



141
24

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

Facultad de Ciencias
Departamento de Biología

MUTACIONES GENICAS EN NEUROCISTICERCOSOS
TRATADOS CON PRAZIQUANTEL

T E S I S

Para obtener el Título de
B I O L O G O
p r e s e n t a

FELIPE DE J. MORENO TORRES

JUNIO DE 1991

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



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 está 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.

INDICE.

| | | | |
|-------|---|-------|----|
| - | Objetivos. | ----- | 1 |
| - | Introducción. | ----- | 2 |
| I. | Cisticercosis. | ----- | 3 |
| 1.1 | Características Generales. | ----- | 3 |
| 1.2 | Morfología. | ----- | 5 |
| 1.3 | Anatomía, Patología y Sintomatología. | ----- | 5 |
| II. | Formas de Diagnóstico: | ----- | 8 |
| II.1 | Convulsiones. | ----- | 9 |
| II.2 | Biopsia. | ----- | 10 |
| II.3 | Rayos X. | ----- | 10 |
| II.4 | Neuroencefalografía. | ----- | 11 |
| II.5 | Tomografía Axial Computarizada (TAC). | ----- | 11 |
| II.6 | Oftalmoscopia y Métodos Inmunológicos. | ----- | 12 |
| III. | Cuadro Clínico y Tratamientos. | ----- | 14 |
| IV. | Praziquantel: | ----- | 16 |
| IV.1 | Características. | ----- | 16 |
| IV.2 | Usos del Praziquantel. | ----- | 17 |
| IV.3 | Farmacocinética. | ----- | 17 |
| IV.4 | Mecanismos de Acción del Praziquantel sobre el parásito. | ----- | 19 |
| IV.5 | Tratamiento con Praziquantel. | ----- | 20 |
| IV.6 | Evaluación Toxicológica. | ----- | 21 |
| IV.7 | Mutagenicidad y Genotoxicidad. | ----- | 23 |
| V. | Pruebas de Evaluación para Genotoxicidad. | ----- | 24 |
| V.1 | Mutaciones en la glicoforina. | ----- | 26 |
| V.2 | Mutaciones en la hemoglobina. | ----- | 27 |
| V.3 | Mutaciones en el locus HGPRT. | ----- | 28 |
| V.3.1 | Síntesis de Purinas, Vía de Novo. | ----- | 29 |
| V.3.2 | Vía de Recuperación o de ahorro. | ----- | 30 |

| | | |
|-------|--|----|
| V.3.3 | Características de la Enzima HGPRT. ----- | 30 |
| V.3.4 | Deficiencia congénita en el Locus HGPRT. ----- | 31 |
| V.3.5 | Prueba Directa de Mutagenicidad en el Locus HGPRT en linfocitos de sangre periférica de humanos. ----- | 34 |
| V.3.6 | Locus HGPRT. Localización. ----- | 34 |
| | Planteamiento del Estudio. ----- | 36 |
| | Material y Métodos. ----- | 37 |
| | Material. ----- | 37 |
| | Métodos. ----- | 39 |
| | Resultados, Tablas y Gráficas. ----- | 44 |
| | Discusión y Conclusiones. ----- | 53 |
| | Glosario. ----- | 57 |
| | Bibliografía. ----- | 59 |

OBJETIVOS

Objetivo general:

Este trabajo tiene como objetivo general el evaluar la acción del praziquantel (PZQ), medicamento antiparasitario suministrado a pacientes neurocisticercosos, como probable agente de efectos genotóxicos para el hombre, mediante la técnica de detección de mutaciones en el locus HGPRT para poblaciones expuestas.

Objetivos específicos:

- Así mismo, pretende valorar en su conjunto el efecto mutagénico que ejercen diversos métodos de diagnóstico y tratamiento aplicados a pacientes con neurocisticercosis y daño neurológico.

- De igual modo, se establecerá la frecuencia de mutaciones génicas en el locus HGPRT inducidas por el praziquantel.

INTRODUCCION

La cisticercosis se presenta como un problema de salud mundial, principalmente en países de Latinoamérica, Africa y Asia. En México la información en relación con la prevalencia de la cisticercosis es incompleta; se sabe que alrededor del 17% de casos de infección por helmintos es causada por céstodos, pero no hay informes exactos sobre la endemicidad y los efectos económicos de los cisticercos en los seres humanos y en los cerdos. Las cifras estimadas existentes carecen de precisión. Probablemente la cisticercosis del hombre es más común de lo que indica la frecuencia comunicada, debido a que muchos casos escapan al diagnóstico. Lo que sí se puede afirmar es que la cisticercosis es una enfermedad frecuente en México y en otros países del tercer mundo. La prevalencia de estos parásitos es variable y depende de: las medidas sanitarias en relación con el manejo y destino de las heces fecales humanas, el control de la carne de cerdos parasitados, y los procedimientos para identificar y tratar al enfermo portador del parásito.

I. CISTICERCOSIS.

I.1 Características Generales.

La *Taenia solium*, céstodo que parasita al cerdo y a través del cual se transmite al hombre, es el responsable de la cisticercosis; es un parásito capaz de generar dos formas de enfermedad en el ser humano y éstas dependen de la fase del ciclo biológico en la que el parásito infecta al huésped: la forma adulta, o solitaria, causa teniasis y la forma larvaria, o cisticerco, causa cisticercosis.

El hombre puede actuar como huésped definitivo o intermediario de *T. solium* y por ende, albergar al verme adulto o al quiste (24).

Durante su ciclo de vida la *T. solium* afecta a un huésped definitivo, a otro intermediario y tiene una fase de vida libre. Es un ciclo de vida muy complejo en el que intervienen factores biológicos, ambientales, económicos y sociales.

La cisticercosis se da por la ingestión de alimentos o bebidas contaminados con heces de personas infectadas, por transmisión bucal, por desaseo en las manos de portadores de tenia adulta, por la presencia de huevecillos en el medio ambiente como producto de la defecación al aire libre de personas y animales infectados y por autoinfección interna debido a la regurgitación de huevos al estómago, por peristaltismo inverso. El portador de la solitaria siempre es el ser humano y es considerado el principal vector de transmisión por ser el portador de cisticercos capaces de transformarse en solitaria (31).

Ciclo biológico de *Ascaris solium*

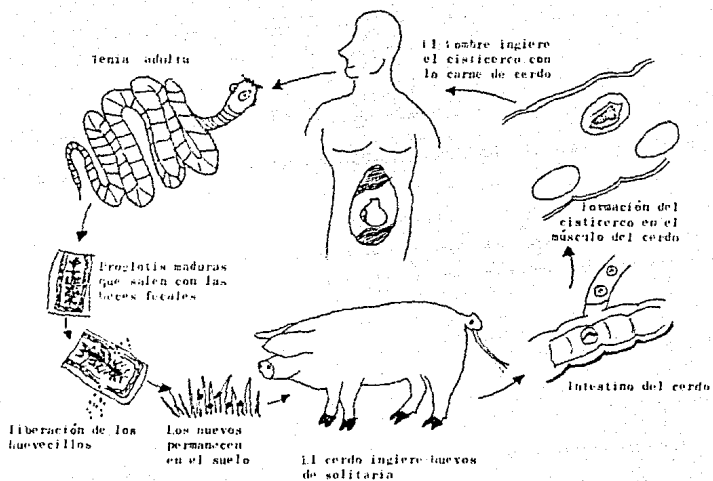


FIGURA 1

I.1 Morfología.

El cisticerco maduro es un quiste oval, translúcido, con un escólex invaginado opaco con cuatro ventosas y un círculo de ganchos.

Generalmente está encerrado en una cápsula adventicia resistente, aunque puede no tenerla. Adquiere su tamaño máximo alrededor de las 10 semanas.

Los quistes son ovales de 5 mm. de diámetro aproximado, pero en el cerebro pueden crecer hasta varios centímetros de diámetro (7, 39).

1.3 Anatomía Patológica y Sintomatología

La cisticercosis, en general, es múltiple. El número de cisticercos puede llegar hasta muchos miles, y puede desarrollarse en cualquier órgano o tejido del cuerpo. Su localización más frecuente son los músculos estriados y el cerebro, pero también ocurren en el tejido subcutáneo, ojo, corazón, pulmón y el peritoneo. El quiste en crecimiento provoca reacción inflamatoria, de cuerpo extraño por la que se forma una cápsula fibrosa. Al morir la larva, que puede sobrevivir más de cinco años, aumenta el líquido del quiste, produciendo una respuesta tisular intensa contra las proteínas tóxicas. El parásito degenerado generalmente se calcifica. La anatomía patológica

depende del tejido invadido y del número de cisticercos. La invasión del cerebro y del ojo ocasionan lesiones graves (58).

Durante la fase de invasión, puede no haber síntomas prodrómicos o sólo dolor muscular ligero y fiebre moderada. Los cisticercos son tolerados en el músculo y en el tejido subcutáneo y aun con infestaciones masivas puede no haber síntomas. Puede haber mialgias en la nuca, debilidad, fatiga, calambres, pérdida de peso y nerviosismo. En el músculo, hay degeneración y atrofia en la vecindad inmediata al parásito.

Las manifestaciones graves de la enfermedad ocurren en la cisticercosis cerebral, generalmente ligada a una cisticercosis generalizada no reconocida. Los cisticercos pueden encontrarse en la corteza cerebral, las meninges, los ventrículos y con menos frecuencia, en el parénquima cerebral. Generalmente se encuentra cerca de la superficie del cerebro, sobre los lóbulos frontal y parietal, siguiendo las arterias cerebrales medias y en ocasiones, en la región occipital en el cerebelo. Ocasiona edema cerebral e hipertensión, pero hay tolerancia relativa mientras el parásito vive (49, 36).

La encapsulación, en tres capas concéntricas, resulta de la proliferación de la neuroglia y del tejido de granulación celular, con trastornos vasculares inflamatorios. La neuroglia y las células nerviosas muestran trastornos compresivos o tóxicos. En ocasiones, el parásito puede absorberse y sustituirse con tejido fibroso que puede originar manifestaciones tardías de epilepsia. A veces hay calcificación y absorción incompleta del parásito (62).

Generalmente, no hay síntomas definidos durante 5 a 8 e incluso 20 años, hasta que la muerte del parásito provoca reacciones inflamatorias tóxicas (37).

Pueden aparecer síntomas antes, por presión de los quistes y obstrucción al curso del líquido cefalorraquídeo. Sin embargo, el paciente puede presentar síntomas en plazo de un año si los cisticercos están localizados en zonas que gobiernan funciones motoras. Entre las manifestaciones tardías más notables cabe señalar los espasmos unilaterales recurrentes irregulares, que pueden más tarde volverse bilaterales. En un principio, no hay pérdida de la conciencia, aunque si puede presentarse esta situación más tarde. Los cisticercos, en diferentes partes del cerebro producen diversos síntomas mentales, sensoriales y motores. Puede haber síntomas de tumor cerebral, de meningitis, de encefalitis, de hidrocefalia y de esclerosis diseminada (59). Los síntomas predominantes pueden ser parálisis transitorias, defecto visual, diplopía, cefaleas bruscas y trastornos mentales. Los síntomas más notables son mentales, como confusión, irritabilidad, insomnio, ansiedad, cambios de personalidad, falta de concentración, alucinaciones y en ocasiones deterioro mental. La afección de la médula espinal puede producir hiperestesia y alteración de los reflejos. La hipertensión intracraneal puede ocasionar edema papilar y atrofia óptica. Puede haber hipertensión, aumento de células, principalmente de linfocitos, y de mononucleares grandes, un porcentaje variable de eosinófilos y disminución de la glucosa (55).

La neurocisticercosis mixta es la forma que habitualmente provoca la enfermedad más grave y polifacética, ya que combina los síntomas y el daño de las diferentes formas antes mencionadas y evoluciona hacia un cuadro clínico caleidoscópico (36, 58).

II. FORMAS DE DIAGNOSTICO.

En resumen, como datos clínicos importantes que hacen pensar en el diagnóstico de neurocisticercosis y deben tenerse presentes son:

1. Vivir o haber vivido en zona endémica.
 2. El antecedente de teniasis personal o familiar.
 3. La presencia de cefalea atípica, crónica, persistente, rebelde a tratamiento comunes.
 4. La aparición de crisis convulsivas tardías (después de los 21 años.
 5. La aparición de síntomas neurológicos sobre todo si se asocian con un cuadro de hipertensión endocraneana.
 6. La aparición de deterioro mental en un individuo no senil, asociada o no a hipertensión intracraneal.
- (3)..

II.1 Convulsiones.

El diagnóstico clínico de cisticercosis cerebral se determina por las convulsiones epileptiformes u otras manifestaciones nerviosas, en una persona que ha residido en zona endémica, especialmente si hay antecedente de nódulos subcutáneos. La epilepsia idiopática generalmente empieza en la niñez, la epilepsia por vermes empieza tardíamente, en la vida. Es indispensable hacer el diagnóstico diferencial con otras enfermedades neurológicas. La sintomatología de la neurocisticercosis es muy compleja, ya que presenta todas las combinaciones imaginables de síntomas que pueden describirse como caleidoscópicas y cuyo análisis cuidadoso permite, a veces reconocer la localización del parásito en el tejido nervioso. (17).

La aparición de crisis convulsivas parciales o generalizadas, que presentan fenómenos de irritación cortical, se observa cuando los parásitos se hallan en contacto con la corteza, como sucede en la localización meníngea. En cambio la asociación de crisis convulsivas, con trastornos de la esfera mental, movimientos involuntarios o déficit motor y cefalea crónica, se observa en la localización parenquimatosa. (18).

II.2 Biopsia.

La biopsia de los quistes subcutáneos palpables, hace el diagnóstico definitivo. Los rayos X de los músculos infectados pueden servir para el diagnóstico si los vermes están calcificados. Varios procedimientos han sido utilizados para el diagnóstico radiológico de la neurocisticercosis. (55).

II.3 Rayos X.

La radiografía simple del cráneo muestra en ocasiones, imágenes hiperdensas que, cuando son redondeadas y miden entre 3 y 6 mm. de diámetro sugieren parásitos calcificados. Estas imágenes deben distinguirse de las calcificaciones fisiológicas o de otras calcificaciones patológicas como los granulomas crónicos por tuberculosis. Sin embargo se ha visto y comprobado, por hallazgos de autopsias que parásitos en la etapa nodular calcificada no han sido detectados por la radiografía simple de cráneo. (17).

II.4 Neuroencefalografía.

Otros procedimientos más invasivos y complicados como la neuroencefalografía han proporcionado ayuda diagnóstica con limitaciones para cada uno de los procedimientos ya que sólo demuestran la presencia de parásitos en forma indirecta al mostrar desplazamientos ventriculares o vasculares. (22).

II.5 Tomografía axial computarizada (T.A.C.).

En la actualidad la tomografía axial computarizada TAC es el procedimiento de elección para lograr un diagnóstico preciso de la neurocisticercosis (38, 40). Las imágenes que se obtienen y que permiten el diagnóstico o la sospecha diagnóstica de neurocisticercosis incluyen las siguientes:

- a) Imágenes quísticas hipodensas tanto meníngicas como parenquimatosas que muestran un halo hipodenso como respuesta al reforzamiento cuando se aplica medio de contraste.
- b) Imágenes moderadamente hiperdensas con la TAC simple que se refuerzan intensamente con el contraste y aparecen como nódulos hiperdensos o imágenes anulares hiperdensas con halo de hipodensidad tanto por cisticercos parenquimatosos como meníngicos.

c) Imágenes nodulares hiperdensas en la TAC simple - nódulos calcificados - dispersos en la superficie o profundidad del parénquima cerebral.

d) Hiperdensidad difusa en fina trama filiforme que sólo aparece con reforzamiento con medio de contraste en las cisternas subaracnoideas basales y que corresponde a la leptomeningitis basal.

e) Dilatación ventricular o sea hidrocefalia con o sin demostración de imágenes indicativas de parásitos en las cavidades ventriculares y/o hipodensidad periventricular (36, 37).

II.6 Oftalmoscopia y métodos inmunológicos.

El estudio del líquido cefalorraquídeo apoya el diagnóstico de neurocisticercosis, así como la exploración del campo visual en los ojos por oftalmoscopia. Las reacciones de fijación de complemento, la hemaglutinación y la intracutánea son de valor limitado, estos hallazgos por si solos no son concluyentes, ya que pueden aparecer en otros tipos de padecimientos neurológicos.(16).

Para la búsqueda de anticuerpos anticisticerco, se han empleado un buen número de métodos inmunológicos. En México, desde 1948, se emplea la técnica de fijación de complemento (FC), en la que se emplea líquido cefalorraquídeo. En 1975 se estandarizó la inmunoelectroforesis (IEF) para la detección de anticuerpos anticisticerco en el suero de pacientes con neurocisticercosis. También se utilizan otras pruebas como la hemaglutinación pasiva (HA). La inmunofluorescencia (IF), la doble inmunodifusión (DID), y más recientemente el ensayo inmunoenzimático (ELISA) (10).

Las pruebas mencionadas se llevan a cabo en diferentes laboratorios pero ninguna tiene aceptación total. La selección de las diferentes pruebas de inmunodiagnóstico dependen del objetivo de las mismas. (18).

III. CUADRO CLINICO Y TRATAMIENTOS.

El enfoque terapéutico se encuentra condicionado por el diagnóstico preciso en los siguientes aspectos:

- 1.- La variabilidad que presenta el cuadro clínico de la neurocisticercosis.
- 2- Las diferentes etapas biológicas en la historia natural de la enfermedad (encefalitis, quistes, racimos, calcificación y otras).
- 3.- Los cuadros patológicos secundarios (meningitis, aracnoiditis, hidrocefalia, vasculitis y otros).

El tratamiento de la neurocisticercosis puede ser sintomático, quirúrgico, o farmacológico con antiparasitarios (21).

Tratamiento sintomático enfocado al control de:

- crisis convulsivas: antiepilépticos
- cefalea: analgésicos.
- hipertensión intracraneana: esteroides y diuréticos.
- alteraciones de la conducta: psicodrogas.

Tratamiento quirúrgico: el enfoque de este tratamiento varia según la localización y características anatomopatológicas de la cisticercosis en el sistema nervioso (49).

Tratamiento farmacológico: actualmente se cuenta con una serie de tratamientos farmacológicos específicos anticisticercosis que ha logrado buenos resultados, pero la experiencia indica que la pertinencia de estos datos se halla en relación directa con la selección adecuada de los enfermos que se basa en un confiable y preciso diagnóstico de todos los aspectos de la enfermedad. (55)

El tratamiento farmacológico específico a base de parasiticidas debe emplearse en casos de cisticercosis y neurocisticercosis en los cuales se suponga que existen parásitos vivos y el medicamento pueda actuar con eficacia.

Los recursos farmacológicos en uso son: albendazol, mebendazol, metrifonato, flubendazol, radioinmunotratamiento, vacunoterapia, niclosamida y praziquantel.(21) .

IV. PRAZIQUANTEL.

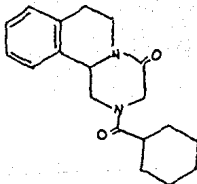
IV.1 Características.

El Praziquantel, es una droga desarrollada por E. Merck, Darmstadt y Bayer en la República Federal Alemana. Es un tipo nuevo de sistema heterocíclico, derivado de isoquinolina-pirazina; su estructura química es la siguiente: 2-ciclohexil-carbonil-1,3,4,6,7,11 b-hexahidro-2H-pirazina [2,1-a] isoquinolina 4-uno. ($C_{18}H_{24}N_2O_2$), y su peso molecular es 312.42.

El PZQ es un polvo cristalino incoloro, prácticamente inoloro con sabor amargo. El compuesto bajo condiciones normales es estable, se funde entre 136-140°C.

El PZQ es soluble en cloroformo y en dimetil sulfóxido, poco soluble en alcohol y muy ligeramente soluble en agua (25, 34).

FIGURA 2



ESTRUCTURA QUIMICA DEL PRAZIQUANTEL

IV.2 Usos del PZQ.

El PZQ es un medicamento antihelmíntico con actividad contra todas las especies de esquistosomas patógenos en el hombre, otros tremátodos y contra una amplia gama de céstodos. Es uno de los recursos farmacológicos de elección para el tratamiento de la neurocisticercosis, en particular: esquistosomiasis y teniasis por *Taenia solium*, cisticercosis por *T. solium* en humanos y por *T. saginata* y *T. ovis* en animales (25, 26).

IV.3 Farmacocinética.

El praziquantel se absorbe por vía gastrointestinal y se distribuye por todos los tejidos del organismo, pero las concentraciones que llegan al cerebro son bajas: 1:8 en comparación al 1:3 que se encuentra en plasma, y al 1:30/1:60 del líquido cefalorraquídeo. Se ha encontrado que el PZQ ¹⁴C llega al cisticerco aunque con más lentitud que en parásitos sin membrana. Se elimina predominantemente por el riñón (30).

Se han realizado diversos estudios de la farmacocinética y metabolismo que sigue el praziquantel a través de diferentes organismos.

Steiner, et al. experimentaron con animales utilizando PZQ marcado con ^{14}C y encontraron que el praziquantel cuando es administrado por vía intravenosa es tomado rápidamente por los tejidos de todas las especies tratadas e igualmente se elimina rápidamente del espacio intravascular. La sustancia inyectada que se encuentra en el suero se elimina en diversas fases con constantes de semidesintegración entre 0.7 y 12 horas. La excreción se efectúa preponderantemente por vía renal y esencialmente dentro del plazo de 24 horas después de efectuada la aplicación (28, 29).

K.U. Buhlin et al. (30) encontraron que al igual que en los animales el PZQ es rápidamente metabolizado en el hombre; después de la administración oral el PZQ es extensivamente metabolizado, incluso antes de alcanzar la circulación general. Aproximadamente después de 4 horas de haber suministrado el praziquantel marcado con ^{14}C se encontró la máxima radiactividad en el suero y la cantidad de droga sin alterar fue menor del 5% en el suero y en la orina no se encontró.

Los metabolitos encontrados en suero y orina fueron aislados y sujetos a espectrometría de masas y de acuerdo a este estudio estos metabolitos son predominantemente productos de hidroxilación del praziquantel que contiene uno o dos grupos hidroxilo. El metabolismo del PZQ en el hombre parece ser independiente del sexo y de las dosis suministradas.

IV.4 Mecanismos de acción del PZQ sobre el parásito.

A niveles terapéuticos en suero, produce en cuestión de segundos contracción de la musculatura de los parásitos y vacuolización de sus tegumentos, debido a modificaciones en la permeabilidad de las membranas celulares por cationes divalentes. Además, se presenta una despolarización del potencial de reposo del tegumento e interfiere con el metabolismo de carbohidratos del parásito.

De acuerdo a las investigaciones de Thomas y col., (26) se puede establecer que el PZQ es capaz de penetrar la pared del quiste y destruir al cisticarco. De acuerdo con esto el principio antihelmintico activo es el propio praziquantel y no sus metabolitos.

Cuando es utilizado como antiteniásico ya a las 24 horas después de administrado el PZQ se empieza a manifestar através de una alteración tanto de las proglótidas como de los huevos los cuales se presentan fragmentados y en consecuencia, no viables.

El efecto desintegrador del praziquantel impide recuperar el escólex, por lo que su eficacia terapéutica no puede asegurarse antes de 90 días.

A la fecha, los resultados indican que el praziquantel es eficaz para lograr la desaparición o reducción de la imagen en la tomografía computarizada de un alto porcentaje de quistes hipodensos parenquimatosos y subaracnoideos corticales del cerebro. No tiene efecto sobre el cisticerco calcificado (12).

IV.5 Tratamiento con PZQ.

Existen reportes con resultados favorables en los que se ha suministrado PZQ por vía oral en dosis de 50 mg por kg. de peso diariamente, durante 14 días, en el tratamiento contra la neurocisticercosis en humanos.

En una investigación realizada por Gustavo Paz en Ecuador (48) se utilizó una dosis de 10 mg/kg demostrando ser una droga altamente efectiva en el tratamiento de la infección por *T. saginata*, se usó como parámetro de evaluación terapéutica la negativización de los exámenes coproparasitológicos hasta 90 días después de su administración

La inocuidad de la droga se demostró al no registrarse cambio significativo alguno en ninguno de los controles de exámenes de laboratorio de pruebas funcionales hepáticas, hematológicas, química sanguínea elemental y orina.

El empleo de una dosis oral única y el no requerir de dietas especiales ni de purgantes, hacen que este medicamento sea fácil de administrar y bien aceptado por los pacientes en el tratamiento contra la teniasis.

Este medicamento a la fecha ha reportado mejores resultados en el tratamiento de la neurocisticercosis, en etapa de quiste parenquimatoso o subaracnoideo cortical, ya que logra la desaparición de la imagen radiológica y la mejoría sintomática, en un alto porcentaje de estos casos.

IV.6 Evaluación Toxicológica.

No se han reportado efectos nocivos ni efectos clínicos relevantes sobre los sistemas cardiovascular, renal, nervioso central, ni sobre la coagulación de la sangre, ni sobre las concentraciones de azúcar y colesterol. Estudios con voluntarios demuestran que la droga parece no tener contraindicaciones en personas sanas pero no existen estudios a largo plazo (8).

En general la tolerancia al medicamento es aceptable, habiéndose registrado en algunos casos molestias gastrointestinales no severas, cefalea, náuseas y mareos. Es importante señalar que la acción del medicamento sobre el parásito desencadena en el huésped una reacción que en general exacerba transitoriamente los síntomas neurológicos, supuestamente como consecuencia del aumento de la reacción inflamatoria, que amerita tratamiento complementario con esteroides, antihipertensivos intracraneales o tratamiento sintomático para crisis convulsivas, según el caso (9).

Experiencias recientes en México indican que cuando el cisticercos se encuentra en el cuarto ventrículo en el cerebro la reacción inflamatoria puede ser muy severa, por lo que el uso del PZQ en estos casos no es recomendable. (Sandoval, M. comunicación personal).

Existen algunos estudios del praziquantel en animales acerca de su embriotoxicidad y toxicidad peri y postnatal.

Un estudio del efecto transplacentario del PZQ efectuado con ratas Wistar (28), mostró que tanto después de una aplicación única como a raíz de múltiples aplicaciones por vía oral e intravenosa los fetos apenas absorben la sustancia administrada; 5 minutos después de la aplicación intravenosa y 30 minutos después de la aplicación oral se encontró en los fetos el 1.2% y el 0.7% respectivamente de las dosis administradas. 24 horas más tarde estos valores ascendían tan sólo al 0.3% y 0.4% de las dosis suministradas de PZQ marcado con ^{14}C .

Por lo concerniente a embriotoxicidad, se considera que un compuesto es verdaderamente embriotóxico solo si los niveles de dosificación, que no dañan a la hembra, si son tóxicos para el embrión. El PZQ no tuvo efectos embriotóxicos ni teratogénicos en ratas ni en conejos (20).

IV.7 Mutagenicidad y genotoxicidad.

En estudios realizados con muestras de orina de ratones, ratas, voluntarios y pacientes tratados con este medicamento no se encontraron efectos mutagénicos detectables en la prueba de Ames (43).

Sin embargo en una investigación de Batzinger et al (10) reportó haber encontrado mutagenicidad en *Salmonella* usando orinas de ratones tratados con PZQ.

En diversos estudios in vivo no se encontró que esta droga fuera un agente mutagénico potencial. Sin embargo Anwar y Legator en un estudio para probar la comutagenicidad del praziquantel suministraron benceno y diferentes dosis de PZQ a ratones machos y encontraron que la frecuencia de micronúcleos en eritrocitos policromáticos de médula ósea se incrementó notablemente en los grupos a los que se les suministraron las dosis más altas de PZQ en comparación con los grupos control a los que solamente se les administró benceno. Cabe señalar que a los grupos de ratones a diferentes dosis en los cuales solamente se les suministró PZQ no presentaban inducción de micronúcleos. El incremento fue más alto del esperado, cuando se adicionó el efecto de los 2 agentes; este dato indica que el PZQ puede actuar como comutágeno con el benceno in vivo (5).

Flisser et al, (19) en un estudio para analizar los efectos genotóxicos del praziquantel, encontraron que esta droga indujo un incremento en los rompimientos y rearrreglos cromosómicos sólo en cerdos cisticercosos. Se observó también que el número de linfocitos poliploides era significativamente más alto en los cerdos cisticercosos que en los cerdos no infectados, y que después del tratamiento con PZQ se presentaba un decremento en el número de células poliploides.

Al parecer el praziquantel actúa como un mutágeno para *Salmonella* y como comutágeno para células de mamíferos tratadas con mutágenos conocidos.

Y. Pruebas para la Evaluación de genotoxicidad.

Las pruebas de que se dispone para evaluar daño genético en células somáticas humanas permiten detectar mutaciones a nivel cromosómico o bien a nivel génico.

Las mutaciones cromosómicas afectan bloques de genes en un solo cromosoma o entre diferentes cromosomas. Las mutaciones génicas afectan a un gen en particular, lo inactivan o cambian su expresión; las pruebas para detectar este tipo de daño están restringidas a un locus específico (15).

Los diferentes sistemas de prueba pueden aplicarse para estudios in vivo o in vitro. En los sistemas de prueba in vitro se utilizan células en cultivo las cuales son expuestas a la actividad de la sustancia que se quiere investigar y su efecto se analiza en el marcador elegido: puede ser una evaluación a nivel cromosómico (aberraciones o intercambio de cromátidas hermanas) o una evaluación del efecto de un daño en un locus específico. De esta manera se mide el efecto que se produciría en las células en vivo en caso de que el mutágeno alcanzara su blanco dentro del organismo. Pero estas pruebas in vitro todavía tienen la desventaja de que no pueden representarse en ellas todas las acciones metabólicas y farmacocinéticas que en el organismo vivo afectan directamente la actividad de las sustancias. Así, estos ensayos se limitan a ser una fuente más de información acerca de los muchos aspectos que afectan a un evento mutagénico, son útiles en el rastreo de posibles agentes que puedan causar mutaciones y los datos que aportan se toman como base antes de proceder al uso de pruebas que permitan medir la ocurrencia de daño directamente en el organismo íntegro, in vivo (44).

Se considera como pruebas directas de mutagenicidad aquellas que permiten cuantificar un evento mutagénico ocurrido en un organismo in vivo. La cuantificación se hace en un ensayo in vitro cuyas condiciones están controladas para permitir el reconocimiento de las células afectadas in vivo por los agentes que pueden dañar el DNA (41).

Se han desarrollado varios sistemas para detectar mutaciones génicas ocurridas in vivo: Mutaciones en la molécula de glicoforina A, mutaciones en hemoglobina y mutaciones en el locus HGPRT (Hipoxantina-Guanina-Fosforribosil-Transferasa). A continuación se explican brevemente los 2 primeros, y el tercero se explicará en otro apartado.

V 1.-Mutaciones en la glicoforina: detecta mutaciones somáticas en eritrocitos humanos que expresan sólo una de las dos formas alélicas de la proteína glicoforina A, de membrana. Se utilizan anticuerpos monoclonales marcados con fluorocromos: uno verde para detectar un alelo y otro rojo, para detectar el otro alelo.

La frecuencia de los alelos en la población humana es la misma y se considera que aproximadamente la mitad de los seres humanos son heterocigóticos.

En estos individuos se espera encontrar los dos colores al tratar sus eritrocitos con los anticuerpos. Las células mutantes presentan sólo un color, indicando así la ausencia de uno de los dos productos génicos de los alelos de glicoforina A. Para hacer la evaluación se utiliza un flourocitómetro ó un microscopio de fluorescencia. El análisis también puede llevarse a cabo en eritrocitos congelados (11).

V. 2.-Mutaciones en la hemoglobina : Se basa en el reconocimiento inmunológico de formas alteradas de hemoglobina; las alteraciones consisten en dos mutaciones que se producen en el gen de la hemoglobina y que causan diferente sustitución de aminoácidos.

La técnica sigue un procedimiento mediante el cual la capa superficial de hemoglobina se hace accesible a la acción de anticuerpos monoclonales específicos para cualquiera de las dos variantes de la molécula; a los anticuerpos se les une otro anticuerpo fluorescente que permite el reconocimiento rápido de las células teñidas por fluorocitometría (13).

Estos dos sistemas tienen la ventaja de que se pueden aplicar tanto al humano como al ratón, para hacer comparaciones, y que se pueden adaptar in vitro para estudios de drogas.

Sin embargo están en desarrollo y necesitan evaluarse y validarse. Además la utilización de anticuerpos monoclonales y citofotómetros los hace no sólo complejos, sino costosos.

Con el ensayo de glicoforina, además se tiene la desventaja de que no se puede distinguir entre las poblaciones de eritrocitos que carecen de un alelo u otro y las células homocigóticas; todo esto hace muy compleja la interpretación de los resultados en esta prueba.

Y. 3.-Mutaciones en el locus HGPRT : Este ensayo detecta mutaciones en linfocitos T; fue propuesto en 1979 por Strauss y Albertini y está basado en las características, ampliamente estudiadas, de este locus y de la enzima que se sintetiza a partir de él, que tiene a su cargo la recuperación de hipoxantina y guanina libres en el citoplasma para transformarlas en ácido inosínico (IMP) y ácido guanílico (GMP), en la vía de síntesis de ahorro de purinas (52, 60).

V.3.1 Síntesis de Purinas , Vía de Novo.

En las células humanas, como en las de otros mamíferos, se sintetizan los nucleótidos de purinas (guanina, inosina y xantina) para satisfacer los requerimientos de precursores monoméricos para los ácidos nucleicos y para otras funciones.

Existe una vía de biosíntesis, llamada biosíntesis de novo que comienza con la formación de fosforribosil-1-pirofosfato (PRPP) a partir de la ribosa-5-fosfato y ATP. Esta vía, lleva a la formación de inosinmonofosfato (IMP), a partir del cual se pueden formar: adenosinmonofosfato (AMP) por una vía para la cual se requiere GTP, o bien, xantosinmonofosfato (XMP) del que se forma guanosinmonofosfato (GMP) por otra vía en la cual se requiere ATP.

Según se sabe, la vía de novo no es funcional en todos los tejidos del cuerpo humano, mientras en los linfocitos de sangre periférica sí lo es, en el encéfalo, en cambio, se ha detectado un contenido reducido de la enzima que se requiere para formar la 5-fosforribosil-1-amina, por lo que se ha sugerido que el encéfalo depende de purinas exógenas para la formación de sus nucleótidos de purina. (4, 14).

V.3.2 Vía de recuperación o ahorro.

La recuperación de estos monómeros precursores de los ácidos nucleicos (GMP y AMP) a partir de las bases purínicas libres (adenina, hipoxantina y guanina) se efectúa mediante la fosforribosilación de las mismas. En las células humanas existen dos enzimas que ejercen esta función y las dos requieren la presencia de PRPP en el medio: la adenina-fosforribosiltransferasa (APRT) para la recuperación de AMP, y la hipoxantina-guanina fosforribosiltransferasa (HGPRT) para la recuperación de IMP y GMP a partir de hipoxantina y guanina.

La función de la vía de recuperación de purinas en el cuerpo humano, es mayor que la vía de síntesis de novo, en la cual también se producen los mismos nucleótidos, pero a partir de precursores diferentes.

V.3.3 Características de la enzima HGPRT.

En procariontes se ha detectado la existencia de más de una transferasa involucrada en la vía de ahorro para la síntesis de purinas, mientras que en células de mamíferos sólo hay una para la vía de ahorro de hipoxantina, guanina y sus análogos: 6-mercaptopurina y 6-tioguanina. También reconoce como sustrato a la 8-azaguanina, pero con menos eficiencia.

Estos análogos son tóxicos para las células normales pero las células que carecen de la enzima HGPRT son resistentes a sus efectos.

De los estudios hechos con la enzima HGPRT purificada de células de diversos mamíferos se ha visto que guarda semejanza entre especies y que se trata de una enzima multimérica compuesta por subunidades idénticas cuyos pesos moleculares determinados en geles de poliacrilamida SDS son de 24 a 26,000 daltons en el humano; 25-36,000 en hamster y 27,000 en ratón. Una subunidad sola aparentemente no tiene acción catalítica.

En el humano la enzima funcional parece consistir en un tetrámero compuesto por subunidades idénticas de 24,000 daltons, lo que indica que esta enzima tiene origen en un solo gen (6, 14).

Y.3.4. Deficiencia congénita en el locus HGPRT.

La mutación en el locus HGPRT en una célula germinal es la causa del síndrome de Lesch-Nyhan (33) en el que se presentan alteraciones de dos tipos ; neurológicas (retraso mental y en el desarrollo, automutilación compulsiva) y en la excreción síntesis de purinas muy aumentada y excesiva excreción de ácido úrico). Se trata de un padecimiento ligado al cromosoma X, y por tanto las mujeres no presentan el síndrome , pero son portadoras (53).

Las células de individuos afectados por el síndrome de Lesch-Nyhan (LN) carecen de la actividad de la enzima HGPRT, lo que les permite crecer en medios de cultivo que contienen analogos de purinas, ya que no son capaces de reutilizar las purinas libres. En cambio, las células normales que si las pueden utilizar, se intoxican. (56).

Las células de las mujeres portadoras pueden tener la actividad de la enzima o carecer de ella. En células sanguíneas como eritrocitos o linfocitos se detectó actividad normal de la misma.

Albertini y De Mars consideraron que debía existir una población de linfocitos mutantes en las portadoras y que si su frecuencia era baja se requeriría un método muy sensible para poder detectarlas. (1).

Con base en las características de las células de LN encontraron que podían detectar los linfocitos mutantes de las mujeres heterocigóticas por medio de una selección de las células resistentes al análogo 8-azaguanina, e identificarlas adicionando a los cultivos timidina tritiada (3H-trd) que es incorporada al ADN durante la fase de síntesis: las células resistentes la incorporan al duplicarse, mientras que las normales mueren antes de incorporarla (1).

Con mezclas de linfocitos normales y linfocitos de un individuo con el síndrome de LN en diferentes proporciones (1:3 hasta 1:81; LN:normales) encontraron un método suficientemente sensible para diferenciar cada proporción y para detectar a las mujeres portadoras.

De igual modo se observó que algunos individuos normales utilizados como controles en el ensayo para la detección del síndrome de LN desarrollado por Albertini y De Mars (1), presentaban algunas células alteradas, pero la determinación de la incorporación de timidina tritiada por el método de centelleo no permitió determinar esa frecuencia con exactitud.

Posteriormente Strauss y Albertini (60) propusieron un método enumerativo por medio del cual se podían identificar de manera individual las células alteradas, producto de mutaciones somáticas, de una manera más exacta al poder establecer una frecuencia.

V.3.5. PRUEBA DIRECTA DE MUTAGENICIDAD EN EL LOCUS HGPRT EN LINFOCITOS DE SANGRE PERIFERICA EN HUMANOS

La técnica propuesta por Strauss y Albertini permite seleccionar, en presencia de 6-tioguanina, aquellos linfocitos deficientes en la enzima HGPRT presentes en nuestra sangre. Se utiliza timidina tritiada como marcador de las células y la evaluación se hace por autorradiografía, lo que permite identificar la actividad de las células normales. Existe una modificación a este método en el se utiliza bromodesoxiuridina como marcador de las células en proliferación. (45, 46).

V.3.6 Locus HGPRT : Localización.

Este locus se encuentra en el brazo largo del cromosoma X, Shows y Brown demostraron que se localiza entre los loci de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G-6-PD) y de la fosfoglicerato cinasa (PGK), en algún punto entre las bandas q22-qter (57).

En los estudios iniciales de enumeración de linfocitos T llamó la atención la frecuencia tan alta de células resistentes a la 6-tioguanina, que es un análogo de guanina e hipoxantina, en comparación con la frecuencia de células resistentes a bromodesoxiuridina (análogo de timidina) y que resulta de una deficiencia en la enzima timidina cinasa cuyo locus se encuentra en el autosoma 16.

Los estudios citogenéticos más resistentes a análogos de purinas se debe a que el locus HGPRT responsable de la resistencia se encuentra en el cromosoma X, en una región donde se ha detectado una alta frecuencia de rompimientos que podrían considerarse 'sitios frágiles'. Yunis y Sutherland han encontrado en esta región cromosómica tres sitios frágiles: dos de ellos constitutivos (64, 65) y el otro, hederable. (61).

PLANTEAMIENTO DEL ESTUDIO

En una investigación realizada por Flisser y cols. (19) se encontró que el praziquantel tiene una acción clastogénica en cerdos neurocisticercosos. Por su parte Anwar y cols. (5) encontraron que el praziquantel actúa como comutágeno al administrarlo en combinación con benceno a ratones.

Por el riesgo genotóxico que significa para el humano el tratamiento con dicho fármaco, se planteó el estudiar la inducción de mutaciones génicas por el praziquantel en pacientes con neurocisticercosis.

Los pacientes que padecen esta enfermedad no muestran una sintomatología característica por lo que antes de ser diagnosticados reciben diversos tratamientos cuya actividad mutagénica es conocida, como son: antiinflamatorios, antibióticos, anestésicos, anticonvulsivos, rayos-X y tomografía axial computarizada.

Lo anterior llevó a diseñar un estudio en el cual el objetivo fue determinar el efecto mutagénico de la combinación de los agentes mencionados y el efecto que el praziquantel podría añadir.

Para ello se utilizaron 4 grupos de individuos: pacientes neurológicos expuestos a los mutágenos a que se hizo referencia antes, los pacientes neurocisticercosos antes de recibir el praziquantel y con exposición a los mismos agentes, y un grupo de individuos sanos, no expuestos.

MATERIAL Y METODOS.

Para los fines de este estudio se utilizaron 4 grupos de individuos, un primer grupo control constituido por personas aparentemente sanas, un segundo grupo lo conformaron pacientes con alteraciones neurológicas no secundarias a la cisticercosis. Para el tercero y cuarto grupo se eligieron pacientes del servicio de Neurocirugía del Hospital de Especialidades del Centro Médico "La Raza", IMSS, con Neurocisticercosis el diagnóstico de cisticercosis, estuvo basado en la presencia de quistes de cisticerco demostrado por TAC de cráneo, o por intervención quirúrgica. El tercer grupo corresponde a los individuos que se muestrearon antes de suministrarles PZQ y el cuarto grupo es el correspondiente a algunos de estos pacientes después de el tratamiento con PZQ.

Se utilizó la técnica de incorporación de enumeración de linfocitos resistentes a 6-TG, por BrdU (Ostrosky et al 1986).

Material.

- Fycoll-hypaque. (Histopaque-Sigma).
- Dimetil sulfóxido (DMSO) Sigma No. D-5879.
- Medio RPMI-1640 con HEPES suplementado con glutamina y aminoácidos no esenciales.
- 6-TG 2X10⁻³ M (Sigma A-4882),
- Medio básico: medio RPMI-1640 ajustado al mismo pH que la 6-TG

- Plasma autólogo:

Este plasma se obtiene en el gradiente con fycoll-hyaque al separar las células blancas de la sangre del donador.

- Bromodesoxirudina (Sigma) 4×10^{-6} M, concentración en el cultivo.

- Acido cítrico (Baker 0110) 0.1 M:

- Fijador metanol: acético:

7.0 partes de metanol absoluto y 1.5 partes de Acido acético glacial.

- Fluorocromo.

- Hoechst - 1mg/10ml(stock) 0.3/10ml de buffer.

- Giemsa al 4% en amortiguador de fosfatos 0.066M, pH6.8.

- Colorante vital eosina amarillenta (SIGMA I.C. No. 45380).

1 mg. en 50 ml. de NaCl 0.9% (solución isotónica).

- Colorante vital azul de tripano: GIBCO # 525.

0.4% (1:6).

METODO.

1. Separación de linfocitos. De una muestra de sangre de 40-50 ml, tomada en forma estéril, se separan las células blancas utilizando un gradiente de fycoll-hypaque, que se centrifuga durante 30 min a 1500 r.p.m.

2. Conteo de células. La capa de células blancas obtenido en el gradiente se separa con una pipeta Pasteur y se resuspende en 1.5 ml de medio RPMI-1640. Con una micropipeta de 20 ml se toma una muestra de esta suspensión de células se diluye en 1 ml de colorante vital (eosina o azul de tripano) y se cuenta en un hemocitómetro que diferencia entre los linfocitos vivos y los muertos.

3. Congelación. Una vez determinado el número de células obtenidas en la separación, se resuspenden en medio de cultivo RPMI-1640, con plasma autólogo al 10% y DMSO 7.5%, a una densidad de 10×10^6 células/ml y se distribuyen en cápsulas de plástico que se colocan rápidamente en una caja de unicel de 3 cm de grueso con tapa, que a su vez se guarda en un ultracongelador a -70°C , donde se conservarán por lo menos 24 horas hasta el momento en que se hagan cultivos (se recomienda que este se haga lo más rápidamente posible). Si se deja demasiado tiempo en congelación la viabilidad de las células disminuye considerablemente.

4. Descongelación. Se prepara un baño María a 37 °C y se retiran del ultracongelador las cápsulas para el experimento; éstas se sumergen en el baño durante el tiempo necesario para que se descongelen por completo sin agitar para no formar burbujas en la suspensión de células.

Se toman con una pipeta Pasteur y se resuspenden en 30 ml de medio a temperatura ambiente. Se lavan para quitar el DMSO que puede resultar tóxico para las células descongeladas, centrifugando durante 10 minutos a 1200 r.p.m.

Se resuspenden en 1.5 ml de medio RPMI-1640 para determinar el número de células que se recuperaron y su viabilidad. El procedimiento para el conteo es el mismo que se describe en el paso 2; si la proporción de células vivas alcanza el 80% se procede a montar la prueba. La viabilidad se obtiene dividiendo el número de células vivas que se encontró, entre el total de células contadas.

5. Preparación para cultivo. Las células recuperadas se resuspenden en medio RPMI-1640 y suero autólogo al 20% ajustando a una concentración de 1×10^3 células por cada 0.9 ml.

6. Cultivos para control. Estos cultivos son el testigo del experimento para cada individuo y en ellos se determina el índice de marcaje (L.I.C.).

De la suspensión de células preparada en el paso 5, se toman 4.5 ml. de tal forma que se tiene 5×10^6 células. Se les agrega 0.5 ml de medio básico con el fin de igualar el pH con el de los cultivos de prueba en presencia de 6-TG. Finalmente se agregan 0.2 ml de PHA (PHA-M, EIBCO liofilizada). No se emplearon antibióticos.

7. Cultivos en presencia de 6-TG. Se toman igualmente 4.5 ml de suspensión de células y se agrega 0.5 ml de 6-TG $2 \times 10^{-3} \mu$. Se agregan 0.2 ml de PHA, sin antibióticos.

Se monta el experimento de cada individuo con un cultivo testigo y 3 cultivos en presencia de TG.

8. Incubación y marcaje con BrdU. Se incuban los cultivos montados, a 37°C . A las 24 horas se agregan 0.2 ml de bromodesoxiuridina y se dejan incubar 16 horas más. (4×10^{-4} M, concentración final en el cultivo).

9. Cosecha. (A partir de este paso ya no es necesario trabajar en área estéril). A las 40 horas de iniciados los cultivos se agregan 10 ml de ácido cítrico 0.1 M y se extraen los núcleos por centrifugación a 1700 r.p.m. durante 15 minutos. El sobrenadante se desecha y los núcleos se fijan en metanol-acético 7.0:1.5, 10 ml; se resuspende fuertemente con un agitador vórtex y se lavan nuevamente a 1700 r.p.m. durante 15 minutos.

Finalmente, se resuspenden en 200 μ l de fijador y se guardan en refrigerador durante 24 horas al menos, antes de proceder a preparar las laminillas.

10. Preparación de laminillas. Antes de extender los núcleos que se recuperaron en los portaobjetos, para su análisis, es necesario saber cuántos núcleos se recuperaron. Para contarlos se toma una gota de la resuspensión de núcleos, con pipeta Pasteur, y se diluye con fijador; se resuspende bien y se cuenta en un hemocitómetro.

Las laminillas se preparan como sigue:

Para determinar el índice de marcaje del testigo: Se resuspenden bien los núcleos con una pipeta Pasteur o si quedan muy aglutinados, se emplea una aguja para punción lumbar, de 7.5 cm. de largo, delgada, hasta que queden resuspendidos homogéneamente. Entonces se extienden por goteo sobre un portaobjetos seco, perfectamente limpio; para lograr que se separen bien los núcleos, el goteo se efectúa desde una altura de 10 cm y se ponen sólo 5 o 6 gotas por laminilla y se dejan secar al aire.

Para determinar el índice de marcaje de los cultivos en presencia de TG: se suspenden de la misma manera que los controles, cuidando que las pipetas y las agujas se encuentren limpias para evitar que se mezclen los resultados entre el control y los cultivos de prueba.

Las laminillas se hacen también por goteo sobre el portobjetos, desde una altura de 5 cm, se ponen 2-5 gotas por laminilla, procurando que no se dispersen mucho y que queden en el centro. De esta manera, los núcleos, que tienden a aglutinarse, se dispersan bien y permiten una mejor y más rápida evaluación de las laminillas.

RESULTADOS

Para estimar la frecuencia de los linfocitos variantes (Vf) en cada individuo estudiado, se determinaron los siguientes parámetros:

- Lic: Índice de marcaje del cultivo control
- LIm: Índice de marcaje de los cultivos en medio selectivo
- M : # de mutantes
- T : # total de núcleos recuperados en los cultivos
- N : # de células evaluables
- Vf : Frecuencia de variación o de mutación en los cultivos.

Los resultados que se reportan en las tablas 1,2,3 y 4 corresponden a los diferentes grupos que se utilizaron para realizar este trabajo; grupo control, grupo con daño neurológico, neurocisticercosos sin PZQ y neurocisticercosos con PZQ, respectivamente.

En la tabla 1, aparecen los datos correspondientes a 10 individuos sanos y sin exposiciones a agentes mutagénicos por lo menos en los 6 meses previos a la fecha en que se tomaron las muestras, los cuales fueron usados como grupo control. Dentro de este grupo se encuentran 5 mujeres y 5 hombres, los cuales oscilan entre 18 y 45 años de edad sin adicciones al tabaco o a alcohol. Se obtuvo un valor promedio de Lic de 0.244 y una media de Vf de 0.894×10^{-6} .

La tabla 2 muestra los resultados obtenidos con el grupo de pacientes con daño neurológico, el cual está conformado por 2 hombres y 4 mujeres, cuyas edades están entre 20 a 61 años. En este grupo se obtuvo una media de LIC de 0.228 y un promedio de 9.49×10^{-6} en la Vf.

Los resultados que se reportan en la tabla 3 corresponden a los pacientes neurocisticercosos sin PZQ; este grupo está constituido por 15 hombres y 7 mujeres, cuyas edades van desde 16 hasta 71 años. Se obtuvieron los siguientes promedios: LIC 0.225 y Vf, 14.482×10^{-6} .

Finalmente, en la tabla número 4 se encuentran los resultados del grupo perteneciente a pacientes neurocisticercosos tratados con PZQ el cual incluye 11 hombres y 1 mujer cuyas edades están comprendidas entre 16 a 65 años. Se obtuvieron los siguientes promedios: para LIC 0.285 y para Vf, 17.547×10^{-6} .

TABLA 1 INDIVIDUOS CONTROL

| DONADOR | L.I.c | T | M | N | L.I.t | Vf | I.C.95% |
|---------|-------|------|---|------|-------|------|--------------|
| D | 0.211 | 8.75 | 1 | 1.84 | 0.11 | 0.51 | 0.073 - 0.39 |
| ED | 0.297 | 8.77 | 1 | 1.81 | 0.05 | 0.51 | 0.03 - 0.13 |
| F | 0.125 | 8.81 | 1 | 1.83 | 0.17 | 0.85 | 0.08 - 0.63 |
| FC | 0.219 | 8.87 | 2 | 1.84 | 0.03 | 0.85 | 0.13 - 0.47 |
| MTH | 0.214 | 4.01 | 3 | 1.35 | 0.27 | 0.72 | 0.12 - 0.33 |
| M | 0.272 | 8.13 | 7 | 1.83 | 0.18 | 0.81 | 0.11 - 0.74 |
| I | 0.154 | 4.81 | 1 | 1.17 | 0.01 | 0.85 | 0.11 - 0.05 |
| R | 0.355 | 4.80 | 1 | 1.35 | 0.21 | 0.88 | 0.12 - 0.23 |
| MZ | 0.334 | 5.87 | 2 | 1.31 | 0.35 | 1.47 | 0.35 - 0.84 |
| NE | 0.128 | 4.33 | 1 | 0.83 | 0.33 | 1.79 | 0.25 - 11.84 |

$$X \text{ Lic} = 0.244$$

$$X \text{ Vf} = 0.894 \times 10^{-6}$$

TABLA 2 PACIENTES CON DAÑO NEUROLOGICO

| DONADOR | L.I.c | T | M | N | L.I.t | Vf | I.C.95% |
|----------|-------|-------|----|-------|-------|-------|---------------|
| 872 MLPA | 0.137 | 2.180 | 1 | 0.298 | 0.438 | 3.33 | 0.46 - 23.64 |
| 8819 ALA | 0.210 | 3.825 | 5 | 1.185 | 1.307 | 4.22 | 1.73 - 10.17 |
| 882 JG | 0.185 | 5.070 | 8 | 0.807 | 1.577 | 8.50 | 4.25 - 14.93 |
| 8820 RMM | 0.114 | 4.475 | 5 | 0.513 | 1.447 | 9.83 | 4.21 - 24.75 |
| 8826 KAE | 0.215 | 8.750 | 19 | 1.817 | 2.104 | 10.45 | 5.87 - 35.76 |
| 871 XGM | 0.304 | 2.850 | 13 | 0.825 | 8.311 | 20.79 | 12.06 - 35.75 |

$$X \text{ Lic} = 0.228$$

$$X \text{ Vf} = 9.49 \times 10^{-6}$$

TABLA 3 PACIENTES NEUROSTICERCOSOS SIN PZQ

| DONADOR | L. I. c | T | M | N | L. I. t | Vf | I. C. 95% |
|---------|---------|-------|-------|-----|---------|--------|-----------------------|
| 892 | JSC | 0.197 | 6.900 | 2 | 1.359 | 0.289 | 1.467 0.363 - 5.85 |
| 8818 | JGM | 0.251 | 5.250 | 2 | 1.317 | 0.380 | 1.51 0.38 - 6.09 |
| 8824 | AEB | 0.250 | 2.625 | 1 | 0.656 | 0.380 | 1.524 0.21 - 10.81 |
| 8910 | CRE | 0.376 | 7.325 | 5 | 1.880 | 0.682 | 1.813 0.74 - 4.32 |
| 8827 | MZ | 0.218 | 7.050 | 3 | 1.536 | 0.425 | 1.949 0.62 - 6.03 |
| 8822 | SCM | 0.210 | 4.625 | 2 | 0.971 | 0.432 | 2.06 0.51 - 8.18 |
| 8828 | JM | 0.253 | 7.575 | 4 | 1.916 | 0.528 | 2.086 0.77 - 5.55 |
| 8823 | MME | 0.218 | 4.925 | 3 | 1.383 | 0.609 | 2.17 0.86 - 8.37 |
| 8815 | JMC | 0.130 | 4.375 | 2 | 0.568 | 0.457 | 3.51 0.88 - 14.15 |
| 875 | NGA | 0.148 | 9.530 | 5 | 1.410 | 0.524 | 3.54 1.47 - 8.50 |
| 873 | AGG | 0.164 | 1.680 | 1 | 0.275 | 0.585 | 3.63 0.50 - 25.77 |
| 886 | ALS | 0.311 | 3.850 | 5 | 1.197 | 1.298 | 4.17 1.73 - 10.17 |
| 8821 | RQJ | 0.266 | 4.950 | 7 | 1.316 | 1.414 | 5.31 2.62 - 15.83 |
| 8718 | MOA | 0.130 | 1.150 | 1 | 0.149 | 0.866 | 6.66 0.93 - 47.28 |
| 888 | DFG | 0.250 | 3.710 | 7 | 0.927 | 1.886 | 7.54 3.63 - 15.80 |
| 896 | JCQ | 0.126 | 6.775 | 7 | 0.853 | 1.033 | 8.198 3.85 - 17.18 |
| 8710 | MRP | 0.117 | 2.840 | 3 | 0.332 | 1.056 | 9.05 2.91 - 28.06 |
| 887 | TRR | 0.300 | 1.775 | 12 | 0.532 | 6.760 | 22.53 5.99 - 134.52 |
| 8810 | JGG | 0.240 | 2.900 | 6 | 0.696 | 1.944 | 24.53 10.79 - 54.45 |
| 8814 | HFP | 0.280 | 3.550 | 36 | 0.994 | 10.140 | 36.21 26.43 - 51.3 |
| 8719 | MTH | 0.170 | 2.670 | 31 | 0.454 | 11.583 | 68.14 47.91 - 96.88 |
| 8813 | HPG | 0.360 | 4.125 | 150 | 1.485 | 36.36 | 101.01 86.37 - 118.88 |

$$\bar{X} \text{ LIc} = 0.225$$

$$\bar{X} \text{ Vf} = 14.482 \times 10^{-6}$$

TABLA 4 PACIENTES NEUROCISTICERCOSOS TRATADOS CON PZQ

| DONADOR | L.I.c | T | M | N | L.I.t | Vf | I.C.95% | |
|---------|-------|-------|--------|-----|-------|--------|---------|----------------|
| 894 | JSC | 0.311 | 3.175 | 3 | 0.987 | 0.944 | 3.035 | 1.881 - 9.37 |
| 897 | JSQ | 0.285 | 8.800 | 11 | 2.508 | 1.250 | 4.385 | 2.41 - 7.89 |
| 889 | AQA | 0.230 | 5.400 | 7 | 1.242 | 1.296 | 5.63 | 2.68 - 11.70 |
| 895 | PTD | 0.362 | 5.275 | 12 | 1.909 | 2.274 | 6.281 | 3.56 - 11.05 |
| 8810 | JGG | 0.240 | 2.905 | 6 | 0.697 | 2.065 | 8.60 | 3.84 - 19.17 |
| 8825 | CLC | 0.270 | 5.100 | 15 | 1.377 | 2.94 | 10.88 | 6.54 - 17.95 |
| 8811 | DFG | 0.280 | 1.600 | 5 | 0.448 | 3.125 | 11.16 | 4.57 - 26.56 |
| 8812 | TRR | 0.320 | 4.210 | 17 | 1.347 | 4.038 | 12.62 | 7.83 - 20.19 |
| 884 | CLC | 0.215 | 2.940 | 9 | 0.632 | 3.061 | 14.24 | 7.40 - 27.34 |
| 8816 | HFP | 0.350 | 4.875 | 25 | 1.706 | 5.128 | 14.65 | 9.88 - 21.53 |
| 8720 | GGM | 0.156 | 12.000 | 31 | 1.872 | 2.583 | 16.58 | 11.65 - 23.54 |
| 8817 | HPS | 0.410 | 4.925 | 207 | 2.019 | 42.030 | 102.51 | 89.38 - 116.80 |

$\bar{X} \text{ LIc} = 0.285$

$\bar{X} \text{ Vf} = 17.547 \times 10^{-6}$

Al comparar el índice de marcate (Lic) y la frecuencia de variación (Vf) entre cada grupo, se encontraron algunas diferencias significativas (tabla 5), que pueden apreciarse gráficamente en las figuras 3 y 4.

TABLA 5 PRUEBA ESTADISTICA ENTRE GRUPOS POR LA U DE MANN-WHITNEY

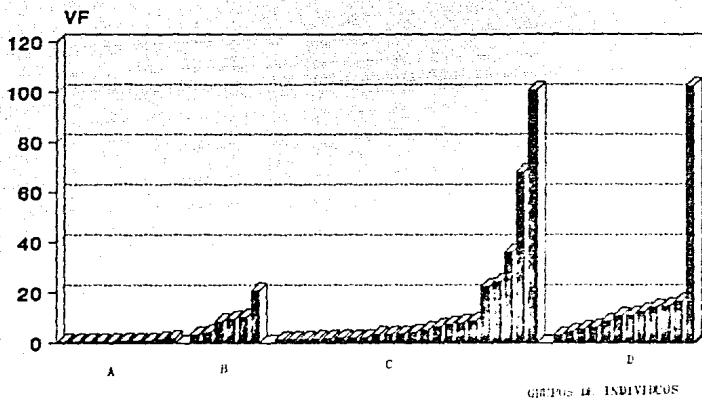
| | P. con daño neurológico | P.NC. sin PZQ | P. NC. con PZQ | Parametros |
|---------------|----------------------------|---|--|------------|
| Ind. control | - a 0.001 + a 0.001 | - a 0.001 + a 0.001 | - a 0.001 - a cualquier nivel.* | Lic Vf |
| P. con daño | | - a cualquier nivel + a 0.05 y .001+ | - a cualquier nivel - a cualquier nivel + | Lic Vf |
| P.NC. sin PZQ | | | + a 0.05, - a 0.001 + a 0.05, - a 0.001 | Lic Vf |

*Ei se incluye el caso del individuo HFG (tabla 4) se encuentra una diferencia significativa al nivel de 0.001.

-Entre estos dos grupos de individuos si existe diferencia estadísticamente significativo a los niveles de 0.05 y 0.001 aun cuando eliminamos al individuo HFG que mostró una frecuencia muy elevada antes y después del tratamiento.

FIGURA 3

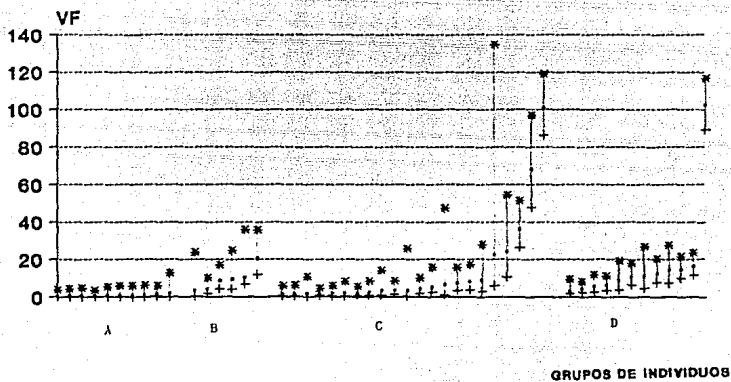
FRECUENCIAS DE VARIACION EN LOS GRUPOS ESTUDIADOS



- A= CONTROLES
- B= DANO NEUROLOGICO
- C= NEURODISTROFICOS SIN PZA
- D= NEURODISTROFICOS CON PZA

FIGURA A

FRECUENCIAS DE VARIACION INTERVALOS DE CONFIANZA DEL 95%



A= CONTROLES
 B= DANO NEUROLOGICO
 C= NEUROCISTICERCOSOS SIN PZQ
 D= NEUROCISTICERCOSOS CON PZQ

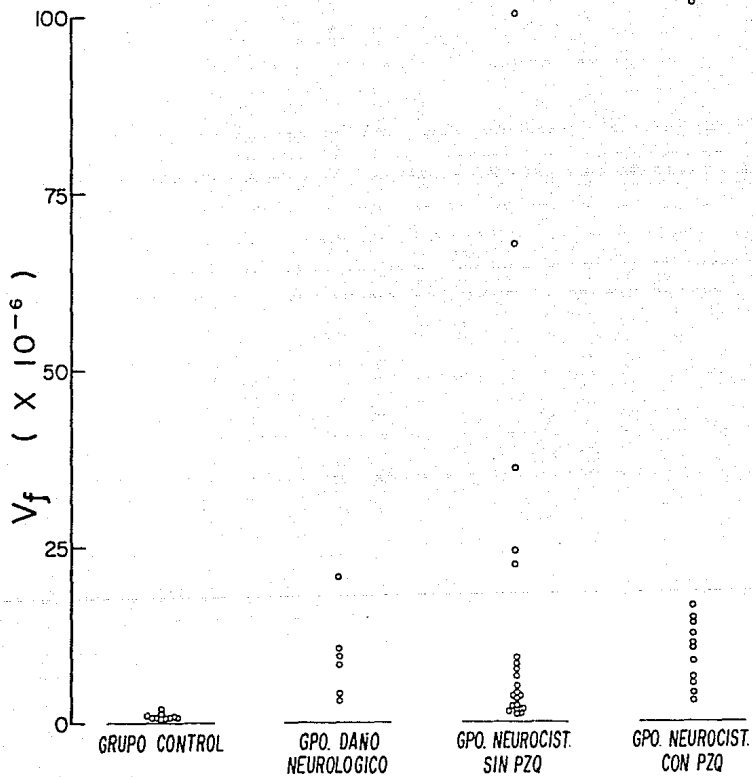


TABLA 8 INDIVIDUOS NEUROCISTICERCOSOS ESTUDIADOS

| PACIENTE | SEXO | EDAD | T. A. C. | ANEST | M. P. M. | ANTIB | ANTIC | EST | SED | PZ |
|----------|------|------|----------|-------|----------|-------|-------|-----|-----|----|
| FMD | F | 35 | + | + | 2 | + | + | + | - | - |
| CCL | M | 33 | + | + | 3 | + | + | - | - | * |
| CCL | M | 33 | + | - | 3 | - | - | + | - | + |
| AQA | M | 36 | + | - | 1 | + | + | - | - | * |
| ALS | F | 71 | + | + | 3 | + | + | + | - | - |
| TRR | M | 65 | + | + | 2 | + | + | + | - | * |
| DFG | F | 16 | + | - | 1 | - | - | - | - | + |
| AQA | M | 36 | + | - | 1 | - | - | - | - | + |
| JGG | M | 18 | + | + | 4 | + | + | + | - | - |
| DFG | F | 16 | + | - | - | - | - | - | - | + |
| TRR | M | 65 | + | - | - | - | - | - | - | + |
| HPG | M | 32 | + | + | 4 | + | + | + | - | * |
| HFP | M | 28 | + | + | 5 | + | + | + | - | * |
| JMC | M | 29 | + | + | 5 | + | + | + | - | - |
| HFP | M | 28 | + | - | - | - | - | - | - | + |
| HPG | M | 32 | + | - | - | - | - | - | - | + |
| JGM | M | 44 | + | + | 5 | + | + | + | - | - |
| SCM | F | 37 | + | + | - | + | + | + | - | - |
| JRQ | M | 54 | + | - | - | - | - | - | - | * |
| MME | F | 45 | + | + | - | + | + | + | - | * |
| CCL | M | 33 | + | - | - | - | - | - | - | + |
| MZ | F | 36 | + | + | - | + | + | + | - | * |
| JM | M | 35 | + | + | - | + | + | + | - | + |
| FIC | M | 33 | + | + | 1 | + | - | - | - | * |
| JSC | M | 27 | + | - | - | - | - | + | - | * |
| FIC | M | 33 | + | - | - | - | - | - | - | + |
| JSC | M | 27 | + | - | - | - | - | + | - | + |
| PTA | F | 56 | + | + | - | + | + | + | + | + |
| JCQ | M | 35 | + | + | - | + | + | + | - | * |
| JCQ | M | 35 | + | - | - | - | - | - | - | + |

| | | | | | | | | | | |
|------|---|----|---|---|---|---|---|---|---|---|
| CRE | F | | + | + | - | - | - | - | - | - |
| AGG | M | 62 | + | + | 4 | + | - | + | - | - |
| NGA | M | 61 | + | + | 4 | + | - | + | - | - |
| LRS | M | 50 | + | + | 2 | + | + | + | - | - |
| FSH | M | 44 | + | + | 4 | + | - | + | - | - |
| MFV | F | 57 | + | + | 1 | + | + | + | - | * |
| MRP | M | 20 | + | - | 1 | - | + | - | - | * |
| MRP | M | 20 | + | - | - | - | - | - | - | + |
| MFV | F | 57 | + | + | - | + | + | + | - | + |
| LUL | M | 43 | + | - | 1 | - | + | - | - | * |
| LUL | M | 43 | + | - | - | - | - | - | - | + |
| MCHH | F | 52 | + | + | 1 | + | + | + | - | - |
| GGM | M | 27 | + | + | 1 | + | - | + | - | * |
| JGM | M | 44 | + | + | 4 | + | - | + | - | - |
| MTCH | F | 38 | + | + | 2 | + | + | + | - | - |
| GGM | M | 27 | + | - | 1 | - | - | - | - | + |

T.A.C. Tomografía axial computarizada
 ANEST Anestésicos
 M.P.M. Medicamentos previos a la muestra
 ANTIB Antibióticos
 ANTIC Anticonvulsivos
 EST Esteroides
 SED Sedantes
 PZQ Praziquantel
 * Pacientes con una muestra anterior a la dosis de PZQ

TABLA 7 INDIVIDUOS CON DAÑO NEUROLOGICO ESTUDIADOS

| PACIENTE | SEXO | EDAD | T. A. C. | Anest. | M. P. M. | ANTIB | ANTIC | EST | SED | PZ |
|----------|------|------|----------|--------|----------|-------|-------|-----|-----|----|
| JG | M | 22 | Rx | + | 1 | + | - | + | - | - |
| ALA | M | 41 | + | + | 3 | + | + | + | + | - |
| MMM | F | 61 | + | + | 3 | + | + | + | + | - |
| MAE | F | 60 | Rx | + | - | + | + | + | - | - |
| XGM | F | 20 | + | - | 6 | - | + | - | - | + |
| MLPA | F | 41 | + | - | 1 | - | - | - | - | - |
| CHV | F | 28 | + | + | 2 | + | + | + | - | - |
| JSM | M | 34 | + | + | 4 | + | - | + | - | - |

Las tablas 6,7 contienen datos sobre los diversos tratamientos y medicamentos que fueron suministrados a los donadores estudiados hombres y mujeres cuyas edades fluctuan entre los 16 y 65 años de edad, en la tabla 6 y en la tabla 7, hombres y mujeres de 20 a 61 años de edad.

FRECUENCIA DE MUTACION EN EL LOCUS
HGPRT EN PACIENTES NEUROCYSTICERCOSOS
ANTES Y DESPUES DEL TRATAMIENTO CON
PRAZIQUANTEL

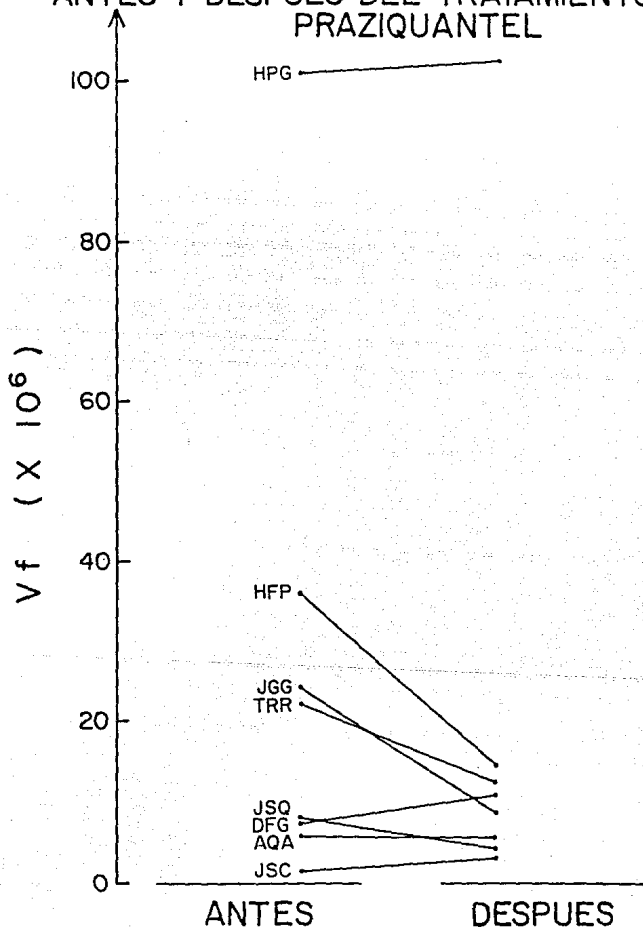


FIGURA 6

DISCUSION Y CONCLUSION.

Los resultados obtenidos muestran que los pacientes con daño neurológico de cualquier tipo, expuestos a radiación, anticonvulsivos, antibióticos, esteroides, anestésicos, analgésicos y sedantes, en general tienen un mayor número de mutaciones en el locus HGPRT que los individuos controles, no expuestos a ningún tratamiento. Este hallazgo sugiere un efecto mutagénico; su origen, sin embargo, no se puede atribuir a un factor en particular pues estos pacientes estuvieron expuestos a una variedad de combinaciones de los agentes mencionados y aparentemente, si su organismo sufre un proceso patológico como una parasitosis, éste pudiera sumarse o potenciar el efecto mutagénico.

Las frecuencias de variación más altas encontradas corresponden a pacientes neurocisticercosos. Sin embargo, llama la atención el hecho de que después del tratamiento con praziquantel la frecuencia de variación generalmente disminuyó (fig. 6), si se considera sólo a los pacientes de los que se pudo determinar su frecuencia de variación antes y después del tratamiento. Es aún más peculiar este resultado si se toma en cuenta que el praziquantel está considerado como comutágeno ya que en un estudio en el que se administró a ratones, en combinación con benceno (5) se vio que potenciaba el efecto mutagénico de éste.

No obstante, aún cuando los pacientes en este estudio estuvieron expuestos simultáneamente a diversos mutágenos, el praziquantel no mostró ser comutagénico con esos agentes en la condiciones de exposición estudiadas, sobre el locus estudiado.

Los resultados de este trabajo, desde otro punto de vista, correlacionan con los reportados por Flisser et al (19), quienes en un estudio con cerdos neurocisticercosos encontraron una alta frecuencia de linfocitos poliploides, la cual disminuyó significativamente después del tratamiento con praziquantel. Se sugirió la posibilidad de que esas células poliploides fueran resultado de algún mecanismo de evasión ejercido por el parásito en contra de la respuesta inmunológica celular normal, dando por resultado la eliminación de células con mutaciones del organismo.

Un hecho que pudiera apoyar lo anterior es la observación (en un estudio citogenético paralelo al presente en el que se analizaron las mismas muestras de sangre) de que antes del tratamiento con praziquantel la cinética de proliferación de los linfocitos en cultivo, estimulados con fitohemaglutinina, se encontraba muy retardada con respecto a la cinética en el grupo control. La situación cambió después del tratamiento con praziquantel, restableciéndose una cinética de proliferación normal (42).

Todo lo anterior señala el interés que puede tener el enfoque inmunológico en los estudios de mutagenicidad cuando se emplea el sistema de linfocitos de sangre periférica de humanos expuestos in vivo, pues el impacto biológico inicial de la producción de mutaciones en estas células podría traducirse en un mal funcionamiento de las mismas y en una mayor vulnerabilidad del organismo a las agresiones ambientales.

Hay que resaltar sin embargo, que la acción del praziquantel sobre el parásito y su supuesta actividad inmunosupresora (32) no significa que el medicamento no es genotóxico, pues en los mismos estudios, tanto en cerdos como en humanos, se encontró un leve efecto clastogénico (19, 66), inmediatamente después de la última administración del praziquantel.

Otro aspecto de interés en los resultados del presente estudio lo constituyen las frecuencias de variación de los pacientes MTH y HPG (tabla 3) quienes mostraron valores significativamente elevados con respecto al resto de los individuos del mismo grupo; ellos podrían pertenecer a una población de individuos con alta susceptibilidad a sufrir daño genético por la acción de mutágenos y por tanto, podrían tener mayor predisposición al cáncer o a daño gonadal. Debido a la alta frecuencia de mutación en sus células, se les puede considerar como pertenecientes a un grupo de alto riesgo.

Finalmente, aun cuando estuvieron involucradas muchas variables en el presente estudio, lo cual hizo altamente complicada la interpretación de los datos, es importante que se estudie grupos expuestos a mutágenos en las condiciones reales en que tales exposiciones ocurren: dosis bajas, exposiciones esporádicas y a diversos agentes cuyos efectos pueden sumarse o bien, multiplicarse cuando se combinan en un organismo vivo, sano o enfermo.

La combinación y/o interacción de todos esos factores puede resultar en una gama de respuestas individuales cuya tipificación debe ser uno de los objetivos en los estudios de exposición a agentes mutagénicos.

GLOSARIO

| | |
|-----------------|---|
| AMP | Adenisin monofosfato |
| ANEST. | Anestésicos |
| ANTIB. | Antibióticos |
| ANTIC. | Anticonvulsivos |
| AFPT | Adenina fosforribosil transferasa |
| ATP | Adenisin trifosfato |
| BrdU | Bromodesoxirudina |
| ¹⁴ C | Carbono catorce |
| DID | Prueba de Doble Inmunodifusión |
| DMSO | Dimetil Sulfoxido |
| DNA | Acido Desoxirribonucleico |
| ELISA | Ensayo Inmunoenzimatico |
| EST. | Esteroides |
| FC | Tecnica de liquido cefaloraquideo |
| GMP | Guanosin monofosfato o Ac. Guanilico |
| G-6-PD | Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa |
| GTP | Guanosin trifosfato |
| HA | Prueba de hemaglutinación pasiva |
| HGPRT | Hipoxantina guanina fosforibosil transferasa. |
| 3H-trd | Timidina tritiada |
| I.C. | Intervalo de confianza |
| IEF | Prueba Inmunolectroforesis |
| IF | Prueba inmunofluorescencia |
| IMP | Inosin monofosfato o Ac. Inosínico |

| | |
|--------|---------------------------------------|
| L.I.c. | Indice de Marcaje del cultivo control |
| L.I.m. | Indice de Marcaje en medio selectivo |
| LN | Síndrome Lesch-Nyhan |
| M | Núm. de Mutantes |
| M.P.M. | Medicamentos Previos a la Muestra |
| N | Núm. de células evaluables |
| PGK | Fosfoglicerato cinasa |
| pH | Potencial de Hidrógeno |
| PHA | Fito-Hemaqlutina |
| PRFP | Fosforribosil-1-Pirofosfato |
| PZQ | Praziquantel |
| r.p.m. | Revoluciones por minuto |
| SED. | Sedantes |
| T | Núm. total de núcleos recuperados |
| T.A.C. | Tomografía Axial Computalizada |
| TG | Tioguanina |
| Vf | Frecuencia de variación |
| XMP | Xantosin-Monofosfato |

BIBLIOGRAFIA

- 1 Albertini R.J. and De Mars R. Mosaicism of peripheral blood lymphocyte populations in females heterozygous for the Lesch-Nyhan mutation. *Biochemical Genetics* 11;5:397-411. 1974.
- 2 Aluja, A. Frequency of Forcine Cysticercosis in Mexico, en Flisser, A., willms K., Lacleste, J.P., Larralde., C. y Beltrán, F.(comps.). *Cysticercosis: Present State o Knowledge and Perspectives*, Nueva York. pp. 53-62. 1982.
- 3 Aluja, A. et al.1987. *Cisticercosis*. Ed. Fondo de Cultura Económica, México.
- 4 Anónimo. *Bioquímica de Harper*. Traducción actualizada de la 19a. edición Ed. El Manual Moderno, S. A. de C. V. Cap. 26, 1984.
- 5 Anwar, W.A., W.W. Au and M. s. Legator. Genotoxic Interactionbetween drug and environmental Mutagenesis 11:5. 1989.
- 6 Arnold W.S. and Kelly W. N. Human hypoxantine-guanine phosphoribosyl-transferase. *J. Biol. Chem.* 246: 7398-7404. 1971.
- 7 Barnes, R.D., 1977. *Zoología de los Invertebrados*. Ed. Interamericana, México. pp. 139-177.
- 8 Bartsch, H., T. Kuroky, C. Maleaveille, N. Loprieno., R. Barale, A. Abbondandolo, S. Bonatti, G. Rainaldi, E. Vogel and A. Davis. Assessment of mutagenicity by a combined approach with different test systems:absence of genetic activity of the antischistosomal drug Praziquantel. *Mutation Research* 64: 112-113. 1979.
- 9 Bartsch, H., T. Kuroky, C. Malavielle, N. Loprieno, R. Barale, A. Abbondandolo, S. Bonatti, g. Rainaldi, e. Vogel and A. Davis. Absence of mutagenicity of Praziquantel, a new, effective, anti-schistosomal drug, in bacteria, yeasts, insect and mammalian cells. *Mutation Research* 59: 133-142. 1979.
- 10 Batzinger, R. P. and E. Bueding. s. Y. L. Ou. Antimutagenic effects of 2 (3)-tert-butyl-4-hydroxyanisole and of antimicrobial agents. *Cancer Research* 38: 4478-4485. 1978.

- 11 Bigbee W. L., Langloist R. G. y Jensen R. H. Assay of in vivo human somatic cell mutations—enumeration of glycophorin gene expression loss variant erythrocytes. *Environmental Mutagenesis 7 Suplemento 3: 3*. 1985.
- 12 Billings, P. and C. Heidelberger. Effects of Praziquantel, a new antischistosomal drug, on the mutation and transformation of mammalian cells. *Cancer Research 42: 2692-2696*. 1982.
- 13 Brascomb e. W., Mena M.C., Stanker L. H. and Jensen R. H. Progress towards a hemoglobin based, in vivo somatic mutation assay. *Environmental Mutagenesis 7, suplemento 3:3*. 1985.
- 14 Caskey C.T. y Kruch B. D. The HSPRT locus. *Cell 16: 353-379*. 1979.
- 15 Cortinas de Nava C., Ostrosky-Wegman P., y Galván S. Principios de Mutagénesis y su Relación con Carcinogénesis y Teratogénesis. Instituto de Investigaciones Biomédicas, U.N.A.M. Sin fecha. México.
- 16 Diwan, A. R., Coker-Vann, M. Brown, D., Subianto, B., Yolken, R., Desowitz, R., Escobar, A., Gibbs, C. J. y Gadjuzek, C.D., Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of antibody to cysticericy of *Taenia solium*, *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 31: 364-369. 1982.
- 17 Escobar A. y Nieto, D. Parasitic diseases, en J. Minckler (comp.), *Pathology of the Nervous System*, Nueva York, MacGraw Hill, Vol. 3, 2507-2515. 1972.
- 18 Espinoza, B., Flisser, A., Plancarte, A. y Laralde, C., Immunodiagnosis of human cysticercosis; ELISA and immunoelectrophoresis, en Flisser, A., Willms, J., P., Lalette J., P., Laralde, C., Ridaura, C. y Beltrán F., (comps.), *Cysticercosis: Present state of knowledge and perspectives*, Academic Press, Nueva York, pp. 163-170. 1982.
- 19 Flisser, A., D. Gonzáles, A. Plancarte, P. Ostrosky, R. Montero, A. Stephano and D., Correa, Praziquantel Treatment of Brain and Muscle Porcine *Taenia solium* Cysticercosis, *Parasitol Researche* 2-4-90.

- 20 Froberg, H. Propiedades farmacocinéticas, farmacológicas y toxicológicas del Praziquantel, Rev. Salud Pública en México, 24: num. 6, 605-623. 1982.
- 21 Gemmell, M. A., Johnstone. P. D., Cestodes. Antibiotics Chemotherapy, Ed. Karger, Basel, 30: 54-114. 1981.
- 22 Gonzalez-Barranco, D., Sandoval-Islas, M. E. y Trujillo Valdéz, V. M., Reacción de inmunofluorescencia indirecta en cisticercosis. Arch. Investi. Med., México, 9: 51-58. 1978.
- 23 Han-Jong Fim, Chang-Yoon Park, Jong-Sang Lee, Kyoung-Hawn Joo and Kwang-Sa Lyu, Therapeutic Effects of Praziquantel (Embay 8440) against *Hymenolepis nana* infection. The Korean Journal of Parasitology Vol 16, No. 2, 82-87. December, 1978.
- 24 Harold W. Brown. Parasitología Clínica. EdInteramericana, México, 1977. pp. 182-185.
- 25 H. Thomas and R. Gonnert and P. Andrews. Praziquantel, a new Broad-spectrum Antischistosomal Agent. Z. Parasitenk, 52, 129-150. 1977.
- 26 H. Thomas and R. Gonnert. The efficacy of Praziquantel against cestodes in animals. Z. Parasitenk 52, 117-127. 1977.
- 27 Ketkar, M., J. Althoff and U. Mohr. A chronic study of praziquantel in Syrian golden hamsters and Sprague-Dawley rats. Toxicology 24: 345-350. 1982.
- 28 K. Steiner y A. Garbe. El destino del Praziquantel en el organismo. II distribución en la rata. European journal of drug metabolism and pharmacokinetics pp. 97-106, 2. 1976.
- 29 K. Steiner, A. Garbe, H. W. Kiekmann and H. Nowak. The fate of Praziquantel in the organism. Pharmacokinetics in animals, European Journal of drug metabolism and, pharmacokinetics No. 2, pp. 85-95. 1976.
- 30 K. U. Buhning, H. W. Kiekmann, H. Muller, A. Garbe and Nowak. Metabolism and pharmacokinetics, 1978. pp. 179-190.
- 31 Lawson, J. R. y Gemmell, M. A. Hydatidosis and cysticercosis: the dynamics of transmission. Adv. Parasitol. 22: 261-308. 1983.

- 32 Letonja T., Hammerberg C., Schurig G. Evaluation of spleen lymphocyte responsiveness to a T-cell mitogen during early infection with larval *Taenia taeniaciformis*. *Parasitol. Res.* 73: 265-270. 1987.
- 33 Lesch M. and Nyhan W. L. A familiar disorder of uric acid metabolism and central nervous system function. *Am. J. Med.* 36: 561-570. 1967..
- 34 Lombardo, L., Vasconcelos, D. y Cruz, S., H. Tratamiento de la cisticercosis con Praziquantel. *Gaceta Médica de México*, 1983, 119:1, 17-22.
- 35 Madhukar Ketkar, Jurgen Althoff and Ulrich Mohr. A chronic study of Praziquantel in Syrian golden hamsters and sprague-dawley rats. *Toxicology*, 24 345-350. 1982.
- 36 Madrazo, N. I., García-Rentería, J. A., Paredes, G. y Olhagaray, B. Diagnosis of intraventricular and cisternal cysticercosis by computerized tomography with positive intraventricular contrast medium. *J. Neurosurg.*, 55: 1947-1951. 1981.
- 37 Madrazo, N. I., García-Rentería, J. A., Sandoval, b. M. y López-Vega, F. Intraventricular Cysticercosis. *Neurosurg.*, 12: 148-152. 1983.
- 38 Márquez-Monter, H., y Austria, B. Cisticercosis en el Hospital General de México: Estudio Anatomopatológico de 155 casos. *Rev. Lat. Amer. Patología*, 8: 79. 1969.
- 39 Meglitsch, P. A. 1978. *Zoología de los Invertebrados*, Ed. H. Blume, Madrid, pp. 211-221.
- 40 Minguetti. G., Ferreira, M. Computed tomography in neurocysticercosis. *Neurol Neurosur. Psychiat.* 46: 936-942. 1983.
- 41 Montero, M.R. 1986. Mutaciones génicas en linfocitos Humanos. Tesis de Maestría, Fac. de Ciencias, U.N.A.M.

42. Montero R., Valencia D., Moreno F., Sandoval M. and Ostrosky P. Point mutation and cytogenetic analysis on lymphocytes from neurocysticercotic patients treated with praziquantel. *Env. and Mol. Mut.* vol. 14, suppl. 15: 132, 1989.
43. Obermeier, J. and H. Froberg. Mutagenicity studies with Praziquantel, a new anthelmintic drug: Tissue-host and urine mediated mutagenicity assays. *Archiv. f.untotoxicologie* 38: 149-161. 1977.
44. Ostrosky-Wegman P., García G., Arellano L., Espinoza J., Montero R. y Cortinas de Nava C. Genotoxicity of antiamebic anthelmintic and antimycotic drugs in human lymphocytes. En: Tice R., y Hollaender A. (eds.). *Sister Chromatid Exchanges*; Plenum Publishing Corporation. pp. 915-925. 1986.
45. Ostrosky-Wegman P., Montero M. R. y Cortinas de Nava C. Use of BrdU labeling in the human lymphocyte HGPRT somatic mutation assay. *Environmental Mutagenesis*. Vol. 8 suplemento 6, EMS Abstracts, 1986 p. 63.
46. Ostrosky-Wegman P., Montero M. R., Cortinas de Nava C., Raymond R. Tice and Richard Albertini. The use of bromodeoxyuridine labeling in the human lymphocyte HGPRT somatic mutation assay. *Mutation Research*, 191 211-214. 1987.
47. Ostrosky-Wegman, P. Montero, A. Palao, C. Cortinas de Nava, F. Hurtado and R.J. Albertini. 6-Thioguanine-resistant T-lymphocyte autoradiographic assay. Determination of variation frequencies in individuals suspected of radiation exposure. *Mutation Research*, 00 MTR 02109. 1990.
48. Paz, G. Tratamiento de teniasis saginata con Praziquantel. *Bol. Chile. Parasit*, 32: 14-16. 1977.
49. Rabiela-Cervantes, M., Rivas-Hernández, A., Rodríguez-Ibarra, J., Castillo-Medina, S. y Cancino, F. Anatomopathological aspects of human brain cysticercosis, en Flisser, A., Willms K., Laclette, J. P., Larralde, C., Ridaura, C. Beltrán, F. (comps.), *Cysticercosis: Present state of knowledge and perspectives*, Academic Press, Nueva York, 1982, pp. 179-200.

- 50 Ricciuti, J.C. y Ruddele F. H. Assignment of nucleoside phosphorylase to D-14 and localization of x-linked loci in man by somatic cell genetics. *Nature New Biol.* 241: 180-182. 1973.
- 51 R. Gonnert and P. Andrews. Praziquantel, a New broad-spectrum Antischistosomal agent. *Z. Parasitenk.* 52, 129-150 1977.
- 52 R. J. Albertini. Somatic gene mutations in vivo as indicated by the 6-thioguanine resistant T-lymphocytes in human blood. *Mut. Res.* 150; 411-419, 1985.
- 53 R. J. Albertini y De Mars R. Mosaicism of peripheral blood lymphocyte populations in female heterozygous for the lesch-Nyhan mutation. *Biochemical Genetics* 11; 5: 397-411, 1947.
- 54 R. J. Albertini, I. M. Sullivan, J. K., Berman, C. J. Greene, J. A. Stewart, J. M. Silveira and J. P. O'Neill. Mutagenicity monitoring in humans by autoradiographic assay for mutant T-lymphocytes. *Mutation Research*, 204: 481-492. 1988.
- 55 Robles, C. Tratamiento médico de la cisticercosis cerebral. *Gac. Méd. Méx.*, 117: 355. 1981.
- 56 Seegmiller J. E., Rosenbloom F.M. y Kelley W.N. Enzyme defect associated with a sex-linked human neurological disorder and excessive purine synthesis. *Science* 155: 1682, 1967.
- 57 Shows T.B. and Brown J. A. Human X-linked genes regionally mapped utilizing X-autosome translocations and somatic cells hybrids. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 72: 2125-2129.
- 58 Slais, J. The morphology and pathogenicity of the Bladder worms *Cysticercus cellulosae* and *Cysticercus bovis*. *Academia*, Praga, 1970, p. 144.
- 59 Sotelo, J., Escobedo, F., Rodriguez Carbajal, J., Torres, B., Rubio Donnadieu, F. Therapy of parenchymal brain cysticercosis with Praziquantel. *The New England Journal of Medicine*, 310: 1001-1007.
- 60 Strauss G.H. and Albertini R. J. Enumeration of 6-Thioguanine resistant peripheral blood lymphocytes in man as a potential test for somatic cell mutations arising in vivo. *Mut. Res.* 61: 353-379, 1979.

- 61 Sutherland G.R., Jacky P. B., Baker E., Manuel A. Heritable fragile sites on human chromosomes: X. New folate sensitive fragile sites: 6p23, 9p21, 9q23 and 11q23. Am. J. Hum-Genet 35: 432-437, 1983.
- 62 Webbe, G. The hatching and activation of taeniid are in relation to the development of cysticercosis in man. Zeitschrift für Tropenmedizin und Parasitologie, 18: 354-369. 1967.
- 63 W. Snedecor G., G. Cochran. W. Métodos Estadísticos. Ed. C.E.C.S.A. México, 1984. pp. 703.
- 64 Yunis J. J. Chromosomal rearrangements, genes and fragile sites in cancer: clinical and biologicla implications. En: Eds. De Vita, Hellman y Rosenber. Important Advances in Oncology 1986. Lippincott Co. pennsylvania pp. 93-128. 1986.
- 65 Yunis J. J. and Soreng L.A. Constitutive fragile sites and cancer. Science 226: 1199-1204, Dic. 1984.