, modificando las cargas parasitarias.

## 4 Objetivos

### 4.1 Objetivo General

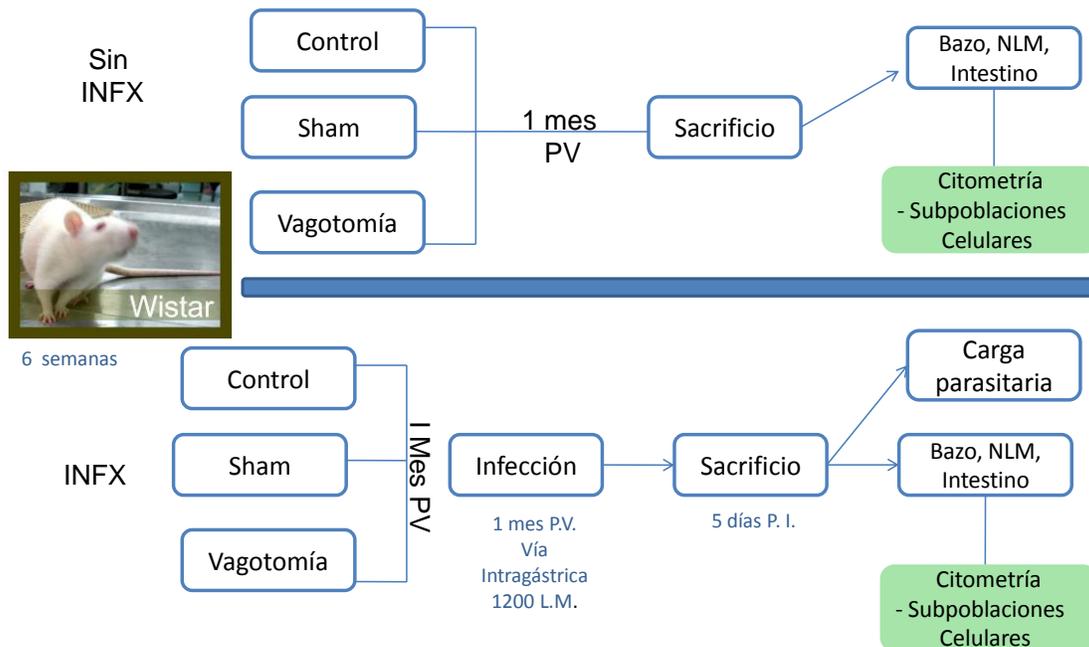
Determinar el efecto de la denervación parasimpática del intestino sobre la infección aguda por *Trichinella spiralis*.

### 4.2 Objetivos Particulares

- Observar el efecto de la denervación parasimpática intestinal por medio de la vagotomía sobre las cargas parasitarias en el intestino de ratas macho infectadas con *Trichinella spiralis*.
- Describir por citometría de flujo los porcentajes de las sub-poblaciones celulares de linfocitos T CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD45<sup>+</sup>, NK, en el intestino, de ratas macho vagotomizadas sin infección y vagotomizadas infectadas con *Trichinella spiralis*.
- Determinar por citometría de flujo los porcentajes de las sub-poblaciones celulares de linfocitos T CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD45<sup>+</sup>, NK, en el bazo de ratas macho vagotomizadas sin infección y vagotomizadas infectadas con *Trichinella spiralis*.
- Estudiar por citometría de flujo los porcentajes de las sub-poblaciones celulares de linfocitos T CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD45<sup>+</sup>, NK, en los nódulos linfáticos mesentéricos de ratas macho vagotomizadas sin infección y vagotomizadas infectadas con *Trichinella spiralis*.

## 5. Diseño Experimental

# Diseño Experimental



### 5.1 Obtención de grupos de Animales experimentales

Los diferentes grupos de animales en experimentación se obtuvieron a partir de uno a dos machos infectados con el parásito *Trichinella spiralis*, los cuales se mantenían bajo resguardo del bioterio del Instituto de Investigaciones Biomédicas, de la UNAM, sede circuito escolar, bajo la aprobación de un protocolo el cual cumple con el manejo ético de animales para experimentar. Se utilizaron 30 ratas machos de la cepa Wistar. De las cuales se utilizaron 10 animales para el grupo control, 10 para el grupo sham y 10 para el grupo de animales vagotomizados.

## 5.2 Obtención y mantenimiento del Ciclo de vida de *Trichinella spiralis*

Los parásitos de *Trichinella spiralis*, se mantienen en ratas machos de la cepa Wistar mediante infecciones sucesivas. Para ello, se lleva a cabo una digestión artificial, se recuperan las larvas (LM), se cuantifican y se infectan los animales por vía intragástrica para así mantener el ciclo. Los animales *Stock* que mantienen el ciclo del parásito, fueron sacrificados en la cámara de CO<sub>2</sub>. Se desprende la piel del animal y se retiran las vísceras, el sistema muscular se coloca en un triturador de carne, una vez triturada esta carne es sometida a una digestión artificial empleando una disolución de pepsina y ácido clorhídrico ambos al 1% con una relación de 100 ml de disolución por cada 10 g de carne. Esto se coloca en un matrás y es llevado a la estufa (shaker) durante 3 horas a 37°C y una agitación constante de 190 rpm. La solución de digestión es filtrada para sedimentar las LM; estas son lavadas con PBS hasta eliminar cualquier residuo de la solución de digestión, se recuperan las larvas musculares y se cuantifican en 30 µl cada tubo. Se toman 20µl del tubo y se colocan en el portaobjetos en microscopio estereoscópico, esto se repite seis veces para conocer el número de larvas totales en el volumen total de solución.

## 5.3 Infección

Las ratas se infectaron vía intragástrica con 1200 LM en PBS, haciendo uso de una cánula de metal estéril. La solución que contiene las larvas es agitada constantemente para evitar la sedimentación y posteriormente se toma el volumen necesario que contiene la cantidad de larvas necesarias. Los animales fueron anestesiados por inhalación de *Sevorane* (Sevoflourano) previo a la infección.

#### 5.4 Vagotomía (Vgx)

La Vagotomía o sección del nervio vago es un procedimiento quirúrgico, que interrumpe las ramas nerviosas (nervio vago) en el estómago que estimulan la producción de ácido. Este procedimiento altera la motilidad intestinal, disminuyendo su función normal. Para realizar este procedimiento se utiliza instrumental y material quirúrgico especial ver (fig. 12, fig. 13).

##### **Instrumental**

- 1 Bisturí
- 1 Tijeras mayo curvas
- 2 Pinza de disección fina curvas
- 1 Pinza de disección fina recta No. 5
- 1 Pinza de disección fina curva No. 7
- 1 Tijera mayo recta
- 1 Porta agujas
- 1 Aguja de sutura
- 2 Separadores planos curvos bronce
- 1 Separador metálico curvo plano
- 1 Tijeras Vannas
- 1 Separador metálico curvo chico plano
- 2 Separadores de vidrio

##### **Material**

- Pentobarbital sódico
- Cama de cirugía abatible
- Jeringa 1mL
- Hilos para sujetar patas
- Rasuradora
- Torundas de algodón chicas
- Penicilina
- Perforador de orejas
- Hilo para suturar
- Microscopio estereoscópico con luz integrada
- Alcohol al 70% o tintura de yodo
- Hilos con liga para separadores curvos
- Sevoflourano

##### **Indicaciones pre-operatorias:**

Se pesa la rata y se calcula la dosis de pentobarbital (0.063mL/100g de peso corporal) a inyectar. Se inyecta el pentobarbital con jeringa de 1mL en el peritoneo. Se ata en la cama con los hilos para patas, boca arriba. Se rasura a la altura del estómago y del pecho.

##### **Cirugía:**

Se hace una incisión de 2 a 3 cm aproximadamente sobre la línea media, de la apófisis xifoides hacia abajo se localiza el hígado y por debajo de él se encuentra el estómago, se pinza y se expone con el separador curvo de bronce para ubicar la unión gastroesofágica (fig. 14). Para aumentar el campo visual se colocan con mucho cuidado los separadores curvos planos con gasa para evitar lesionar el hígado (fig. 15). Al localizar la unión

gastroesofágica, con los separadores de vidrio, se diseccionan las 2 ramas del nervio vago (anterior y posterior), estas se encuentran unidas al esófago lateralmente y se van a cortar con la tijera vanna a una distancia de 1cm aprox (fig. 16). Al finalizar, el estómago se regresa a su posición original, se sutura la incisión con un surgete continuo usando un hilo absorbible y la piel con puntos de sutura sencillos o en “U” con hilo no absorbible.

## 5.5 Recuperación

### Indicaciones post-operatorias:

Al finalizar la cirugía se pone a la rata en la cámara de recuperación (O<sub>2</sub> clínico + colchón térmico). Se inyectan 10UI de penicilina intramuscular durante 3 días (inmediatamente después de la cirugía y dos días después).



Fig.12 Instrumental Quirúrgico para realizar Vagotomía.



Fig.13 Camas para cirugía campo visual iluminado



Fig.14 incisión de 2 a 3 cm aproximadamente sobre la línea media abdominal



Fig.15 Se muestra la forma de sujeción de estómago con gancho aislado de cobre, exponiendo la parte superior del esófago.

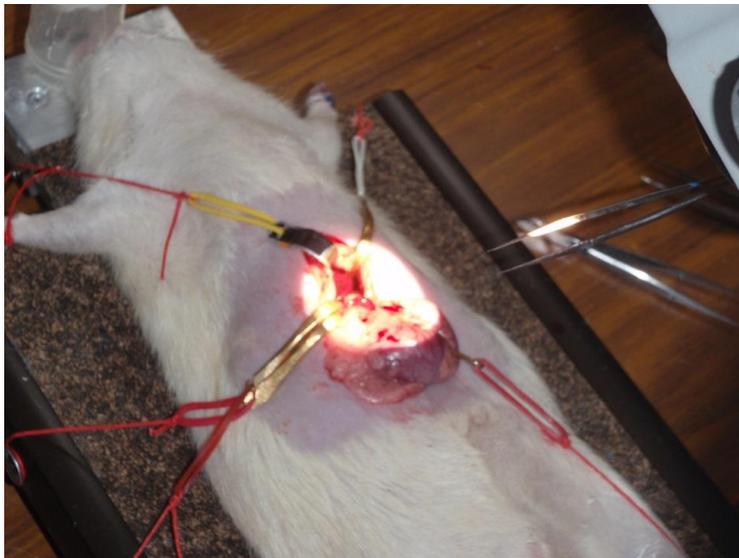


Fig.16 Se observa la forma correcta de exponer el esófago, para localizar el nervio vago. Sujeción de órganos con separadores metálicos curvos.

## 5.6 Eutanasia y obtención de tejidos

El sacrificio de los animales se realizó con ayuda del *sevorane*, anestesiando a los animales de tal manera que no sintieran dolor al momento de hacer la tracción cervical. Posteriormente se obtuvieron los siguientes tejidos linfoides tales como el bazo y los nódulos linfáticos mesentéricos, y se hizo un corte en la parte principal del intestino (duodeno). Los cuales fueron colocados inmediatamente a 4°C en placas de cultivo de 24 pozos estériles con una solución de PBS estéril y amortiguado a pH 7.4. Todo este procedimiento fue llevado bajo condiciones estrictamente de asepsia.

## 5.7 Cuenta de parásitos intestinales

La cuenta parasitaria se determinó mediante sedimentación del contenido intestinal. Para ello se tomó una parte proximal del intestino delgado, para así poder hacer los lavados necesarios con PBS a 37°C desechando la mayor parte de residuos y heces, después se corta en trozos pequeños y se coloca en una coladera de plástico sobre un recipiente con PBS hasta cubrir el tejido, se introduce cada recipiente con el intestino de cada individuo en una estufa a 37°C para facilitar el movimiento y desprendimiento de los parásitos adultos. Después de 3 horas, se llevan los recipientes a temperatura ambiente, para así poder permitir la sedimentación de los parásitos después poder ser recuperados, lavados y cuantificados de la misma manera en la que se cuentan las larvas musculares.

## 5.8 Citometría de Flujo

Los bazos, nódulos linfáticos mesentéricos (NLM) y el intestino, fueron disgregados con una malla de Nylon estéril y un émbolo de jeringa en PBS amortiguado con un pH de 7.4. La suspensión celular obtenida fue centrifugada a 2000 rpm durante 3 minutos, se decantaron y resuspendieron en 500 µl de Buffer de lisis para eritrocitos, se incubaron durante 10 min a (TA) temperatura ambiente, se añade 1 ml de buffer de FACS, y se llevan las muestras a la centrifuga, nuevamente a 2000 rpm, son decantadas y re suspendidas en buffer 500 µl los bazos y 200 µl los NLM. Se colocan 25µl de células por cada pozo para

poder continuar con la tinción. La tinción se llevó a cabo con los anticuerpos CD3+ Alexa 488, CD4+ acoplado a PE-Cy5, CD8 acoplado a PE (ficoeritrina), CD45 acoplado a PE, NK en APC. Se colocaron 25 µl de la mezcla de los anticuerpos por cada pozo, se incuban 10 min a 4°C, se añaden 150 µl de buffer de FACS y nuevamente se centrifugan a 2000 rpm. Las muestras son decantadas y se añaden 100 µl de buffer de FACS y se agregan 100 µl de buffer de fijación al 4% (PFA). Las muestras se cubren a 4°C en completa oscuridad hasta analizar y capturar en el citómetro de flujo FACS Calibur.

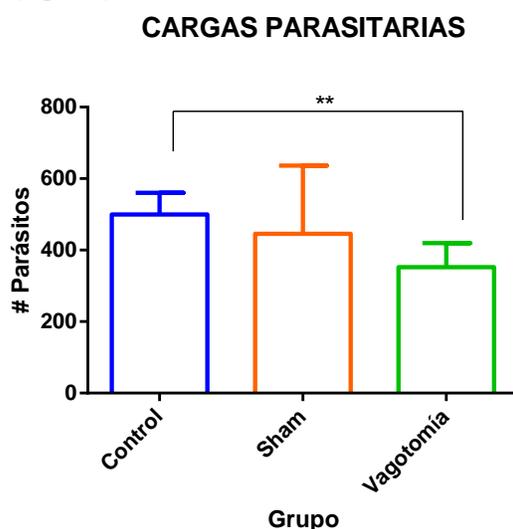
## 5.9 Análisis estadístico

Los resultados obtenidos se muestran en gráficas de barras señalando la media, el error estándar de la media y se evaluaron estadísticamente mediante un análisis de varianza de dos factores (*two-way ANOVA*) y una comparación múltiple posterior a este análisis de *BONFERRONI* entre todos los grupos. Con un valor de \*  $p < 0.05$  \*\*,  $p < 0.001$ \*\*,  $p < 0.001$  \*\*\*. Se utilizó el programa *GraphPad Prism* para hacer las gráficas correspondientes.

## 6. Resultados

### 6.1 Carga parasitaria

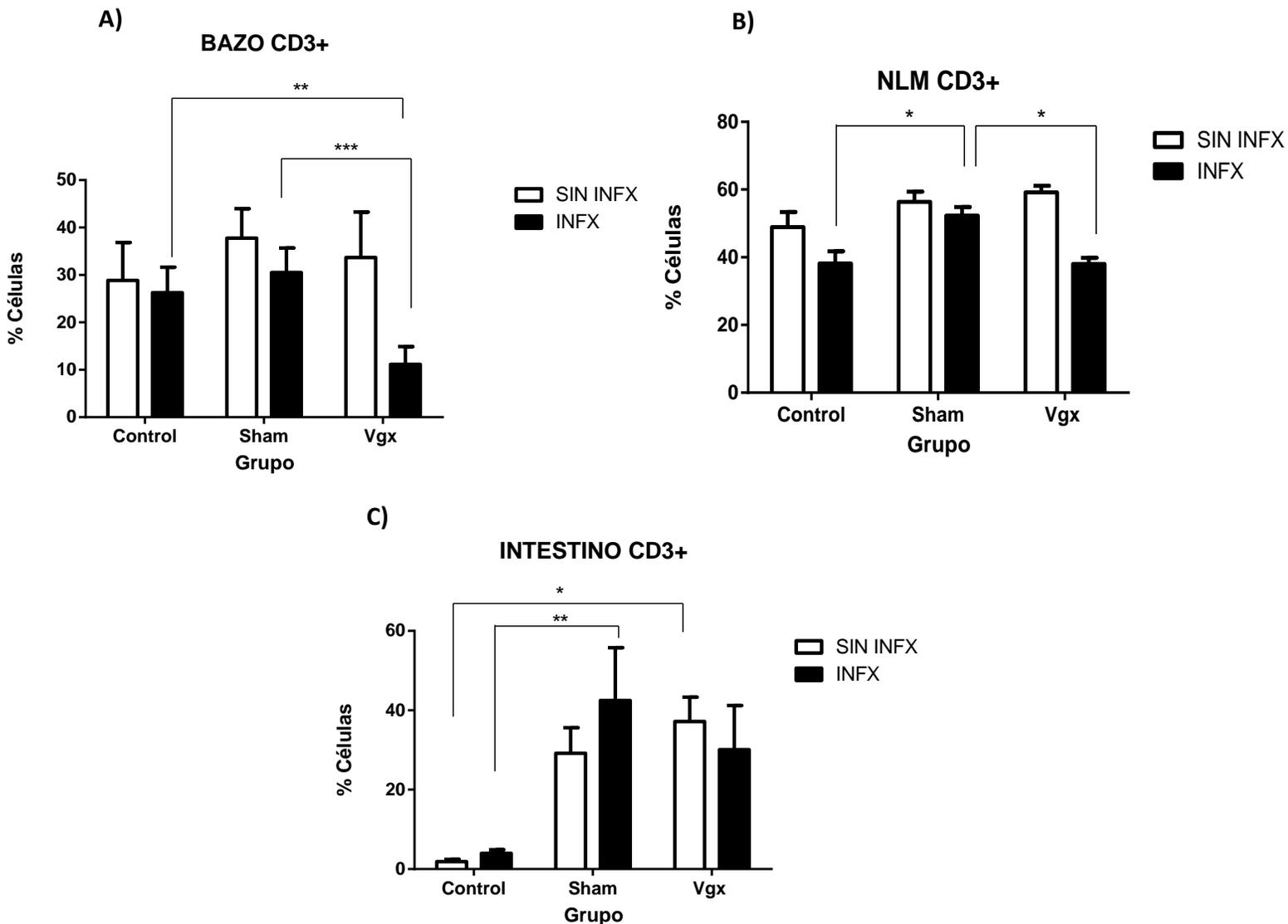
Para evaluar el efecto de la vagotomía sobre la carga parasitaria en individuos infectados, se obtuvo el número de larvas adultas contenidas en el intestino delgado, por el método de sedimentación. Se encontró que los individuos sometidos a vagotomía presentaron una menor carga parasitaria, en comparación con los del grupo Control (Figura 1). Dado que el grupo Sham (cirugía simulada) no resultó distinto del grupo Control, se asume que el efecto sobre la carga parasitaria se debe a la denervación parasimpática realizada y no al estrés de la cirugía (fig. 17).



**Fig.17 Carga parasitaria obtenida por sedimentación de contenido intestinal.** Número total de larvas. \*\*  $p < 0.01$ . (Control 10 Sham 9 Vagotomía 10)

## 6.2 Sub-poblaciones celulares

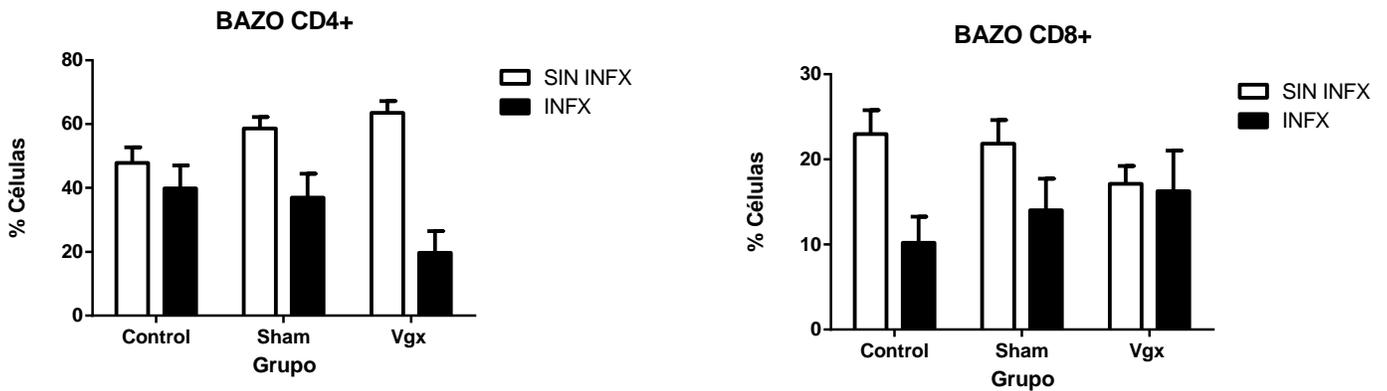
En las poblaciones celulares de linfocitos T CD3+, los animales infectados muestran diferencias significativas en comparación con los del grupo control no infectado (fig. 18); la expresión de linfocitos T en animales Vgx, se ve disminuido considerablemente en tejidos como el Bazo, en donde hay diferencias significativas entre los grupos sham, Vgx y control en animales infectados. En los NLM, hay diferencias entre los grupos sham y Vgx en los individuos infectados, los animales no infectados en tejido de intestino muestran cambios en los grupos sham y control, esto puede deberse al hecho de ser sometidas a un estrés y que en su organismo cambien considerablemente.



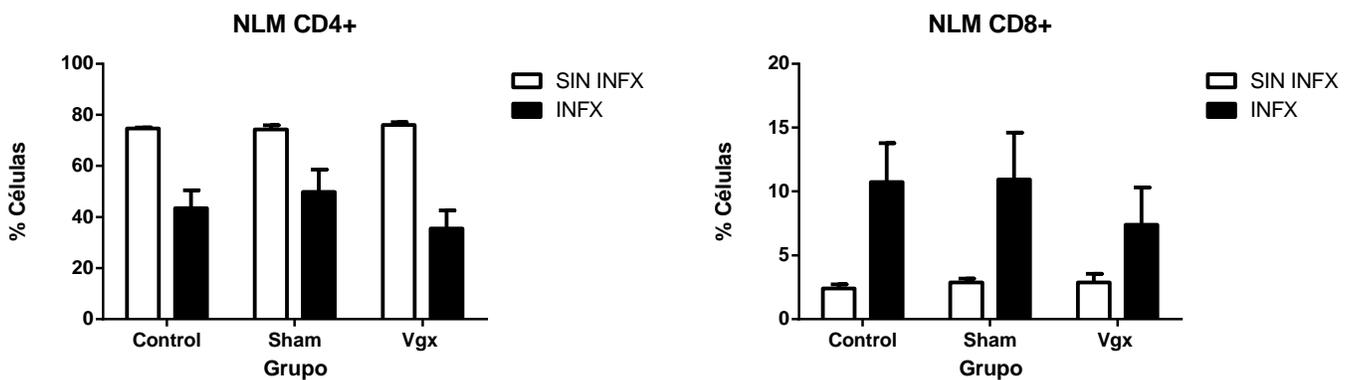
**Fig.18 Linfocitos T totales.** Porcentaje de linfocitos T en **A)** Bazo, **B)** NLM y **C)** intestino de ratones no infectados (Barras blancas) o infectados (Barras negras). Grupos experimentales: Control (sin cirugía), Sham (cirugía simulada), Vgx (vagotomizados). n= 9-10. \* p < 0.05, \*\* p < 0.01, \*\*\*p < 0.001. Desviación estándar ± media.

Las poblaciones celulares de linfocitos T cooperadores y Tcitotóxicos estadísticamente, no muestran diferencias significativas (fig. 19), aunque podemos observar una disminución de linfocitos CD4+ en los animales infectados vagotomizados en tejido de bazo y NLM, en intestino no muestra diferencias en los animales infectados y no infectados. Los linfocitos CD8+, en comparación a los CD4+, aumentan en tejidos como bazo en el grupo de animales infectados vagotomizados.

A)



B)



C)

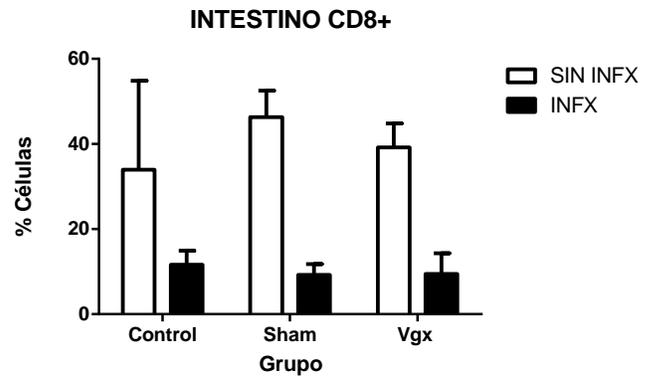
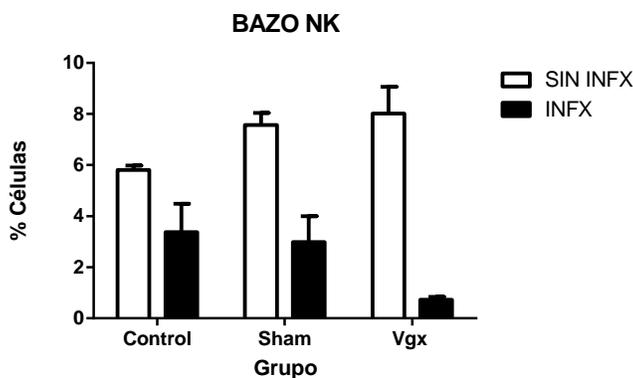
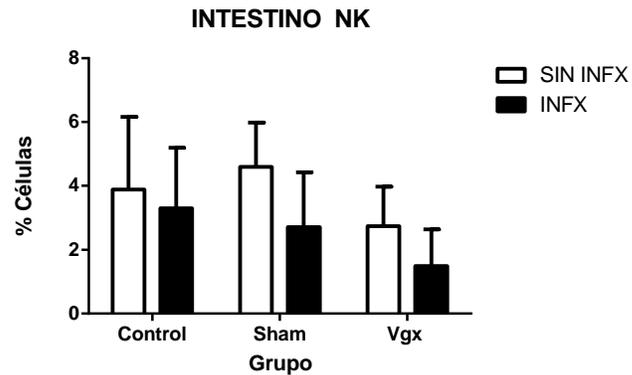


Fig.19 **Porcentaje de Linfocitos T Cooperadores y Citotóxicos.** A) Linfocitos CD4, CD8 en Bazo, B) Linfocitos CD4, CD8 en NLM, C) Linfocitos CD4, CD8 en intestino de ratones no infectados (Barras blancas) o infectados (Barras negras) a los que se les realizó una cirugía simulada (Sham) o Vagotomía (Vgx). Se incluyen ratones sin cirugía (Control). Desviación estándar  $\pm$  media.

Las poblaciones celulares de células NK, no muestran diferencias significativas en ningún tejido. Aunque en los animales infectados vagotomizados en tejido de bazo, se observa una disminución de células NK, en comparación con los grupos sham y control (fig. 20). Los NLM presentan un aumento de células en el grupo de animales vagotomizados infectados. En el tejido del intestino, el porcentaje de células no se observan cambios significativos.





**Fig.20 Porcentaje de células NK (Natural Killer). A) Células NK en Bazo, B) Células NK en NLM, C) Células NK en intestino de ratones no infectados (Barras blancas) o infectados (Barras negras) a los que se les realizó una cirugía simulada (Sham) o Vagotomía (Vgx). Se incluyen ratones sin cirugía (Control). Desviación estándar  $\pm$  media.**

Los porcentajes de linfocitos B, muestran cambios significativos en los grupos de animales vagotomizados infectados en tejidos como en el bazo, se observa un decremento de linfocitos B los animales vagotomizados en comparación con los animales sham y control (fig. 21). Lo que se observa en estas poblaciones celulares es que proliferaran los linfocitos B en los animales sham en grupos de animales infectados en tejido de bazo. A pesar de esto los porcentajes de linfocitos B se muestran disminuidos en los animales vagotomizados infectados, en tejidos como el bazo y el intestino. Los NLM son diferentemente significativos los animales sham infectados en comparación a los animales control infectados.

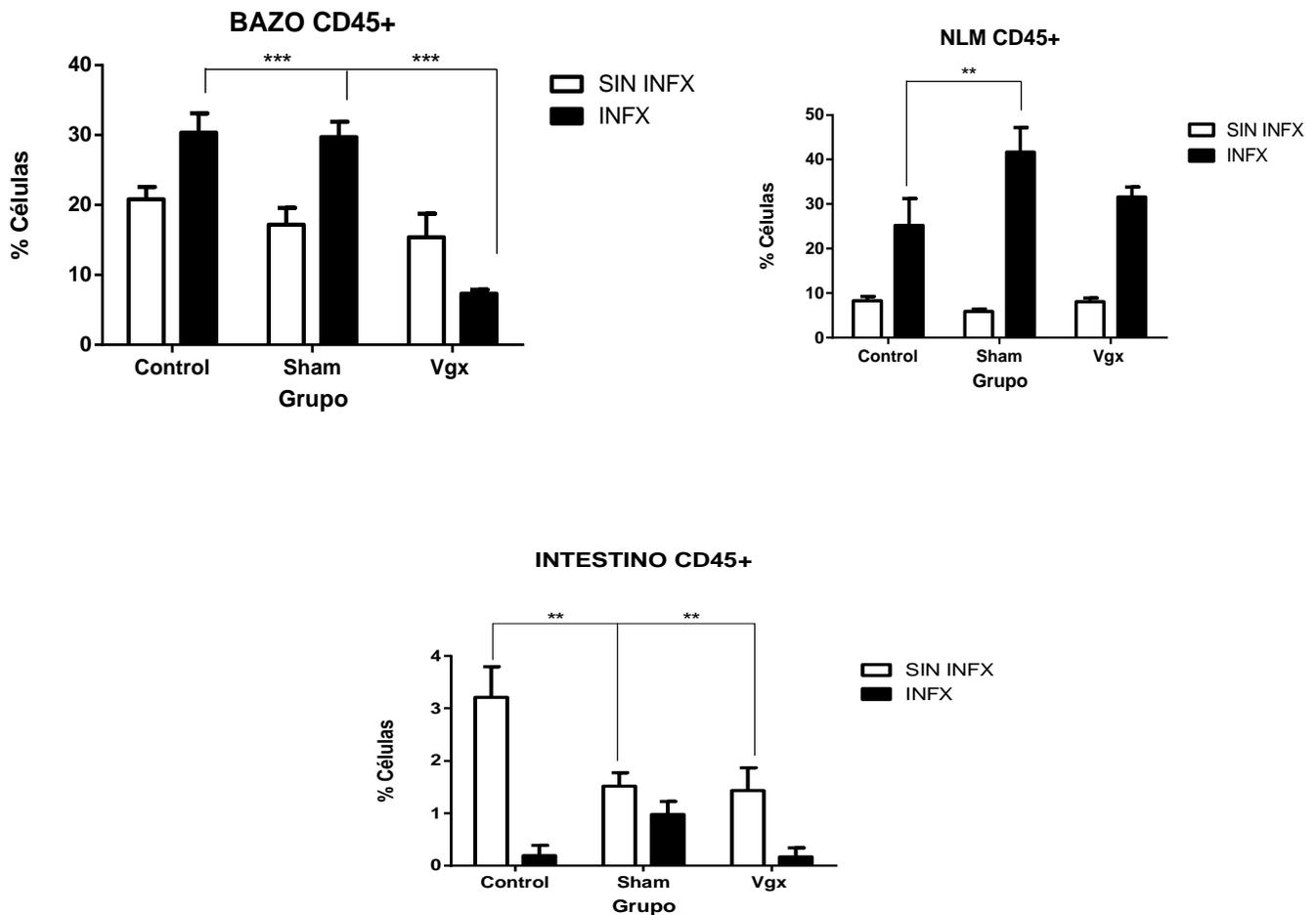


Fig.21 **Porcentaje de Linfocitos B.** A) CD45 en Bazo, B) CD 45 en NLM, C) CD45 en intestino de ratones no infectados (Barras blancas) o infectados (Barras negras) a los que se les realizó una cirugía simulada (Sham) o Vagotomía (Vgx). Se incluyen ratones sin cirugía (Control). N= 9-10. \*\* p <0.01, \*\*\*p < 0.001.

## 7. Discusión

Los sistemas endócrino e inmunológico interactúan bidireccionalmente y actualmente existen múltiples evidencias de ello cuya función primordial es la preservación de la homeostasis del organismo. Este macrosistema neuro-inmuno-endócrino (NIE) se comunica a través de hormonas de naturaleza proteica y esteroide, tales como las citocinas, neurotransmisores, neuropéptidos.

Esta comunicación bidireccional es estudiada en la actualidad; de tal manera de saber la bidireccionalidad que se tiene entre el cerebro y sistema inmune. Durante una infección parasitaria, como en el caso de *Trichinella spiralis*, diversos elementos intervienen para eliminar a los parásitos adultos; las células cebadas y las células caliciformes por la

producción de moco en el intestino. Si bien es conocido el sistema nervioso autónomo (SNA), controla las funciones GI, y este al ser alterado, las funciones GI cambian considerablemente.

Las células del SI (ante una infección parasitaria) producen citocinas (IL-4, IL-5, IL-9, IL-13), las cuales hacen que las células caliciformes y cebadas aumenten la producción de moco. También promueven el aumento en la motilidad intestinal y la contractibilidad se ve disminuida. Por lo tanto el SI modula los elementos anteriores. Dando lugar a una menor susceptibilidad a la infección, lo cual se hace evidente con la disminución en el número de parásitos obtenidos del intestino delgado.

Era de nuestro interés evaluar la influencia de la innervación parasimpática intestinal sobre la respuesta inmune generada ante la infección por el parásito *Trichinella spiralis*.

En cuanto a la carga parasitaria, se observó un efecto dramático de la vagotomía, pues se redujo en un 50%, con respecto al grupo Control. Si bien nuestra hipótesis planteaba que ocurriría un cambio en este parámetro, se esperaba que éste fuera a la alza, puesto que tras la denervación vagal se observó una motilidad intestinal disminuida, lo cual se asociaría a una menor expulsión de las larvas adultas y por lo tanto a una mayor carga parasitaria.

La motilidad disminuida no se limitaba al tejido intestinal, si no que también se observó un aumento en el volumen del estómago, lo cual sugiere que las larvas del parásito pudieron disminuir su viabilidad. Por tanto por tener baja motilidad intestinal, podemos pensar que las larvas a pesar de ser liberadas en el estómago, no todas eran expulsadas por el mismo. Si bien el parámetro de carga parasitaria sugería un efecto de la vagotomía, éste podía deberse únicamente al efecto sobre la motilidad del TGI y no necesariamente sobre la respuesta inmune contra el parásito. Por ello, se evaluó dicha respuesta a nivel local (intestino y NLM), y a nivel sistémico (bazo).

Se observaron cambios en el bazo, entre los grupos de animales infectados los cuales muestran una notable diferencia en los grupos vagotomizados y el grupo sham; lo cual es indicativo de que efectivamente, la respuesta inmune generada contra el parásito fue

distinta en los vgx, con respecto a los controles y a los animales sometidos a cirugía simulada.

Las sub-poblaciones celulares CD4, CD8, CD45, en NLM y en el intestino, de individuos no infectados se vieron modificadas incluso en ausencia de la infección, también observamos que los animales del grupo sham no infectados se vieron modificados a pesar de no tener presente la infección, s

Esto sugeriría que la innervación vagal interfiere no sólo en la respuesta inmune sino en las condiciones basales de las poblaciones inmunes residentes en el intestino, bazo y en los NLM.

Dentro de nuestros resultados obtenidos, podemos observar claramente la interacción que tiene la vagotomía con el curso de la infección, a pesar de que existe poca información disponible al respecto, se han reportado estudios acerca del uso y aplicaciones que tiene la vagotomía, tales como la disminución o erradicación de colitis, control de úlcera gástrica y en algunos casos se ha llegado a pensar en poder utilizar la vagotomía como un medio para controlar la obesidad (Stabile BE. 1999; Kral JG, Paez W. 2006).

Algo que es importante destacar es que la infección con *Trichinella spiralis* en relación al hospedero-parásito es bidireccional, por lo que el propio parásito también es capaz de inducir cambios en su hospedero para mejorar su invasividad. De manera general, los resultados hacen evidente que independientemente de la vagotomía se muestran cambios por la infección. Por otra parte se pueden tomar en cuenta dos cosas, que los cambios observados pueden deberse o a la vagotomía o por el simple hecho de tener una infección parasitaria, en este caso por *Trichinella spiralis*.

A pesar de la evidencia científica con la que contamos nos orienta a pensar en la importancia del nervio vago, el cual permite que se envíen los impulsos nerviosos hacia el tracto gastrointestinal y este funcione de una manera normal y adecuada, no se han encontrado estudios donde se muestren los efectos en donde el nervio vago al ser seccionado, afecte de manera menos grave el curso de la infección aguda por *Trichinella spiralis*.

Los resultados presentes en este proyecto sugieren que, en efecto, la infección junto con la cirugía (Vagotomía), modifican la respuesta inmunitaria en los animales infectados, dando lugar a una menor susceptibilidad en la infección, se evidencia en el conteo para la recuperación de parásitos intestinales. Puesto que la motilidad intestinal se ve disminuida considerablemente, y esta es de suma importancia para la expulsión de este parásito intestinal. Sin motilidad y contractibilidad intestinal no hay expulsión de este parásito. Sabemos que en la respuesta inmunitaria a helmintos hay un aumento de producción de eosinófilos, células cebadas y caliciformes, estas dos últimas promueven la eliminación del parásito por la producción de moco en el intestino. Produciendo una respuesta de tipo TH2 ante una inflamación.

En cuanto a las cargas parasitarias, se observan diferencias evidentes entre el grupo Control y el grupo de animales VGX (Vagotomizados). Se esperaba que el grupo control y el grupo sham fueran parecidos, lo cual sucedió, puesto que el simple hecho de someter a los animales bajo condiciones de estrés modifica la respuesta inmune. Se observó que la vagotomía, hace cambios notables en los animales como un aumento del estómago, baja motilidad intestinal, evidenciada por la gran carga de contenido intestinal. Por la baja motilidad intestinal, se esperaba que en el grupo de animales Vagotomizados la carga parasitaria se viera notablemente en aumento por la dificultad de expulsar larvas de *Trichinella spiralis*, lo que pudo haber ocurrido fue que las larvas que pasaban del estómago al intestino fueran menos de las que normalmente llegan al intestino; se sabe que al vagotomizar, hay un decremento de producción de HCl en el estómago, lo cual hace que la liberación de las larvas de su célula nodriza se altere por la disminución de producción de HCl.

Con base a lo anterior podemos sugerir que el sistema nervioso parasimpático, a través del nervio vago, ejerce una función reguladora de la actividad inmune; así como, moduladora de la actividad gastrointestinal. Este hecho podría tener relevancia y aplicaciones clínicas como ya antes lo he mencionado. La conexión del sistema nervioso e inmune funciona como un mecanismo anti-inflamatorio tanto en infecciones parasitarias locales y sistémicas. El sistema nervioso central de igual manera, regula al sistema inmune

mediante diversos mecanismos; la inflamación es una respuesta fisiológica, la cual contribuye a diversos procesos patológicos que cursan con disfunción autonómica, con esto hago énfasis al mal funcionamiento del sistema nervioso autónomo. Todo esto puede ayudar a seguir investigando la compleja interacción de los sistemas inmune nervioso y endócrino para comprender mejor el proceso de salud-enfermedad.

## **8 Conclusiones.**

\*El sistema inmune es la primera línea de defensa contra patógenos invasores, por lo que su funcionamiento adecuado es esencial para la sobrevivencia. El sistema nervioso central interactúa dinámicamente con los otros dos sistemas para modular la inflamación durante una infección parasitaria intestinal.

\*El nervio vago es el principal constituyente del sistema nervioso parasimpático, este nervio controla una gran variedad de funciones vitales para el buen funcionamiento del organismo, entre ellas las funciones gastrointestinales; también regula la secreción de diversas hormonas que tienen efecto sobre el aparato digestivo.

\*La vagotomía es en la actualidad un modelo de estudios de las interacciones neuroinmunoendócrinas, la cual puede ayudar a seguir descubriendo nuevos usos y aplicaciones terapéuticas en medicina.

## **9. Bibliografía.**

\*Abbas, AK, Murphy, KM, Sher, A. 1996 Functional diversity of helper T lymphocytes. Nature; pp 787-793.

\*Álvarez Crespo. 2009. Gastrointestinal hormones in food intake control. Laboratorio de Endocrinología. Departamento de Biología Funcional y Ciencias de la Salud. Facultad de Biología. Universidad de Vigo. Vigo. Pontevedra. España.

\*Argo A, Staniz AM 1995. Neuroimmunomodulation: classical and non-classical cellular activation. Adv Neuroimmunology. pp 311-319.

\*Armstrong, MD, Klein JR 2001. Imunne-endocrine interactions of the hypothalamus-pituitary-thyroid axis: integration, communication and homeostasis. pp 231-237.

\*Akiho, H., Blennerhassett, P.A., Deng, Y. 2002. Role of the IL-4, IL-13 and the Stat6 in inflammation induced hipercontractibility of murine smooth muscle cells. American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology. 282-290.

\*Besedovsky H. Science., 1986. By American Association for the Advancement Science Immunoregulatory feedback between interleukin-1 and glucocorticoids hormones.

\*Capó V., Despommier, D.D. 1996. Clinical aspects of infection with Trichinella spp. Clinical microbiology. pp 47-54.

\*Chávez E., Saldivar S., Muñoz J., Moreno M. 2006. Trichinellosis, una zoonosis vigente. Revista Electrónica de Veterinaria REDVE, vol. VII. México.

\*Dorantes 2012. Endocrinología Clínica, 2012, 4ta ed. editorial Manual Moderno de endocrinología básica. ISBN: 9786074482492. pp 295-315

\*Elenkov, IJ. 2004. Glucocorticoids and the Th1/Th2 balance. Ann. New York. Pp 138-146.

\*Gaillard, RC, 2001 Interaction between the hypothalamo-pituitary-adrenal axis and the immunological system. Ann Endocrinology Paris. pp 155-163.

\*Grossman, C. 1989 Possible underlying mechanisms of sexual dimorphism in the immune response, fact and hypothesis. J. steroid Biochemistry. London. pp 241-251.

\*Harrison's. 2010, Endocrinology 2ª Ed, Jameson, Editorial McGraw-Hill, ISBN: 9780071741446 pp 345-456.

\*Harrison, et al. 2005. Principios de Medicina Interna. Decimosexta edición. Editorial McGraw-Hill Interamericana. Madrid. pp 116-125.

\*Hernández Bello R., 2008. Identificación y caracterización de caveolina-1, una proteína estadio- y sexo-específica que participa en la ovogénesis y embriogénesis en *Trichinella spiralis*. Tesis de Doctorado, CINVESTAV, IPN, México.

\*Hicks J.J. 2000. Bioquímica. Primera edición. Editorial McGraw-Hill Interamericana. México D.F. pp 416-514.

\*Janeway's. 2008. Immunobiology. Seventh edition. Ed. Garland Science. New York and London. pp 3-60.

\*Khan, W.I., 2008. Physiological changes in gastrointestinal tract and host protective immunity: learning from the mouse-*Trichinella spiralis* model, *Parasitology*. pp 135, 671-682.

\*Mossman, Coffman RL. 1989 TH1 and TH2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *A Review of Immunology*. pp 145-173.

\*Morales-Montor 2004. Immune sexual dimorphism: can sex steroids affect the th1/th2 cytokine profile?. *Review Clinical investigation*. pp 161-169.

\*Michels C., Sclaes H., Saunders K., et. al. 2008. Neither interleukin-4 receptor  $\alpha$ , expression on CD4 T cells or macrophages and neutrophils is required for protective immunity to *Trichinella spiralis*. *Immunology*. pp 385-393.

\*Miller. 2010 Illustrated Biochemistry. 27th Edition. Editorial McGraw-Hill Interamericana. México D.F. pp 214-225.

\*Postolache. 2005. Current concepts of the interactions of regulating systems: nervous, endocrine and immune. London. pp 3-20.

\*Pozio E. 2012. Molecular taxonomy, phylogeny and biogeography of nematodes belonging to the *Trichinella* genus. *Infection, Genetics and Evolution*.pp 606-613.

\*Tonelli E., 1992. Taxonomic revision of the genus *Trichinella*. *Journal of parasitology*. 654-659.