

00346



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

1

FACULTAD DE CIENCIAS

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

CELULAS CALICIFORMES Y EOSINOFILOS EN LA MUCOSA INTESTINAL DE HAMSTERES Y JERBOS INFECTADOS CON *Taenia solium*.

287753

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE MAESTRA EN CIENCIAS

(BIOLOGIA CELULAR)

P R E S E N T A :

BIOL. LAURA AGUILAR VEGA

DIRECTORA DE TESIS: DRA. ANA FLISSER STEINBRUCH

MEXICO, D.F.



2001

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO



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 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.



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

Quiero agradecer al jurado por la revisión de ésta tesis.

M en C. Guillermina Avila

Dra. Ana Flisser

M en C. Lius García

Dra. Patricia Rivas

Dra. Patricia Tato

Dra. Kaethe Willms

Dr. Edgar Zenteno

Esta tesis fue realizada bajo el apoyo de:

El Sistema Nacional de Investigadores (SIN).

La fundación Telmex

DEDICATORIA

A mi querido hijo Abraham:

Con todo mi amor y cariño, por que eres el motor de mi vida, y por que me ayudas a ser mejor cada día.
Gracias por tu comprensión

A mi madre María del Carmen:

Por ser una mujer excepcional, por sus consejos; su lucha incansable y su amor desmesurado a los hijos y por que nos ha enseñado el valor de la familia unida.

A mis hermanas:

Norma, Alma Rosa y Lucy. por sus consejos, críticas y apoyo incondicional, por que además de ser mis hermanas son mis amigas.

A mis sobrinos:

Max, Quique y Bruno, por todas sus preguntas, sus sonrisas y travesuras.

A mi Abuela Avelina:

Por sus cuidados en la infancia

A la Familia Colín Vega:

Mis Tíos Jesús y Albina; mis primos Cecilia, Verónica y sus hijos, Jesús, Eduardo y su familia y muy especialmente a Ivonne y a Héctor por su alegría de vivir y compartir con armonía la vida.

A mi padre Donato y a Donny:

Por sus críticas.

A mis cuñados:

Ricardo, Enrique y Javier, por ser parte de la familia.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Ana Flisser por su amistad, por sus consejos, por haber cambiado la estructura de mi vida, por darme la oportunidad de seguirme superando, por su lucha incansable en la investigación, gracias por permitirme realizar este trabajo en su laboratorio.

A la M en C. Guillermina Avila por ser una gran amiga, por todas sus críticas, por que hemos estado juntas en las buenas y en las malas y por que con su ejemplo en el laboratorio nos enseña a ser mejores profesionistas.

Al Técnico Santiago Benítez Roura, por su ayuda en el manejo de los cortes y las técnicas histológicas

Al personal del Bioterio del INDRE de la Ssa, por la manipulación de los animales experimentales.

MVZ. Irma Valle
MVZ Martín Piñon
Sra. Alicia Aguilar

Al Dr. Edgar Zenteno, a la Dra. Blanca Espinoza y al Dr. Lascurain por su asesoría, críticas y revisión de éste trabajo.

Al laboratorio de neuropatología de INN y N por permitirme una estancia corta en el laboratorio:

Dr. David Rembau

Muy especialmente, por su asesoría en la histoquímica de la lectina HPA y por sus comentarios al:

Dr. Jorge Guevara

Por su asesoría en la revisión de laminillas a la:

Dra. Isabel Lavenat

Por su ayuda en la técnica histológica a la:

Biol. Aurora Sánchez

Por hacer esta estancia muy agradable a la :

Biol. Francisca Fernández

M en C. Alma Ortíz

Al personal de la hemerobiblioteca JJ Izquierdo por su ayuda en la recopilación de información y en la toma de positivas.

Biol. Sandra Moncada

M en E. Egbert Sánchez Vanderkast

Lic. Brenda Moncada

Srita. Paloma Olivares

DEDICATORIA

A mi querido hijo Abraham:

Con todo mi amor y cariño, por que eres el motor de mi vida, y por que me ayudas a ser mejor cada día.
Gracias por tu comprensión

A mi madre María del Carmen:

Por ser una mujer excepcional, por sus consejos; su lucha incansable y su amor desmesurado a los hijos y por que nos ha enseñado el valor de la familia unida.

A mis hermanas:

Norma, Alma Rosa y Lucy. por sus consejos, críticas y apoyo incondicional, por que además de ser mis hermanas son mis amigas.

A mis sobrinos:

Max, Quique y Bruno, por todas sus preguntas, sus sonrisas y travesuras.

A mi Abuela Avelina:

Por sus cuidados en la infancia

A la Familia Colín Vega:

Mis Tíos Jesús y Albina; mis primos Cecilia, Verónica y sus hijos, Jesús, Eduardo y su familia y muy especialmente a Ivonne y a Héctor por su alegría de vivir y compartir con armonía la vida.

A mi padre Donato y a Donny:

Por sus críticas.

A mis cuñados:

Ricardo, Enrique y Javier, por ser parte de la familia.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Ana Flisser por su amistad, por sus consejos, por haber cambiado la estructura de mi vida, por darme la oportunidad de seguirme superando, por su lucha incansable en la investigación, gracias por permitirme realizar este trabajo en su laboratorio.

A la M en C. Guillermina Avila por ser una gran amiga, por todas sus críticas, por que hemos estado juntas en las buenas y en las malas y por que con su ejemplo en el laboratorio nos enseña a ser mejores profesionistas.

Al Técnico Santiago Benítez Roura, por su ayuda en el manejo de los cortes y las técnicas histológicas

Al personal del Bioterio del INDRE de la Sea, por la manipulación de los animales experimentales.

MVZ. Irma Valle
MVZ Martín Piñon
Sra. Alicia Aguilar

Al Dr. Edgar Zenteno, a la Dra. Blanca Espinoza y al Dr. Lascurain por su asesoría, críticas y revisión de éste trabajo.

Al laboratorio de neuropatología de INNy N por permitirme una estancia corta en el laboratorio:

Dr. David Rembau

Muy especialmente, por su asesoría en la histoquímica de la lectina HPA y por sus comentarios al:

Dr. Jorge Guevara

Por su asesoría en la revisión de laminillas a la:

Dra. Isabel Lavenat

Por su ayuda en la técnica histológica a la:

Biol. Aurora Sánchez

Por hacer esta estancia muy agradable a la :

Biol. Francisca Fernández

M en C. Alma Ortíz

Al personal de la hemerobiblioteca JJ Izquierdo por su ayuda en la recopilación de información y en la toma de depositivas.

Biol. Sandra Moncada

M en E. Egbert Sánchez Vanderkast

Lic. Brenda Moncada

Srita. Paloma Olivares

A mis amigos del posgrado, por su ayuda, por compartir los desvelos y las risas.

QFB. Mirza Romero Valdovinos

Biol. Ricardo García Rodea

QFB. Gilberto Vaughan

A mis amigos y compañeros del Laboratorio, por todo su apoyo incondicional, por sus críticas y sobretodo por su amistad:

Dra. Maria Teresa Raviela

QFB. Mayra Cruz Rivera

QPF. Pablo Maravilla Campillo

Pas QFB. Joel Martínez Ocaña

Pas Biol. Adriana Garza Rodríguez

QFB. Laura González Malerva

Biol. Olivia Reynoso Ducoing

Dr. Javier Ambrosio

A mis amigos por apoyarme a lo largo de toda mi vida, gracias por estar ahí cuando los necesito:

Dra. Diana Ortíz García

Sr. Eliseo Manzano

M en C. Consuelo Almazán

QFB. Raquel Tapia

M en I BB. Jorge Luis de la Rosa

Biol. Irma López

Biol. Cuauhtémoc Corella

Biol. Heidi Moyao

MC. Lilia Robert

QFB. Odelia Benítez

Sra. Cathy González

Sra. Rosaura Martínez

M en C. Albeto Gomez Priego

Biol. Maria Teresa Ruenes

Al personal administrativo, gracias por su disponibilidad:

Lic. Carlos Díaz

Sra. Isabel García

Srita. Guadalupe López

Sra. Aurora Salazar

Sr. Juan Rojas

Sra. Lucy García

Sr. Ernesto Rojas

**CELULAS CALICIFORMES Y EOSINOFILOS EN LA MUCOSA
INTESTINAL DE HAMSTERES Y JERBOS INFECTADOS CON
*Taenia solium***

INDICE

Resumen	1
Introducción	2
Clasificación.....	2
Ciclo de vida de <i>Taenia solium</i>	2
Respuesta inmune en contra de parásitos.....	3
Inmunología de la teniosis.....	4
Histología del intestino delgado de vertebrados.....	5
Origen y distribución de los eosinófilos.....	8
Participación de los eosinófilos en la relación huésped-parásito en helmintiasis.....	9
Origen y distribución de las células caliciformes.....	12
Funciones de las células caliciformes.....	13
Fisiología de las mucinas.....	16
Participación de las células caliciformes en la relación huésped-parásito en helmintiasis.....	17
Justificación	20
Hipótesis	20
Objetivo general	21
Objetivos particulares.....	21
Diseño experimental.....	22
Material y Metodología	23
Animales experimentales.....	23
Cisticercos.....	23
Viabilidad de los cisticercos.....	23
Grupos experimentales e infección de los animales.....	24
Detección de antígenos del parásito mediante el ELISA para coproantígenos de <i>Taenia sp</i>	24

Recuperación del sitio de anclaje de tenias del intestino delgado de los animales experimentales.....	25
Procesamiento de las muestras de tejido para cortes histológicos.....	26
Procedimiento de la tinción de hematoxilina-eosina.....	26
Procedimiento de tinción de ácido peryódico de Schiff.....	28
Histoquímica con la lectina <i>Hélix pomatia</i> (HPA)	29
Resultados	31
Discusión	57
Conclusión	64
Bibliografía	65

RESUMEN

Este estudio reporta los hallazgos histológicos e histoquímicos en la mucosa intestinal de hámsteres y jerbos infectados experimentalmente de *T. solium* y sin drogas inmunosupresoras. Se emplearon dos grupos de animales, los animales infectados y los animales no infectados (testigo). Cada animal infectado se inoculó con 8 cisticercos de *T. solium* por vía oral. La implantación y el seguimiento de la infección se demostró por ELISA para coproantígenos de *Taenia sp.* Se realizaron necropsias de ambos animales experimentales cada 6 dpi, se tomaron muestras de tejido del intestino delgado del área de anclaje de las tenias (PA) y del íleon (PP). El tejido fue procesado para cortes histológicos y fue teñido con hematoxilina-eosina (H-E), ácido peryódico de Schiff (PAS) y por histoquímica con la lectina *Helix pomatia* (HPA) que reconoce N-acetilgalactosamina de las mucinas de las células caliciformes. Se identificaron las células caliciformes (CC) y los eosinófilos (eos) en la mucosa intestinal, se contó el número de células en 10 vellosidades de intestino delgado por animal. Los estudios hechos con la lectina, se evidenció la intensidad de marca en el reconocimiento de N-acetilgalactosamina, en los animales infectados y en los animales testigo. Los resultados mostraron que en los jerbos en comparación con los testigo, hubo un mayor número de células caliciformes (CC) 110 por vellosidad y eos (27/vellosidad) a los 12 dpi, disminuyendo paulatinamente hasta los 30 dpi (30 CC y 3 eos). En los hámsteres se observaron numerosas CC a los 18 dpi (80), el número celular fue menor a los 36 dpi (16). Los eos en ambos roedores fueron numerosos desde los 6 dpi (16 en jerbos y 28 en hámsteres), para posteriormente disminuir a los 24 dpi, en hámsteres (6) y a los 30 dpi (3) en jerbos. El conteo celular en el área del íleon del intestino delgado de los animales infectados y en la PA y PP de animales testigo fue similar y mucho menor que en la parte donde se implantó la tenia (16-30 CC y de 1-3 eos). Después de que se presentaron los mayores números de CC y eos, se recuperó menor número de tenias en ambos modelos. En hámsteres se obtuvieron más *T. solium* de mayor tamaño y desarrollo, mientras que en jerbos hubo un mayor número de CC y eos con menores cargas parasitarias y de mínimo tamaño y desarrollo. El coproantígeno en jerbos y en hámsteres fue positivo desde los 12 dpi y permaneció así hasta los 24 dpi para jerbos, y a los 30 dpi para hámsteres, posteriormente fue negativo y tampoco se encontraron tenias a la necropsia, al igual que en los animales testigo durante el tiempo de experimentación. Utilizando la lectina HPA, se observó que existe un reconocimiento muy intenso de N-acetilglucosamina en los animales infectados en comparación con los animales testigo, cuyo reconocimiento fue débil. La información obtenida sugiere que las células caliciformes y los eosinófilos están participando en la expulsión de la tenia, mediante la producción masiva de mucina.

INTRODUCCION

Taenia solium es un céstodo hermafrodita que en su estadio adulto se establece en el intestino delgado del hombre, único hospedero definitivo, ocasionando la enfermedad conocida como teniosis. *T. solium* puede permanecer por períodos prolongados en este hábitat, provocando un daño mínimo al hospedero (Flisser, 1994). La cisticercosis es una enfermedad originada por el establecimiento de la larva (cisticerco) de éste cestodo en los tejidos del hospedero intermediario, el cerdo y de forma accidental en el humano (Gemmell *et al.*, 1983).

La clasificación de *T. solium* es la siguiente (Schmidt y Roberts, 1989).

PHYLUM	Platyhelminthes.
CLASE	Cestoidea.
SUBCLASE	Eucestoda.
ORDEN	Cyclophyllidae.
FAMILIA	Taeniidae.
GENERO	<i>Taenia</i>
ESPECIE	<i>Taenia solium</i> (Linnaeus, 1758).

Ciclo de vida de *Taenia solium*

El ciclo de vida de *T. solium* se inicia cuando los proglótidos grávidos se desprenden del estróbilo y salen del intestino delgado del hombre con sus heces, liberando huevos en el medio. El hombre y el cerdo adquieren la cisticercosis por comer huevos de *T. solium*, el huevo eclosiona dentro del aparato digestivo del hospedero cuando el material cementante que une a los bloques del embrióforo es digerido por las enzimas proteolíticas intestinales (Laclette *et al.*, 1982). Las oncosferas liberadas y rodeadas por la membrana oncosferal son inactivas, pero una vez que entran en contacto con el jugo duodenal humano o jugo intestinal artificial se rompe la membrana oncosferal y los ganchos comienzan a moverse activamente, el

cuerpo de la oncosfera se contrae y se expande. Con ayuda de sus ganchos y posiblemente por sus secreciones enzimáticas, las larvas penetran la pared intestinal hasta alcanzar los capilares linfáticos y sanguíneos por cuya corriente son transportadas a diferentes tejidos del organismo (Smyth y MacManus, 1989). En el cerdo la larva se transforma en un cisticerco totalmente desarrollado en un período de 60 a 70 días posteriores a la infección. En el hombre y en el cerdo los cisticercos se establecen principalmente en el sistema nervioso central, músculo esquelético y ojos (Schenone *et al.*, 1982).

El ciclo de vida de *T. solium* se completa cuando el ser humano ingiere carne de cerdo cruda o insuficientemente cocida que contiene cisticercos vivos; las sales biliares y las enzimas digestivas estimulan al cisticerco para que evagine su escólex y por medio de sus órganos de fijación, ventosas y ganchos rostelares, se mantiene anclado a la mucosa del intestino delgado del hospedero, donde alcanza la madurez al cabo de tres a cuatro meses convirtiéndose en una tenia adulta.

Respuesta inmune en contra de parásitos intestinales.

Durante mucho tiempo se ha pensado que los céstodos adultos no son inmunogénicos o su inmunogenicidad es muy baja, lo anterior se basa en que la mayoría de los céstodos que poseen escólex no tienen una penetración suficiente en la mucosa intestinal y por lo tanto, el contacto con el sistema inmune del hospedero es mínimo (Ito y Smyth, 1987; Merchant *et al.*, 1998). Estudios hechos en céstodos como *Echinococcus granulosus* y *E. multiloculares* muestran que estos dos parásitos intestinales pueden generar anticuerpos específicos pues se detectan en el suero de perros infectados desde los 14 días, ya que su escólex puede penetrar en la mucosa intestinal e interactuar con el hospedero (Jeckins y Rickard, 1986).

Inmunología de la teniosis.

Poco se sabe de la relación huésped-parásito en cuanto a la infección por el adulto de *Taenia solium*. En infecciones experimentales de hámsteres con *T. solium* se ha demostrado la presencia de anticuerpos IgG en el suero de los animales infectados inmunosuprimidos y no inmunosuprimidos con acetato de metil prednisolona (MPA) (Benítez, 1996). Wilkins y colaboradores (1999), utilizando la prueba de inmunolectrotransferencia (IET) con antígenos de excreción/secreción de tenias recuperadas de hámster, determinaron la presencia de anticuerpos de las clases IgG1 e IgA en el suero de portadores de *T. solium*; que reconocen en forma específica dos antígenos, uno de 32.7 kD y de 37.8 kD. Estos antígenos no son reconocidos por los sueros de los pacientes infectados con *T. saginata* ni por aquellos que tienen cisticercosis. Estos estudios demuestran que en los hospederos infectados con el adulto de *T. solium* (infecciones naturales o experimentales) se desarrolla una respuesta inmune en contra del parásito que participa en la relación hospedero-parásito.

En cuanto a la respuesta celular en la teniosis experimental por *T. solium* en el hámster dorado, Monroy-Ostria y colaboradores (1993), reportaron que a las seis semanas post-infección (SPI) el epitelio intestinal que rodea a las tenias se encontraba necrosado y a las 12 SPI hay un infiltrado formado por macrófagos, células epitelioideas y algunas células plasmáticas. Por su parte, Merchant y colaboradores (1998), utilizando este mismo modelo experimental, informaron que al implantarse la tenia en la mucosa intestinal de hámsteres lo hace cerca de las criptas de Lieberkühn, ocasionando daño mínimo, la necrosis celular se observó en una área no superior a los 1-1.25 mm², permitiendo la regeneración del tejido en las vellosidades.

T. solium, además de desarrollarse en el hámster dorado infectado experimentalmente, puede crecer en otros roedores como son los jerbos mongoles y las chinchillas de cola larga (Maravilla *et al.*, 1998).

Para monitorear la susceptibilidad de los diferentes modelos experimentales a la infección por *T. solium* se ha empleado un ELISA de captura con anticuerpos policlonales contra tenias obtenidas de hámster, el ensayo detecta los antígenos del parásito presentes en las heces de los animales infectados; el ELISA tiene una sensibilidad y especificidad del 100% para el modelo experimental (Avila 1992; Allan *et al.*, 1990). En cuanto al desarrollo de *T. solium* en hámsteres y jerbos, se observó que para que los jerbos mantengan por mas tiempo la infección, se necesita inmunodeprimirlos con una dosis de 8 mg del esteroide metil prednisolona en comparación con los 2 mg que se requieren para el hámster; el uso de dosis inferiores de esteroide en el jerbo determinara que la tenia se expulse en menor tiempo y se recuperen menos parásitos (Maravilla *et al.*, 1998).

En hámsteres infectados con el estadio adulto de *T. crassiceps* se observó que la expulsión de las tenias a partir de los 10 días post-infección (DPI), presentandose un incremento en la actividad de las enzimas eosinofilperoxidasa y mieloperoxidasa, a nivel de la mucosa intestinal, en el área de anclaje de las tenias, así como aumento en el número de células cebadas en la lámina propia; éstos incrementos fueron dependientes de la carga parasitaria y, en hámsteres inmunodeprimidos con prednisolona, la respuesta inflamatoria se abatió considerablemente (Sato *et al.*, 1994).

Estructura del intestino delgado vertebrados

El intestino delgado de vertebrados esta constituido de varias capas: la capa principal interna es la mucosa que esta compuesta por el epitelio, la lámina propia y la muscular. Frecuentemente contienen una mezcla de distintos tipos epiteliales, con capacidad de absorción (enterocitos) y de secreción (células caliciformes, células de Paneth; células endócrinas). La eficacia de los procesos de absorción y secreción mejora al aumentar el área superficial de contacto entre las células epiteliales y la luz, ésto se lleva a cabo mediante: los plegamientos de revestimiento epitelial

(vellosidades), por invaginaciones del epitelio para formar estructuras tubulares, cuyas luces comunican con la luz principal, por la formación de glándulas complejas dentro y fuera de la pared del tracto. La superficie de los pliegues tiene las vellosidades que sobresalen en la luz intestinal. Existen glándulas tubulares o criptas que se extienden hacia abajo desde la base de las vellosidades hasta la muscular de la mucosa.

El epitelio está mantenido por la lámina propia compuesta de células de sostén y sus productos. Dentro de lámina propia existen vasos sanguíneos pequeños, linfáticos fibras nerviosas y células pertenecientes a los sistemas inmunes de defensa en particular macrófagos y linfocitos. La zona profunda de la lámina propia descansa sobre una capa delgada de músculo liso llamada muscular de la mucosa (no siempre presente) (Hidelbrand, 1987).

La submucosa está situada entre la mucosa y la capa muscular principal del tracto digestivo. Se compone de fibroblastos, colágeno y matriz acelular y contiene vasos sanguíneos, linfáticos y nervios que suministran o drenan a sus equivalentes menores en la lámina propia de la mucosa. Además, la submucosa contiene grupos de células ganglionares asociadas a la inervación autónoma del tracto y, en algunas áreas agragados linfoides y folículos que forman parte de tejido linfoide asociado al tracto digestivo (GALT) (Hidelbrand, 1987).

En el intestino delgado existen dos capas de músculo liso, una capa longitudinal externa y una circular interna. Entre las dos capas principales de músculo liso existen vasos linfáticos sanguíneos pequeños, junto con los nervios y las células ganglionares pertenecientes al sistema nervioso autónomo (SNA) (Hidelbrand, 1987).

La adventicia llamada también serosa, es la capa externa del tracto digestivo y rodea a la muscular externa. Se compone de colágeno y fibroblastos dispuestos en forma laxa, inmersos en una matriz que contiene una cantidad variable de adipocitos. Esta capa contiene nervios y vasos linfáticos y sanguíneos grandes. La adventicia está formada de epitelio aplanado llamado mesotelio (Hidelbrand, 1987).

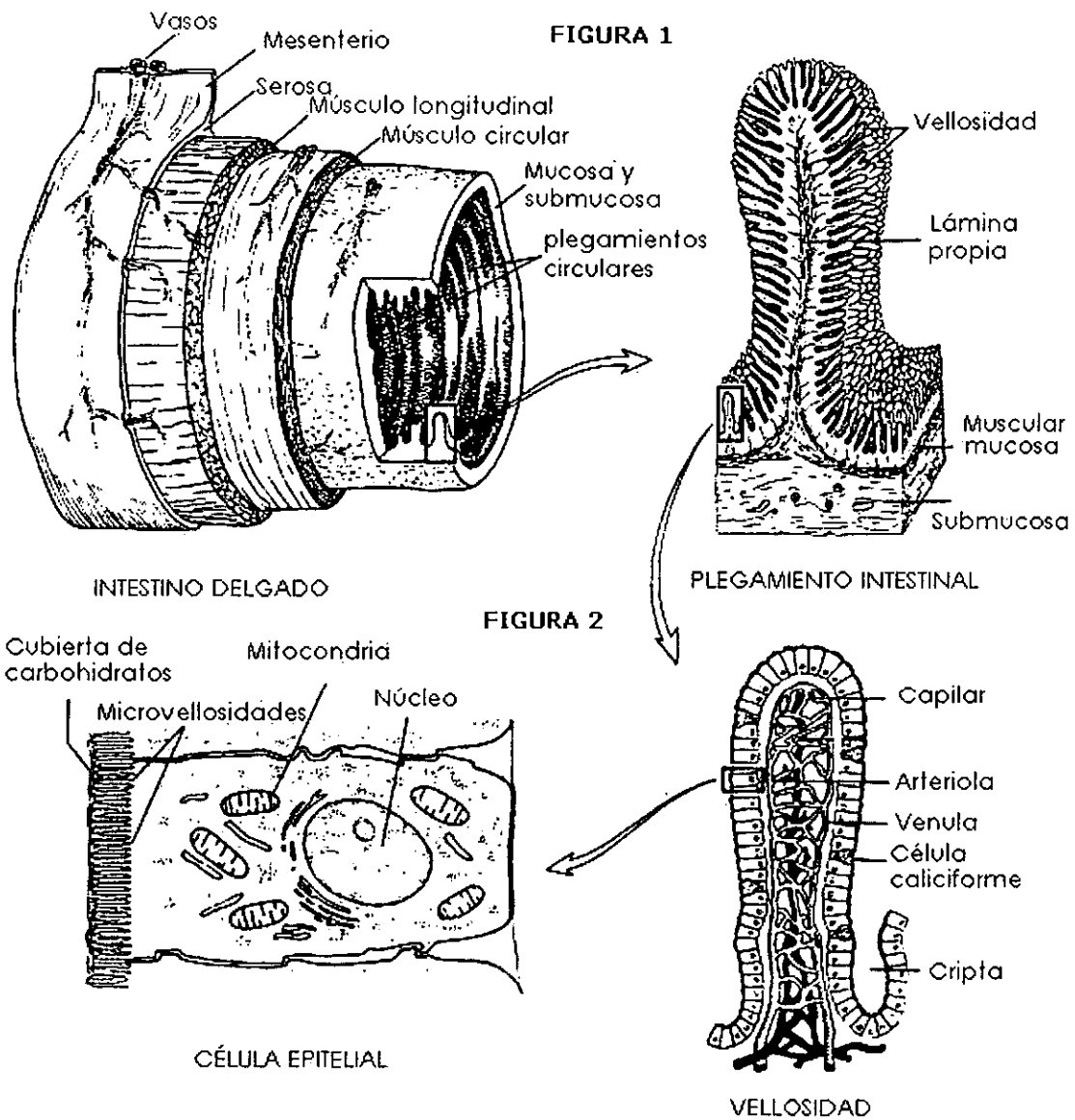


Figura 1 y 2. Esquema de la estructura del intestino delgado de vertebrados.
(Tomado de Hidelbrand, 1987).

Origen y distribución de los eosinófilos.

Los eosinófilos poseen un núcleo rodeado por una matriz menos electrodensa, su aspecto es bilobulado, aunque pueden tener más lóbulos. Los gránulos están compuestos por una proteína básica principal (MBP) y la matriz contiene otras tres proteínas granulobásicas: la proteína catiónica de los eosinófilos (ECP), la peroxidasa de eosinófilos (EPO) y la neurotoxina derivada de eosinófilos (EDN) (Egesten *et al.*, 1986; Sokol *et al.*, 1991). En los gránulos se encuentran también citocinas almacenadas (Moqbel *et al.*, 1994). Los eosinófilos también contienen lípidos, los cuales son la fuente principal de ácido araquidónico.

Los eosinófilos provienen de células pluripotenciales de la médula ósea y tienen un tiempo de vida en la circulación de 18 horas, mientras que en los tejidos pueden vivir durante días o incluso semanas; pueden llevar a cabo fagocitosis y poseen receptores de membrana para componentes del complemento e inmunoglobulinas de clase IgE (Capron *et al.*, 1986; Behm y Ovington, 2000). Cuando los eosinófilos se encuentran en sus niveles normales en sangre son funcionalmente indiferenciados y solo se activan cuando son estimulados, por ejemplo por células cebadas y son atraídos por factores quimiotácticos, parecidos al factor quimiotáctico de anafilaxis para eosinófilos (Butterwoth, 1984; Spry *et al.*, 1993). La MBP puede activar basófilos y células cebadas para liberar histamina (Kay *et al.*, 1985; Gleinch y Adolphson, 1986). Se ha observado la participación de los eosinófilos en reacciones de hipersensibilidad; también pueden liberar leucotrienos y metabolitos de oxígeno (Shaw *et al.*, 1985; Weiss *et al.*, 1986). Los eosinófilos son mejor conocidos por ser componentes de infiltrados celulares en tejidos parasitados.

Participación de los eosinófilos en la relación huésped-parásito en helmintiasis.

El incremento en el número de eosinófilos en la sangre o en los tejidos ha sido reconocido históricamente como característico de las infecciones por helmintos en mamíferos (Behm y Ovington, 2000). Por otro lado, se les considera responsables de diferentes patologías en los mamíferos debido a que inevitablemente se les encuentra en grandes números en las lesiones inflamatorias asociadas con infecciones por helmintos o procesos alérgicos. (Behm y Ovington, 2000). Asimismo, los eosinófilos se incrementan en procesos patológicos como alergias, asma, dermatitis y enfermedades malignas (Brown 1898; Ehrlich y Lazarous, 1900). Anteriormente se pensaba que los eosinófilos podían degradar mediadores de las células cebadas liberados durante un proceso de anafilaxia, sugiriendo que podrían participar también en estos procesos alérgicos (Goetzl *et al.*, 1975).

Los eosinófilos generan sustancias tóxicas que son almacenadas en sus gránulos, por ejemplo: metabolitos del ácido araquidónico, neuropéptidos y varias citocinas y quimocinas, diferentes proteasas, así como radicales de oxígeno y óxido nítrico (Behm y Ovington, 2000). Se estima que los factores alfa y beta transformadores del crecimiento (TGF- α y TGF- β), aumentan la posibilidad de que el eosinófilo juegue un papel importante en la recuperación, remodelación de tejido y el desarrollo de fibrosis postinflamatoria (Wong *et al.*, 1993). Los eosinófilos expresan moléculas clase II del complejo mayor de histocompatibilidad de humanos (HLA) receptores para IgG, IgE e IgA, componentes del complemento y moléculas de adhesión; además pueden presentar antígenos a células T *in vitro*, sugiriendo que pueden actuar como células accesorias importantes en ciertas reacciones mediadas por células T (Weller, 1993). La hipótesis de que la función primaria de los eosinófilos es defender al organismo contra organismos que son muy grandes para ser fagocitados

se basa en que (1) éstas células pueden degranular y matar helmintos *in vitro*; (2) los eosinófilos se agregan en la vecindad de los helmintos *in vivo*; (3) se ven grandes números de eosinófilos muy cercanamente tanto de parásitos intactos como de aquellos que se encuentran dañados *in vivo*; y finalmente, (4) éstas células degranulan en la vecindad o en la superficie de los helmintos *in vivo* (Butterworth, 1984). La acumulación de eosinófilos rodeando al tejido parasitado, incluyendo a larvas migratorias de nemátodos gastrointestinales, es uno de los ejemplos mejor conocidos. En ratas infectadas con *Nippostrongylus brasiliensis* o *Stongyloides ratti* se observó que los eosinófilos son muy numerosos y están en contacto cercano con los parásitos muertos (Taliaferro y Sarles 1939; Moqbel, 1980). Por su parte, Mackenzie (1980), sugirió que los eosinófilos son los responsables de la muerte de los gusanos. Esta posibilidad ha sido investigada *in vitro*, cultivando a los parásitos con eosinófilos, células cebadas, anticuerpos y complemento; bajo condiciones apropiadas de cultivo los eosinófilos rápidamente se adhieren a la superficie de los helmintos y vacían el contenido de sus gránulos sobre ellos (McLaren *et al.*, 1977).

Se han hecho varios estudios *in vitro* con helmintos susceptibles a los mediadores liberados por los eosinófilos como son: esquistosómulas de *Schistosoma mansoni*, microfilarias, algunas larvas de parásitos y larvas recién nacidas de *Trichininella spiralis* (Butterworth, 1984). Estos muestran que cuando los parásitos y sus diferentes estadios larvarios se ponen en contacto con los eosinófilos, se produce la muerte parasitaria por el efecto de los mecanismos oxidativos de estas células y de las proteínas de los gránulos de eosinófilos, como la proteína básica principal (MBP) y la proteína catiónica de eosinófilos (ECP) (Hamann *et al.*, 1987).

Investigaciones realizadas *in vivo* permiten evidenciar que las reacciones anteriores pueden tener algún efecto, ya que cuando se tratan ratas infectadas con *T. spiralis* con un suero antieosinofílico, se observa que el tamaño de la larva aumenta al doble en el músculo (Grove *et al.*, 1977). Sin embargo, como los eosinófilos no se

observan en contacto cercano con la larva de *T. spiralis* en el intestino, el antisuero eosinofílico tampoco inhibe la expulsión del parásito adulto en ratones infectados (Dunn y Wright, 1985).

En infecciones por *N. brasiliensis* existen evidencias de inmunidad en el tejido contra la fase larvaria migratoria (Love *et al.*, 1974; Lee y Ogilvie, 1981), pero no hay las suficientes pruebas que indiquen que los eosinófilos sean las células efectoras. En el adulto de *N. brasiliensis*, los eosinófilos se pueden unir al parásito *in vitro* y liberar el contenido de sus gránulos. Los adultos de esta especie pueden ser dañados por radicales libres (Lee, 1976). En cobayos infectados con *T. colubriformis* y ratas con *S. ratti* se observó una intensa eosinofilia intestinal, sin embargo, no es evidente el contacto directo entre eosinófilos y la superficie del parásito (Moqbel, 1980). Así mismo, se ha visto que tanto en cobayos infectados con *T. colubriformis* como en ratones infectados con *T. spiralis*, la respuesta rápida y pronunciada de los eosinófilos se desarrolla en huéspedes con una habilidad genética determinada para eliminar en forma temprana una primoinfección con éstos parásitos (Handlinger y Rothwell, 1981). Rothwell y colaboradores (1988) encontraron respuestas similares al estudiar la mucosa intestinal de cobayos antes de la infección y en respuesta a antígenos no parasitarios, por lo que concluyeron que la respuesta de los eosinófilos no es específica para los parásitos.

En trabajos realizados en ratones deficientes de IL-5 (citocina necesaria para la maduración de poblaciones de eosinófilos) o del receptor para esta citocina (α RIL-5), que fueron infectados con *Angiostrongylus cantonensis*, se presentó un mayor número de parásitos intracraneales, en comparación ratones normales, y en los infectados con *N. brasiliensis* también se observó un mayor número de parásitos intestinales con aumento en el número de huevos y larvas en pulmones e intestino (Yoshida *et al.*, 1996; Shin *et al.*, 1997). Los experimentos anteriores sugieren un efecto de los eosinófilos en la expulsión de los parásitos, liberando diferentes sustancias al medio en

donde se encuentran los parásitos, o atrayendo otras células para que en su conjunto pudiesen intervenir en la expulsión de los huéspedes.

Origen y distribución de las células caliciformes

Las células caliciformes tienen forma de copa alargada, su contenido de moco se tiñe con ácido peryódico de Schiff, al microscopio se observan de color fucsia o rojo púrpura. Las células caliciformes residen en el epitelio intestinal, son células exócrinas altamente polarizadas, se reconocen por la acumulación de gránulos de secreción. Sintetizan y secretan glucoproteínas de alto peso molecular llamadas mucinas, las cuales hidratan al intestino delgado y forman una cubierta en forma de gel o moco, generando una capa moco de protección que recubre la superficie del epitelio. En el moco existen componentes como agua, electrolitos, células epiteliales muertas e inmunoglobulinas secretoras (IgA). Todos estos componentes forman una barrera física y química que protege al epitelio de bacterias entéricas, toxinas del medio ambiente, alimentos, etc. (Ishikawa *et al.*, 1993.)

Las células caliciformes provienen de células precursoras multipotenciales que se dividen por mitosis en la base de la cripta o pueden formar células poco diferenciadas en la cripta inferior llamadas células oligomucosas (Boland y Alen, 1985). Estudios hechos por Merzel y Leblond (1969) en cuanto al análisis, cinética y dinámica de las células caliciformes en el intestino delgado de ratón, muestran que una vez propagadas éstas células desde la base de la cripta migran hacia el ápice de la vellosidad, donde son desechadas hacia el lumen del intestino.

La vida media de las células caliciformes es corta y son reemplazadas constantemente; ensayos llevados a cabo en ratones muestran que la vida de estas células desde que se originan hasta que mueren es de 2 - 3 días. Aunque las células caliciformes están distribuidas a lo largo del intestino de los mamíferos, su contribución en volumen en la totalidad del epitelio no es constante, la densidad de células caliciformes en las criptas es mayor y aumenta constantemente del duodeno hacia la

parte distal del íleon; ésta misma tendencia continúa en el intestino grueso (Kemper y Specian, 1992).

Funciones de las Células Caliciformes

Estudios morfométricos en colon de ratón han evidenciado que las células caliciformes sufren cambios morfológicos durante su vida. Una vez que son liberadas por las células precursoras en la base de la cripta, las células caliciformes comienzan a sintetizar y a secretar los gránulos de mucina. Las células caliciformes inmaduras en la base de la cripta son alargadas y de forma piramidal con un contacto extenso con la lámina basal y con poco contacto con el lumen de la cripta. Los organelos celulares se encuentran en la parte apical de la célula. Conforme la célula migra hacia la superficie del colon, disminuye su volúmen debido a que secreta mucina de los gránulos. La morfología de la célula cambia durante la secreción de los gránulos; el contacto con la lámina basal disminuye mientras que con el lumen aumenta. Hacia la parte apical de la cripta el volumen celular se reduce en un 60% y la célula adquiere una forma característica de copa, en la porción anterior están contenidos los gránulos de mucina y en la porción basal, que es angosta y en forma de tallo, se encuentra el núcleo y algunos organelos que llevan al cabo la síntesis de proteínas (Radwan *et al.*, 1990).

La migración de las células caliciformes hacia la punta de la vellosidad o hacia la superficie colónica no solo produce cambios físicos, también produce cambios químicos en la composición de las mucinas. Estudios histoquímicos muestran que las células caliciformes inmaduras en las criptas del intestino delgado producen mucinas neutras que contienen poco ácido siálico. Conforme las células maduran y migran hacia la punta de la vellosidad, las mucinas van incrementando el contenido de ácido siálico, éstos residuos no solo aumentan la acidez de la molécula, también sirven como sitios para llevar a cabo modificaciones por acilación N- y O-. Por lo tanto en las criptas del colon las células caliciformes poseen un contenido rico en sulfomucinas y en la superficie epitelial colónica están formadas por mucinas neutras (Boland *et al.*, 1982).

Las células caliciformes secretan la mucina de manera continua o en forma acelerada. La secreción continua de mucina es lenta y está acompañada de una exocitosis periódica del contenido del gránulo de mucina (Neutra *et al.*, 1977). Aunque la actina es uno de los componentes minoritarios en la células caliciformes, se ha pensado que ésta puede jugar un papel importante en la secreción basal de la mucina. En improntas de mucosa incubadas con citocalasina D y dihidrocalasina B se ha visto que se elimina la capa de filamentos de actina F en la parte apical y a su vez se incrementa la tasa de traslocación de gránulos; los gránulos se vacían en la superficie apical de la célula en dos horas, mientras que en los tejidos de los testigos sucede entre 4-6 horas. Esto probablemente se debe a que el desensamble de los filamentos de actina facilita el contacto de los gránulos con la membrana plasmática, permitiendo que se incremente la secreción basal (Oliver y Specian.,1990).

La secreción acelerada de mucina se debe a la estimulación de la mucosa intestinal por movimientos colinérgicos, anafilaxis intestinal e irritantes químicos y físicos, independientemente del estímulo en cuestión, el mecanismo de secreción es el mismo. A diferencia de la secreción basal donde la continuidad del evento de secreción depende del transporte del siguiente gránulo, la secreción acelerada continúa por una fusión con las membranas granulares. La secreción acelerada es independiente de la motilidad intracelular y ésta no es inhibida por drogas que deterioran la función de microtúbulos o filamentos de actina. Cuando ocurre una actividad acelerada, se forma una cavidad en las células caliciformes (Oliver y Specian.,1990).

Las mucinas son glucoproteínas de alto peso molecular, aproximadamente de 2×10^6 (Forstener *et al.*, 1973). Estas glucoproteínas consisten en cadenas lineales o ramificadas de oligosacáridos unidos a la proteína principal. Tanto en el intestino delgado de seres humanos como en el de ratas, la mayor parte de la molécula está compuesta por carbohidratos lineales y ramificados (Fahim *et al.*, 1983; Wesley *et al.*, 1985). Los carbohidratos comprenden el 80 - 85 % del peso de la molécula. Las

mucinas del colon están menos glicosiladas en comparación con las mucinas del intestino delgado (Oliver *et al.*, 1989).

La proteína principal de las mucinas intestinales tiene una composición muy particular de aminoácidos, ocupando la serina y treonina el 25 % del total de los residuos de aminoácidos en las mucinas del colon de rata (Lamont *et al.*, 1980); mientras que en el intestino delgado de los humanos estos aminoácidos ascienden a un 41% de la mucina (Fahim *et al.*, 1983). Este gran porcentaje produce una estructura primaria diferente y sitios adicionales potenciales de glicosilación, ya que ambos aminoácidos, serina y treonina, poseen en la cadena lateral un grupo hidroxilo que participa en la unión de las cadenas oligosacáridicas hacia la proteína mediante los puentes O-glicosídicos (Kvist *et al.*, 1987; Strous, 1979). La prolina constituye más del 15% del total de los residuos de aminoácidos; debido a que es un aminoácido heterocíclico se ha pensado que la prolina inhibe la formación de α -hélice y previene la compactación por doblamiento de la cadena polipeptídica, de esta manera mantiene una conformación expandida que facilita la glicosilación (Allen, 1978).

La proteína principal contiene también, ácido aspártico y ácido glutámico, que en combinación forman aproximadamente el 20% del total de la proteína en las mucinas del intestino grueso de humanos y ratas (Kvist *et al.*, 1987).

Las cadenas oligosacáridas están formadas por los azúcares: fucosa (Fuc), galactosa (Gal), N-acetilglucosamina (GluNac), N-acetilgalactosamina (GalNac) y ácido siálico (AS); no contienen glucosa ni manosa (Allen, 1978). Estos azúcares se arreglan en forma lineal o en ramificaciones de 2 a 12 residuos de azúcar, que se unen por puentes O-glucosídicos, entre serina y treonina en la proteína con N-acetilgalactosamina. La región del núcleo de las cadenas oligosacáridicas poseen arreglos lineales de Gal-GluNac-GalNac y sobre el núcleo se construyen estructuras más complejas (Podolsky, 1985); estas consisten en una región en la estructura que va alternando residuos Gal y GluNac y una región periférica de Gal, GalNac, y como

azúcar terminal Fuc y AS (Nimmerfall y Rosenthaler, 1980). El aislamiento y caracterización de los oligosacáridos de las mucinas del colon humano ha revelado la presencia de 21 estructuras oligosacaridas discretas, diez son ácidas y once son neutras, mientras que en colon de rata son menos extensas, con solo ocho formas distintas (Smithson *et al.*, 1981), cuatro de las que, aunque son especie específicas, son compartidas por la mucina de colon humano y de rata.

Por medio de análisis histoquímicos con lectinas se ha demostrado que existen variaciones estructurales en las mucinas; en la base de la cripta contienen mas N-acetilglucosamina y menos fucosa en comparación con las mucinas de las células maduras que se encuentran en la parte superior de la cripta. Aunado a esto, en estas mucinas no disminuyen los residuos terminales galactosilados, los cuales no se encuentran presentes en las mucinas producidas por células caliciformes maduras. Estos datos sugieren que los patrones de glicosilación alterada acompañan los cambios de maduración, y de producción de distintas proteínas constitutivas (Boland *et al.*, 1982, Boland y Ahnen, 1985; Filipe, 1979).

Fisiología de las mucinas

Las mucinas confieren una capa de moco al epitelio, que le da protección, lubricación y mantiene la flora intestinal normal; su carga negativa genera interacciones iónicas entre estos residuos formando una red que cubre al epitelio y que reduce la resistencia a la fricción producida por el paso de partículas y organismos a lo largo de la superficie del moco en todo el intestino (Winet, 1976), además de proteger la mucosa del sobrecrecimiento de la flora normal bacteriana y de la penetración de bacterias oportunistas o patógenas (Nimmerfall y Rosenthaler, 1980).

Las mucinas pueden atrapar a los agentes patógenos de tres formas distintas: cuando el moco actúa como una barrera impermeable que recubre el epitelio y no permite que se adhieran los microorganismos; por competencia ya que los carbohidratos unidos a la molécula de mucina son análogos a ciertas glicoproteínas y

receptores glicolípidos presentes en la membrana de los enterocitos, los cuales pueden competir por la unión con algunas proteínas de los microorganismos, como es el caso de la interacción de la mucina con el pili tipo1 expresado por *Escherichia coli* (Sajjan y Forstner, 1990b). La tercera forma se lleva a cabo por interacciones entre la inmunoglobulina secretora (IgA), la cual se une a los microorganismos impidiendo su transporte hacia las zonas inductoras de la respuesta inmune de la mucosa intestinal (Manguson y Stjernstrom, 1982; Sanderson y Walker *et al.*, 1994).

Las mucinas también protegen al epitelio de la digestión, actúan como sustrato de enzimas degradantes producidas por la flora intestinal como la α -galactosidasa, β -glucuronidasa, enzimas degradantes de grupos sanguíneos y diversas proteasas (Variyam y Hooskins, 1981). Estas características de las mucinas modulan el crecimiento de bacterias intestinales *in vitro* y podrían servir *in vivo* para la regulación de la microecología del lumen intestinal (Macfarlane *et al.*, 1989).

Las células caliciformes, además de poseer mucinas, también tienen otros productos con potencial importancia fisiológica. Por ejemplo la ingobsina es una proteasa de serina capaz de pegarse al factor de crecimiento epidermal, ha sido localizada en las células caliciformes de intestino humano y de rata (Nexo *et al.*, 1987). La presencia de células sensibles a la enzima disminuye del duodeno al colon y aparentemente las células con una madurez mayor (como las que se encuentran en la cripta superior y en la superficie de la vellosidad), contienen poca ingobsina o no la tienen (Nimmerfall y Rosenthaler, 1980). La secreción de ingobsina se estimula por acetilcolina (Kvist, 1987).

Participación de las células caliciformes en la relación huésped-parásito en helmintiasis.

Se ha demostrado que las células caliciformes juegan un papel preponderante en la respuesta inmune contra diferentes agentes infecciosos; el desarrollo de hiperplasia de las células caliciformes en animales experimentales infectados con

nemátodos ha sido estudiado ampliamente. En ratas infectadas con *N. brasiliensis* hay una relación temporal entre la respuesta hiperplásica y la expulsión durante la primera infección (Nawa y Miller, 1978). También se observan cambios cualitativos en las mucinas de las células caliciformes, las cuales pueden ser sulfatadas (Koninkx *et al.*, 1988). La expulsión de los parásitos disminuye cuando se administra una dieta baja en proteínas o cuando al hospedero se le trata con reserpina o corticosteroides (Miller y Nawa, 1979). Se ha demostrado que el moco liberado por estas células tiene un papel protector, inhibiendo el establecimiento de los parásitos o envolviéndolos y atrapándolos cuando entran a la mucosa intestinal, tal como ocurre con *N. brasiliensis* y otros nemátodos (Miller, 1987). Es posible que los anticuerpos y el complemento que están presentes en el moco, retengan las larvas en la capa superficial para que se establezca una interacción total del moco con la cutícula del nemátodo (Miller, 1984). La proliferación de células caliciformes en muchas infecciones por nemátodos se acompaña por hiperplasia de las células cebadas, cuyos mediadores pueden ser un factor estimulador de la secreción del moco (Lake *et al.*, 1980). Sin embargo la hiperplasia de éstos dos tipos de células y la expulsión de nemátodos no siempre está asociada, ya que en ratas W/W^v deficientes en células cebadas presentan hiperplasia de células caliciformes y permanece intacta la habilidad de expulsar a *N. brasiliensis* (Uber *et al.*, 1980).

La participación del moco de las células caliciformes puede ser especialmente significativa en la expulsión rápida de los parásitos, un ejemplo bien caracterizado de este tipo de reacciones es cuando las larvas están en vías de establecerse en sus nichos y el moco las atrapa impidiendo su establecimiento. Douch y colaboradores (1983) en estudios realizados *in vitro* demostraron que la sustancia de reacción lenta de anafilaxia en el moco de borregos inmunes a *T. colubriformis* tiene una actividad inhibitoria contra la migración de la larva, por lo que sugieren que se podría observar una actividad similar *in vivo*, disminuyendo la migración de la larva hacia su nicho.

Estas observaciones se comparan con la rápida expulsión de *T. spiralis* en ratones y ratas. En ratones se produce hiperplasia de células cebadas y células caliciformes y ocurre la expulsión del parásito; la duración de esta respuesta es transitoria, mientras que en ratas la hiperplasia celular y la reactividad perduran más tiempo (Alizadeh y Wakelin, 1982). Aunque la expulsión es rápida, además aumenta la cantidad de moco intestinal y muchas larvas son atrapadas sobre la superficie intestinal (McCoy, 1940; Lee y Ogilvie 1981).

En diferentes infecciones por nemátodos es evidente la hiperplasia de las células caliciformes, que se debe al incremento en la secreción de moco y a cambios cualitativos de éste que contribuyen a la eliminación de los parásitos en el tubo alimenticio. Manjili y colaboradores (1998) al infectar cobayos con *Trichostrongylus colubriformis* observaron que había animales que respondían rápidamente y otros no, al analizar las células caliciformes comprobaron que los animales con mejor respuesta desarrollaron hiperplasia de las células caliciformes y se incrementó la proporción de sulfomucinas en estas células.

Fujino y colaboradores (1996) determinaron que la hiperplasia de las células caliciformes en ratones C3H infectados con *Echinostoma caprionii* y *E. trivolvis* estaba acompañada de una secreción acelerada de mucinas y que estas células fueron las responsables de expulsar a los tremátodos; al reinfectar con metacercarias y parásitos juveniles en los días 10, 16, y 20 después de la primera infección observaron que los parásitos no se establecieron y fueron expulsados debido a la secreción de mucinas y a la hiperplasia de las células caliciformes desarrollada durante la primera infección.

JUSTIFICACION

Los estudios realizados en ratas y ratones infectados con nemátodos y tremátodos indican que las células caliciformes intestinales y los eosinófilos participan en la inducción del proceso de expulsión de parásitos como *Nippostrongylus brasiliensis*. Las células caliciformes y los eosinófilos tienen la capacidad de producir sustancias proinflamatorias y secretar interleucinas y quimocinas que amplifican la respuesta local. También existen evidencias que apoyan la participación de células caliciformes y eosinófilos en la respuesta innata contra bacterias, como *Escherichia coli* y contra los tremátodos *Echinostoma trivolvis* y *E. caproni*.

Hasta el momento, no se tienen identificados los mecanismos de evasión de la respuesta inmune intestinal que se generan contra *T. solium* cuando su forma adulta se encuentra adherida al intestino delgado de hámsteres y jerbos infectados, y no se han identificado las células que intervienen en la relación huésped-parásito. Por los conocimientos generados en otras parasitosis es posible que las células caliciformes y los eosinófilos participen en el proceso de expulsión del parásito adulto de *T. solium*, en jerbos y en hámsters.

HIPOTESIS

En modelos experimentales del hámster dorado y el jerbo mongol infectados con el adulto de *T. solium* aumenta el número de eosinófilos y células caliciformes, así como los carbohidratos exhibidos por las mucinas de células caliciformes a nivel de la mucosa intestinal proximal al sitio de implantación, eventos que participan en la expulsión del parásito.

JUSTIFICACION

Los estudios realizados en ratas y ratones infectados con nemátodos y tremátodos indican que las células caliciformes intestinales y los eosinófilos participan en la inducción del proceso de expulsión de parásitos como *Nippostrongylus brasiliensis*. Las células caliciformes y los eosinófilos tienen la capacidad de producir sustancias proinflamatorias y secretar interleucinas y quimocinas que amplifican la respuesta local. También existen evidencias que apoyan la participación de células caliciformes y eosinófilos en la respuesta innata contra bacterias, como *Escherichia coli* y contra los tremátodos *Echinostoma trivolvis* y *E. caproni*.

Hasta el momento, no se tienen identificados los mecanismos de evasión de la respuesta inmune intestinal que se generan contra *T. solium* cuando su forma adulta se encuentra adherida al intestino delgado de hámsteres y jerbos infectados, y no se han identificado las células que intervienen en la relación huésped-parásito. Por los conocimientos generados en otras parasitosis es posible que las células caliciformes y los eosinófilos participen en el proceso de expulsión del parásito adulto de *T. solium*, en jerbos y en hámsters.

HIPOTESIS

En modelos experimentales del hámster dorado y el jerbo mongol infectados con el adulto de *T. solium* aumenta el número de eosinófilos y células caliciformes, así como los carbohidratos exhibidos por las mucinas de células caliciformes a nivel de la mucosa intestinal proximal al sitio de implantación, eventos que participan en la expulsión del parásito.

OBJETIVO GENERAL

Estudiar la respuesta celular en la mucosa intestinal de hámsteres y jerbos en la infección experimental por adultos de *Taenia solium*. La cuantificación de células caliciformes y eosinófilos. Identificar la presencia de N-acetilgalactosamina en las mucinas secretadas por las células caliciformes y su posible interacción con el parásito.

Objetivos Particulares

1. Reproducir el modelo de teniosis experimental por *T.solium* en hámsteres y jerbos.
2. Realizar la cinética de detección de antígenos de *T. solium* en heces por medio del ELISA para coproantígenos de *Taenia sp* en ambos roedores durante el tiempo que de la infección.
3. Identificar y cuantificar células caliciformes y eosinófilos en el intestino delgado de ambos roedores, infectados y no infectados, en diferentes tiempos post infección, utilizando tinciones con hematoxilina y eosina, además de ácido peryódico de Schiff.
4. Identificar N-acetilgalactosamina en la mucosa intestinal de hámsters y jerbos infectados con *T. solium*.
5. Analizar las diferencias entre los dos modelos de teniosis experimental durante la infección por el adulto de *T. solium*.

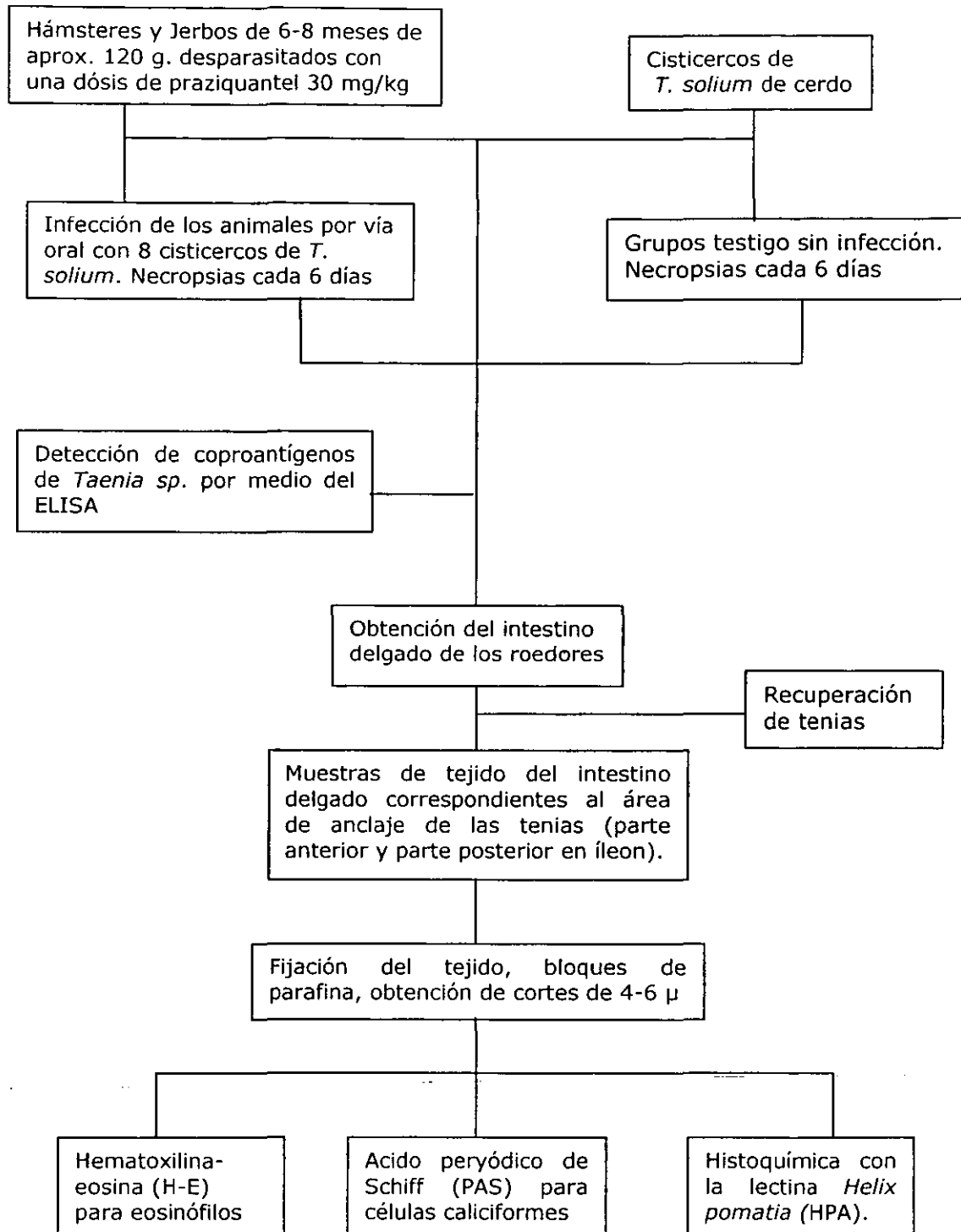


Figura 3. Diseño experimental

MATERIAL Y METODOLOGIA

En la figura 3 se muestra el diseño experimental que se llevó al cabo en éste trabajo.

Animales experimentales

Se emplearon hámsteres dorados (*Mesocricetus auratus*) y jerbos mongoles (*Meriones unguiculatus*) machos y hembras de 8 a 12 meses de edad, de aproximadamente 95 a 120 g de peso corporal que fueron donados por los bioterios del INDRE (SSa) y del CINVESTAV (IPN). Se desparasitaron por vía oral con una dosis única de praziquantel (Merck, México) de 30 mg/kg de peso. Los animales se mantuvieron en cajas de acrílico con tapas de alambre, con un colchón de aserrín. La dieta consistió en alimento comercial balanceado para roedores (Laboratory autoclavable rodent diet 5010 Harlan) y agua estéril *ad-libitum*. La limpieza de las jaulas se realizó dos veces por semana. Los hámsteres y jerbos permanecieron en el bioterio del INDRE, con ciclos de luz controlada (12 h de luz y 12 h de oscuridad) y con una temperatura promedio de 20°C.

Cisticercos

Los cisticercos de *T. solium* fueron extraídos del músculo esquelético de cerdos infectados en forma natural. La disección de los cisticercos se realizó en el laboratorio, se eliminaron las vesículas y el fluido, dejando intactos los escólices y el cuello; se depositaron en un vaso de precipitados con solución salina fisiológica (4°C). El 10% de los cisticercos obtenidos se utilizó para evaluar la viabilidad y el resto se usó para infectar a los animales.

Viabilidad de los cisticercos

Para verificar la viabilidad de los metacéstodos se utilizó la prueba de evaginación *in vitro*. Los cisticercos se colocaron en medio de cultivo de RPMI 1640 (Gibco) adicionado con bilis de cerdo al 25%, por cada cisticerco se agregaron 4 ml

de la mezcla y se dejaron en incubación a 37°C durante 12 h, posteriormente a las 2h se contó el número de cisticercos que evaginaron y tenían movimiento (Cañedo, et al., 1982; Correa, et al., 1989). La evaginación de los cisticercos fue del 95% y 98%.

Grupos experimentales e infección de los animales.

Se realizaron cuatro infecciones de animales, para cada infección se contó con un grupo de hámsteres y otro de jerbos, los grupos estuvieron formados por 42 animales, 28 de los cuales se infectaron y los roedores restantes formaron el grupo testigo (no infectados). Los animales se infectaron por vía oral con 8 cisticercos de *T. solium* en el día que se extrajeron los metacéstodos (día 0). Las necropsias se realizaron cada seis días post infección (dpi), se sacrificaron cuatro roedores de los grupos infectados y dos del grupo testigo, tanto en hámsteres como en jerbos.

Detección de antígenos del parásito mediante el ELISA para coproantígenos de *Taenia sp.*

Cada seis días se colectaron aproximadamente 0.5 g de heces, las cuales se almacenaron en tubos de plástico tipo eppendorf en congelación (-20°C) hasta el momento de su uso. A las muestras descongeladas se les adicionó solución salina amortiguada de fosfatos 0.01M pH 7.2 (SSAF) en una proporción 1:1 la cual contenía tween 20 al 0.3% (SSAF-t). Las heces se homogenizaron y se centrifugaron a 10,000 rpm 5 min, se utilizó el sobrenadante y el precipitado se almacenó a -20°C. La detección de los antígenos de *T. solium* en los hámsteres y en los jerbos se realizó por ELISA para coproantígenos de *Taenia sp.* (Allan et al, 1990):

1. Se utilizaron placas de microtitulación de 96 pozos de fondo plano (Nunc Maxisorp, F60). A cada pozo se le agregaron 100 µl de una dilución 1:1000 de IgG de conejo anti-*T. solium* en amortiguador de carbonatos (0.05M), pH 9.6, se dejaron en incubación a 4°C, 12 h.
2. Se decantó el contenido de los pozos y las placas se lavaron con SSAF-t (tres lavados de cinco minutos cada uno).

3. Los pozos se bloquearon con 100 µl de SSAF-t a temperatura ambiente durante una hora.
4. Se repitió el paso No. 2.
5. Se agregaron por duplicado 100 µl del sobrenadante de heces de cada animal y se incubaron las placas a temperatura ambiente durante una hora.
6. Se repitió el paso No. 2.
7. Se adicionó el segundo anticuerpo IgG de conejo anti-*T. solium*, conjugado a peroxidasa; se diluyó 1:1000 en SSAF-t y se agregaron 100 µl a cada pozo. La placa se incubó a temperatura ambiente durante una hora.
8. Se repitió el paso No. 2.
9. Se agregaron 100 µl del sustrato ácido 5'amino-salisílico adicionado con peróxido de hidrógeno (H₂O₂) al 0.75%. Posteriormente, la placa se incubó a temperatura ambiente durante 25 minutos, en la oscuridad.
10. La intensidad de color desarrollado por cada muestra se midió en un espectrofotómetro (BioRad, modelo 2550) a 450 nm de longitud de onda.
11. El criterio de positividad de una muestra individual se determinó cuando su valor en absorbancia fue igual o mayor al punto de corte del ensayo. El punto de corte fue establecido al sumar la media más tres veces la desviación estándar de los valores obtenidos en las muestras fecales de hámsteres y jerbos libres de parásitos gastrointestinales, antes de la infección.

Recuperación del sitio de anclaje de tenias del intestino delgado de animales experimentales.

Se realizó la necropsia de cuatro animales infectados y dos testigos tanto de hámsteres como de jerbos, cada 6 días posteriores a la infección y hasta los 42 que duraron los experimentos. Los roedores se sacrificaron con una dosis de 3 mg/kg de pentobarbital sódico por vía intraperitoneal. Se extrajo el intestino delgado, el cual se colocó en una caja de Petri con solución salina fisiológica de NaCl 0.85% (SSF); el

intestino se abrió longitudinalmente y con un microscopio de luz se verificó la zona donde estaban adheridas las tenias o donde se encontraba un hueco (zona sin epitelio), del tamaño del escólex y entre las vellosidades, también se midió la distancia a la cual estaban implantadas a partir del píloro. Se verificó que los roedores no estuvieran infectados con otros parásitos macroscópicos. Se tomaron dos muestras de tejido de un centímetro de longitud, la primera muestra correspondió a la parte donde estuvieron ancladas la mayoría de las tenias, a esta se le denominó parte anterior o de anclaje, (PA) en el duodeno-yeyuno del intestino delgado. A la segunda muestra de tejido se denominó parte posterior (PP) y se obtuvo del íleon, a una distancia de cinco centímetros antes del ciego. Para la identificación de las tenias, se verificaron las siguientes características morfológicas: escólex provisto de cuatro ventosas, rostelo armado con doble corona de ganchos (número y longitud), y la presencia del poro genital alternado en proglótidos sucesivos.

Procesamiento de las muestras de tejido para cortes histológicos.

Una vez extraídas las muestras de tejido, se fijaron en formol al 10% amortiguado o en solución de Carnoy. Posteriormente, los especímenes se lavaron y deshidrataron para ser embebidos en parafina durante 12 h. Se hicieron seis cortes de 4 - 6 μ que se tiñeron con hematoxilina-eosina, ácido peryódico de Schiff y se realizó la histoquímica con la lectina de *Hélix pomatia*. Cada laminilla correspondió a la PA y PP de cada intestino delgado de ambos roedores.

Procedimiento de la tinción de hematoxilina - eosina

Los cortes histológicos en las laminillas fueron depositados en las siguientes soluciones estandares según el manual del (AFIP) , ver secuencia de tinción (fig 4):

1. Las laminillas se desparafinaron en Xilol (2 cambios), posteriormente se hidrataron en alcoholes etílicos graduales hasta llegar a agua.
2. Los especímenes se tiñeron en la solución de hematoxilina de Mayer por 7 min.

3. Las laminillas se lavaron con agua corriente 1 min.
4. Se sumergieron en alcohol ácido 3 veces 3 seg.
5. Las laminillas se lavaron con agua corriente 1 min.
6. Los tejidos se contrastaron con la solución de eosina 1 min.
7. Los tejidos se deshidrataron en alcohol etílico al 95%, alcohol etílico absoluto, alcohol etílico absoluto-xilol y xilol absoluto 2 cambios de 1 min.
8. Los tejidos se cubrieron con resina sintética (Entelan; Merck).
9. Todas las muestras se observaron al microscopio de luz, en objetivos: 20x, 40X.

Los núcleos de las células se ven de color azul, el citoplasma es de color rosa rojo. Una vez teñidos los cortes, se cuantificó el número de eosinófilos desde la capa muscular hasta la lámina propia de la vellosidad, en diez vellosidades por intestino delgado de hámster y de jerbo en la PA y PP. En los animales infectados y en los testigos.

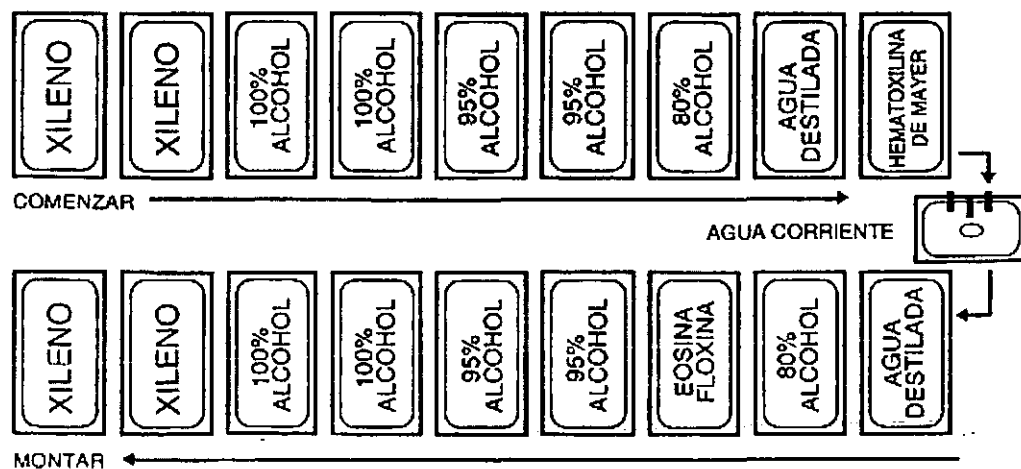


Figura 4. Secuencia de tinción.

Procedimiento de tinción de ácido peryódico de Schiff.

La técnica de ácido peryódico de Schiff se utilizó para revelar carbohidratos presentes en las células del intestino delgado.

Los cortes en las laminillas fueron procesados de la siguiente manera según el (AFIP):

1. Los tejidos se desparafinaron en dos cambios de xilol, 10 min en cada uno.
2. Se colocaron en alcoholes graduales: alcohol etílico al 95 %, alcohol etílico absoluto, alcohol etílico absoluto-xilol y xilol 2 cambios de 1 min.
3. Las laminillas se oxidaron en la solución de ácido peryódico al 0.5 %, 10 min.
4. Se enjaugaron en agua corriente 1 min.
3. Se colocaron en el reactivo de Schiff de Coleman a 4°C, 10 min.
4. Se lavaron con agua corriente 2 min.
5. Se contrastaron con la solución de hematoxilina de Mayer o con hematoxilina de Harris, 1 min.
6. Se lavaron con agua corriente, 1-2 min.
7. Los cortes se deshidrataron en soluciones crecientes de alcohol etílico; alcohol etílico al 95 %, alcohol etílico absoluto, alcohol etílico absoluto-xilol y xilol (2 cambios), 1 min cada cambio.
8. Se montaron con una resina sintética (Entelan, Merck).
10. Las laminillas se observaron microscopio de luz, en objetivos: 3X, 10X, 20x.

El glucógeno, mucina, núcleos y algunas membranas se tiñen color fucsia o rojo púrpura.

Una vez teñidos los cortes, se cuantificó el número de células caliciformes desde la base (criptas) y hasta el ápice de la vellosidad, en un corte en diez vellosidades por intestino delgado de hámster y de jerbo en la PA y PP. En los animales infectados y en los testigos.

Las técnicas histológicas para la tinción de eosinófilos y células caliciformes fueron realizadas con base en manual de Métodos histológicos del Instituto de patología de las

fuerzas armadas de los Estados Unidos de América (AFIP, 1995).

Histoquímica con la lectina *Hélix pomatia* (HPA).

Se utilizó la lectina de *Hélix pomatia* biotinilada (HPAb, Sigma), que reconoce específicamente los residuos terminales de N-acetil D galactosamina (GalNAc) de las mucinas secretadas por las células caliciformes.

1. Los tejidos fueron desparafinados en xilol 2 cambios de xilol (30 pases an cada cambio).
2. Las laminillas se hidrataron con alcoholes a diferentes concentraciones: alcohol etílico absoluto-xilol, alcohol etílico absoluto, alcohol etílico al 96 %, alcohol etílico al 70%.
3. Se lavaron las preparaciones con SSAF durante 5 min.
4. Se incubaron las laminillas con SSAF adicionado con calcio (Ca) al 2% y albúmina bovina libre de IgG al 5% (30 min).
5. Se lavaron con SSAF adicionada con TritónX-20 (Sigma) durante 10 min .
6. Se bloqueó la actividad de peroxidasa endógena con SSAF-H₂O₂ al 30 % a una concentración del 0.3% durante 15 min.
7. Se lavó con SSAF-Ca al 2% durante 5 min.
8. La lectina HPAb se diluyó 1:50 en SSAF-Ca, se adicionaron 150 µl por laminilla y se colocó en cámara húmeda a 37⁰C durante 2 h.
9. Se lavó igual que en 7.
10. Se incubó con un conjugado de extravidina-peroxidasa (extravidina-PE) diluída 1:60, se adicionaron 150 µl por cada laminilla y se colocaron en cámara húmeda a 37⁰C durante 2 h.
11. Se lavó igual que en 7.
12. Los cortes se incubaron con diaminobenzidina tetraclorada (DAB) para evidenciar la reacción, se adicionaron 6 mg por cada 10 ml de SSAF, adicionada con H₂O₂ al 30 % (50 µl por cada 7.5 ml). Se mantuvo en agitación durante 3 min. La reacción se detuvo

con agua corriente, en un vaso de copling.

13. Para diferenciar de los núcleos celulares teñidos con HPA, se colocaron las preparaciones en hematoxilina de Harris durante 2 a 4 min.

14. Se lavaron con agua de la llave durante 1min.

15. Se colocaron en alcohol ácido (alcohol etílico al 70% y HCl (0.05%), 15 seg.

16. Se lavaron con agua corriente, 1min.

17. Se eliminó el exceso de colorante con agua amoniacal (500ml de H₂O + dos gotas de Hidróxido de amonio al 100%), 1 inmersión.

18. Se lavaron con agua de la llave 1 min.

19. Se deshidrataron con etanol etílico al 70%, 95%, 100% y xilol (10 veces en cada etanol).

20. Se limpiaron y montaron con resina sintética (Entelan, Merck) y se observaron en microscópio de luz.

RESULTADOS

Eficiencia de la infección en jerbos y hámsteres.

La recuperación de las tenias se realizó desde los seis días post infección (dpi) y hasta los 42 dpi en ambos roedores. Durante los primeros 18 días de infección se obtuvieron mayores cargas parasitarias en los dos modelos experimentales, siendo mayor en hámsteres. A los 30 dpi tres hámsteres estaban parasitados con una tenia mientras que en los jerbos sólo un animal estaba parasitado con una tenia, después de ésta fecha ya no se obtuvieron tenias en los roedores (cuadro 1; fig. 5).

En cuanto al sitio de implantación de las tenias, la mayoría se encontraron en el primer tercio del intestino delgado. En los jerbos se observó que casi todas estaban ancladas a una longitud de 1.5 a 11 cm del píloro en el intestino delgado, la mayoría de los parásitos estuvieron adheridos a los 8.5 cm. En los hámsteres las tenias se observaron desde los 8 hasta los 16 cm, el mayor porcentaje de parásitos estuvieron anclados a los 12 cm.

El tamaño de las tenias en jerbos fue de 0.3 a 1 cm de longitud, mientras que para los hámsteres fue de 0.3 hasta 20 cm, obteniéndose la mayor longitud de los parásitos a los 18 dpi. El grado de desarrollo de las tenias recuperadas de jerbos fue de escólex y cuello, sin embargo en los hámsteres se obtuvieron ejemplares con órganos reproductores desarrollados. La eficiencia de la infección para jerbos fue de 20.5% y para hámsteres fue de 34.3%.

Tabla 1. Infección en jerbos y hámsteres

Días post Infección (dpi)	Número de tenias encontradas en el Intestino delgado (cm)	Porcentaje de recuperación de parásitos (%)	Tamaño de las tenias (cm) X (rango)
Jerbos			
6	19	50	0.44 (0.3 - 1)
12	11	37.5	0.42 (0.3 - 0.8)
18	14	50	0.41 (0.3 - 0.8)
24	3	6.5	0.22 (0.3 - 1)
30	0	6.5	0
36	0	0	0
42	0	0	0
Hámster			
6	18	56.25	0.43 (0.3 - 5)
12	26	78.12	1.8 (1 - 5)
18	27	84.13	11.2 (1 - 19)
24	24	12.5	10.8 (0.3 - 21)
30	3	9.5	13.3 (3 - 20)
36	0	0	0
42	0	0	0

ELISA para la detección de coproantígenos de *Taenia sp.*

Por medio del ELISA para coproantígenos de *Taenia sp.* se siguió la infección en hámsteres y jerbos, los animales liberaron antígenos en el medio y fueron detectados por el ELISA desde los 12 dpi, con densidades ópticas por arriba del punto de corte. El ELISA permitió asegurar que la tenia se implantó en el intestino delgado.

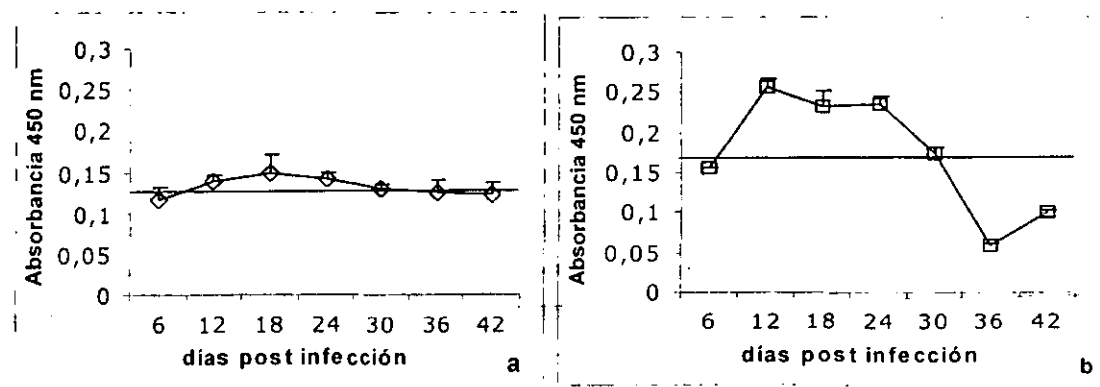


Figura 5 (a y b). Muestra los valores de absorbancia a lo largo del tiempo que duraron las infecciones. En los jerbos (5a♦) los valores fueron bajos y positivos en los días 12, 18 y 24. En los hámsteres (5b□), en cambio, se obtuvieron valores de absorbancia comparativamente altos y se mantuvieron positivos una semana más que en los jerbos. La línea recta corresponde al punto de corte.

El punto de corte para jerbos fue de 0.130 y para los hámsteres de 0.157. Los jerbos tuvieron absorbancias positivas hasta los 24 dpi y los hámsteres hasta los 30 dpi, posteriormente las densidades ópticas declinaron hasta hacerse negativas. En los hámsteres las absorbancias obtenidas en el ELISA fueron mayores en comparación con las observadas en los jerbos (fig. 5 a y b).

Cuantificación de células caliciformes en cortes de intestino de jerbo

La cuantificación de células caliciformes (CC) se hizo desde la base de la cripta hasta el ápice de la vellosidad, se tomaron en cuenta las células PAS positivas (aquellas células teñidas de color fucsia en forma de copa o redondas). Las muestras de tejido analizadas correspondieron al área de anclaje de las tenias, en los animales que perdieron la infección o en los testigos (roedores no infectados) la muestra se tomó a una distancia similar a la zona donde se implantaron las tenias.

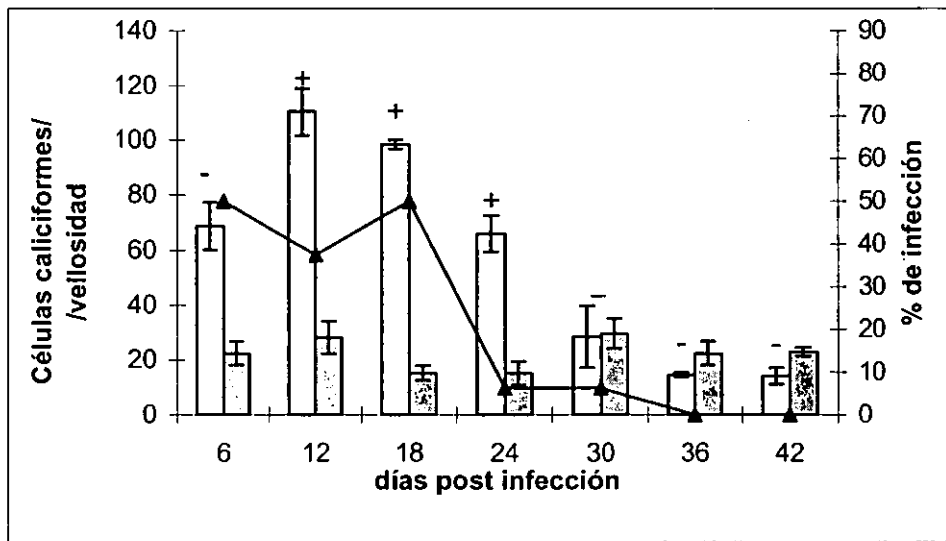


Figura 6. Promedio de células caliciformes por vellosidad correspondiente al área de anclaje de *Taenia solium* en la mucosa del intestino delgado de jerbos. Las barras en blanco muestran los resultados de los animales infectados y las barras en gris corresponden a los animales testigo, se señala la desviación estándar. La línea negra muestra el porcentaje de infección. El signo + ó - arriba de cada barra corresponde a la presencia o ausencia de coproantígenos.

En el modelo experimental de jerbos a los 6 dpi, se observó que en la parte anterior del intestino delgado hubo 70 CC por vellosidad, para los 12 dpi se encontró el mayor número de células que fue de 115 CC, posteriormente comenzaron a descender paulatinamente hasta obtener valores semejantes a los del grupo testigo de 28 células a los 30 dpi (fig. 6). En los animales testigo el número de CC osciló de 15.2 a 28 por vellosidad durante el tiempo que duró el experimento. En la parte posterior de la mucosa del intestino delgado de los jerbos infectados con *T. solium* las células caliciformes se mantuvieron más o menos constantes, se observaron de 16 y 34 CC por vellosidad, similar a los animales del grupo testigo (fig. 7).

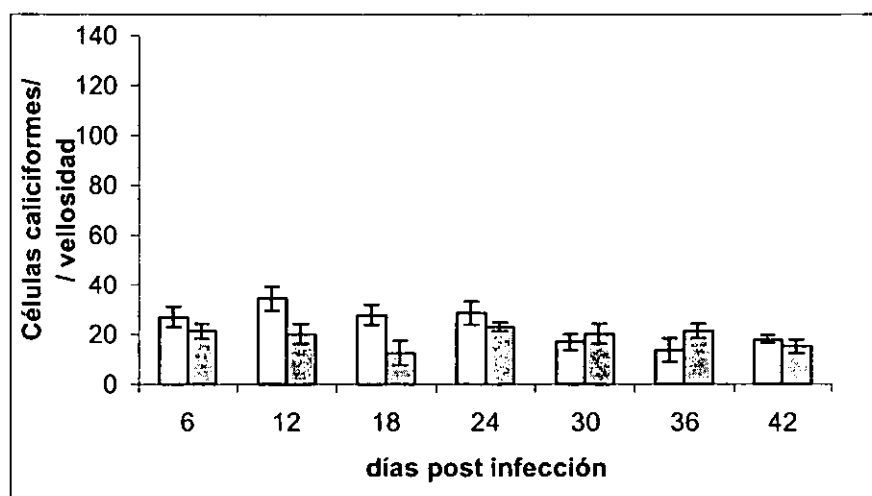


Figura 7. Promedio de células caliciformes por vellosidad correspondientes a la parte posterior del intestino delgado de jerbo. Las barras en blanco muestran los resultados de los animales infectados y las barras en gris corresponden a los animales testigo.

Cuantificación de eosinófilos en cortes de intestino de jerbo.

La cuantificación de eosinófilos se hizo desde la capa muscular hasta la submucosa de las vellosidades en el intestino delgado de jerbo, se tomaron en cuenta las células cuyos núcleos se tiñeron de color morado y sus gránulos de color rosa-anaranjado. Las muestras de tejido analizadas correspondieron al área de anclaje de las tenias, cuando los animales perdieron la infección o en los roedores testigos la

muestra de tejido se tomó a una distancia similar a la zona donde se implantaron las tenias.

En el modelo experimental de jerbos se observó a los 6 dpi, 16 eosinófilos por vellosidad, para los 12 dpi se encontró el mayor número de células que fue de 27 eosinófilos por vellosidad, posteriormente comenzaron a descender paulatinamente encontrándose 13 eosinófilos por vellosidad a los 18 y 24 dpi, para los 30 dpi se cuantificaron 3 eosinófilos por vellosidad, después de esta fecha se observaron valores semejantes a los del grupo testigo, 3 eosinófilos por vellosidad a los 36 y 42 dpi (fig. 8). En los animales testigo el número de eosinófilos osciló de 1 a 3 células por vellosidad durante el tiempo de experimentación.

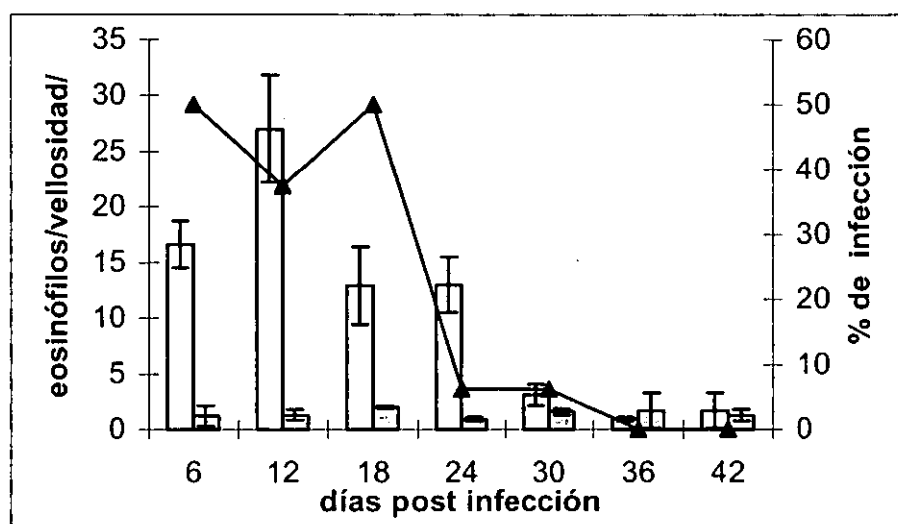


Figura 8. Promedio de eosinófilos por vellosidad correspondientes al área de anclaje de *Taenia solium* en la mucosa del intestino delgado de jervo. Las barras en blanco muestran los resultados de los animales infectados, las barras en gris corresponden a los resultados de los animales testigo, la línea negra corresponde al porcentaje de infección. Se señala la desviación estándar.

En la parte posterior de la mucosa del intestino delgado de los jerbos infectados hubo escasos eosinófilos de 0 a 3 por vellosidad, éste número se mantuvo durante el

tiempo de experimentación. El grupo testigo mostró valores que fueron de 0 a 1.6 eosinófilos por vellosidad (fig.9).

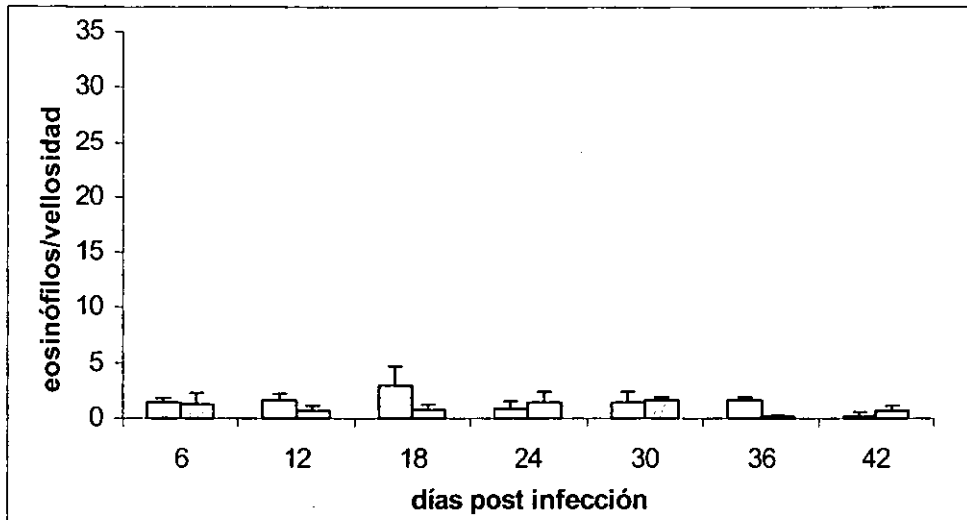


Figura 9. Promedio de eosinófilos por vellosidad correspondientes a la parte posterior del intestino delgado de jerbo. Las barras en blanco muestran los resultados de los animales infectados y las barras en gris corresponden a los resultados de los animales testigo, se señala la desviación estándar.

Cuantificación de células caliciformes en cortes de intestino de hámster.

En el modelo experimental de hámster en la parte anterior del intestino delgado a los 6 dpi había 43 CC por vellosidad, a los 12 dpi se incrementó en número de células a 72 por vellosidad; el mayor número de células caliciformes se encontró a los 18 dpi con 80 células por vellosidad, posteriormente el número de células comenzó a descender gradualmente y a los 24 dpi se observaron 55 células por vellosidad; para los 30 dpi se cuantificaron 32 CC por vellosidad y después de ésta fecha se observaron valores semejantes a los del grupo testigo a los 36 y 42 dpi encontraron 16 y 19 CC por vellosidad respectivamente (fig. 10).

En los animales testigo el número de CC osciló de 10.5 a 16.5 por vellosidad durante el tiempo de experimentación. En la parte posterior del intestino delgado de

los hámsteres las células caliciformes no variaron mucho, 11.5 a 23.2, datos muy similares a los que se obtuvieron en los animales del grupo testigo (fig. 11).

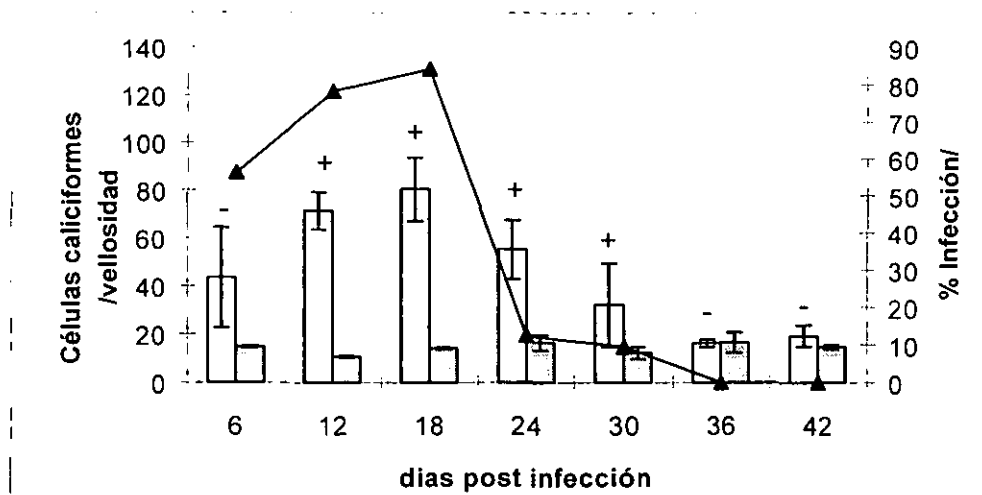


Figura 10. Promedio de células caliciformes por vellosidad correspondientes al área de anclaje de *Taenia solium* en la mucosa del intestino delgado de hámsteres. Las barras en blanco muestran los resultados de los animales infectados y las barras en gris corresponden a los resultados de los animales testigo, se señala la desviación estándar. La línea negra muestra el porcentaje de infección. El signo + ó - arriba de cada barra corresponde a la presencia o ausencia de coproantígenos.

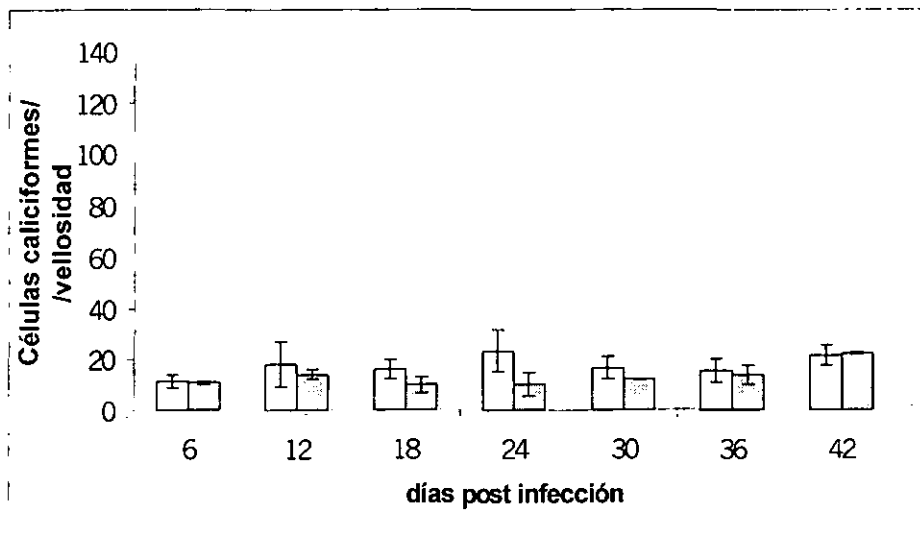


Figura 11. Promedio de células caliciformes por vellosidad correspondientes a la parte posterior del intestino delgado de hámsteres. Las barras en blanco muestran los resultados de los animales infectados y las barras en gris corresponden a los resultados de los animales testigo, se señala desviación estándar.

Cuantificación de eosinófilos en cortes de intestino de hámster

En el modelo experimental de hámster se observó a los 6 dpi el número mayor de eosinófilos por vellosidad, que fue de 28 células, a los 12 dpi descendió a 18, aunque a los 18 dpi aumentó ligeramente a 21 eosinófilos por vellosidad, a los 24 dpi se observaron 6 eosinófilos por vellosidad, para los 30 dpi se cuantificaron 6 eosinófilos por vellosidad, posteriormente los eosinófilos declinaron a valores cercanos a los del grupo testigo que fue de 0.5 a 3 células por vellosidad durante el tiempo que duró el experimento (fig. 12).

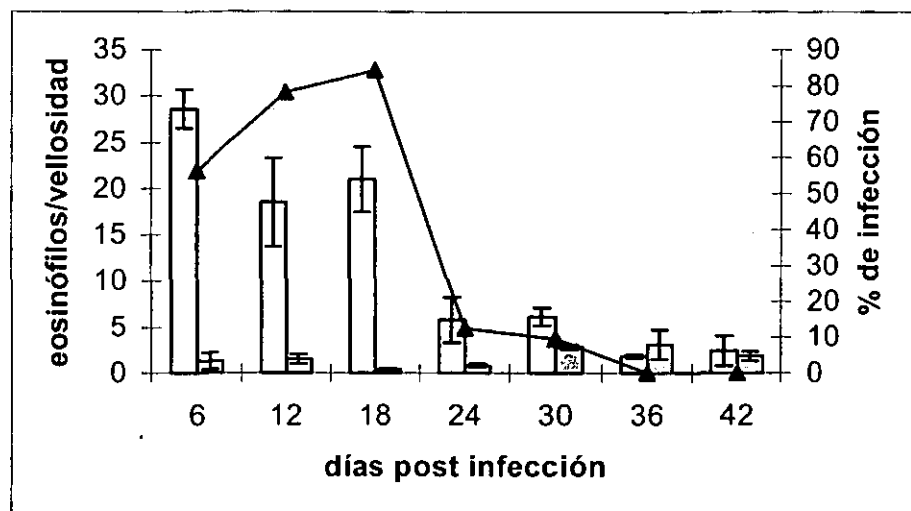


Figura 12. Promedio de eosinófilos por vellosidad correspondientes al área de anclaje de *Taenia solium* en la mucosa del intestino delgado de hámsteres. Las barras en blanco muestran los resultados de los animales infectados y las barras en gris corresponden a los animales testigo. La líneas continua negra muestra el porcentaje de infección. Se señala la desviación estándar.

En la parte posterior de la mucosa del intestino delgado de los hámsteres infectados se observó que los eosinófilos no pasaron mayor a 3 células por vellosidad, para el grupo de animales no infectados, éstos valores fueron similares (fig 13).

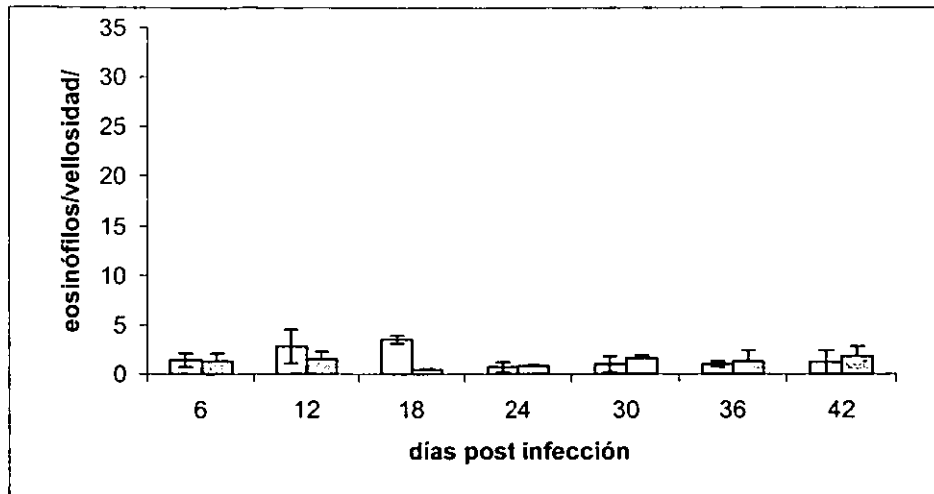


Figura 13. Promedio de eosinófilos por vellosidad correspondientes a la parte posterior del intestino delgado de hámsteres. Las barras en blanco muestran los resultados de los animales infectados y las barras en color gris corresponden a los animales testigo, se señala la desviación estándar.

Características morfológicas de la zona de anclaje de *T. solium* en intestino de animales experimentales.

La parte anterior de las muestras de tejido del intestino delgado de jerbos y hámsteres no infectados, presentaron vellosidades de forma alargada y con ápices redondos, pocas células caliciformes se distribuyeron en la mucosa a lo largo de la vellosidad, se observaron escasos eosinófilos, neutrófilos y células plasmáticas en la lámina propia. Los linfocitos estuvieron presentes moderadamente en la lámina propia (fig. 14 a y b). En la parte posterior del intestino delgado, las vellosidades se observaron más anchas y poco alargadas, pocas células caliciformes fueron vistas tanto en las vellosidades como en las criptas de Lieberkühn con actividad de secreción normal (fig. 15 a y b células color fucsia). Ambas partes de tejido presentaron rasgos de edema celular (poco líquido), además se presentaron eventos mitóticos con 0 a 2 mitosis por cripta. Esta misma morfología se presentó en hámsteres.

Los tejidos de la parte anterior de la mucosa intestinal de los animales infectados a los 6 dpi, conservaron su forma alargada, se observó un infiltrado celular caracterizado por linfocitos y eosinófilos en la lámina propia de las vellosidades. Las

criptas de Lieberkühn mostraron actividad mitótica celular de 1 a 2 mitosis por cripta. En las figuras 16 a y b se muestran cortes de intestino de hámsteres con gran respuesta eosinofílica, esta respuesta en jerbos fue menor (fig. 17a). En cuanto a las células caliciformes tuvieron forma redonda con gran actividad secretora, también se observó aumento de moco entre las vellosidades y hacia el lumen intestinal, habiendo una mayor cantidad de estas en jerbos (fig. 18 a) que en hámsteres (fig. 18b). Ocasionalmente se observó hiperplasia linfoidea en ambos roedores. En hámsteres se observaron más células plasmáticas en la lámina propia y en la base de las vellosidades, este tipo celular fue escaso en jerbos. En ambos roedores se observó edema celular caracterizado por el ensanchamiento y aumento de líquido además de apariencia de tejido esponjoso en el tejido conectivo de la lámina propia. En el sitio de inserción de la tenia se observaron numerosos neutrófilos.

En los jerbos a los 12 dpi se observó hiperplasia nodular linfoidea con centros germinales en la base de la submucosa, además de infiltración linfoide. La actividad mitótica fue mayor, de 3 a 4 mitosis por cripta (fig. 19 a y b). Se observó edema que aumentó hacia la lámina propia, se incrementó el número de eosinófilos y neutrófilos, además se vio una lesión necrótica (fig. 19 b). Las CC aumentaron de tamaño, hubo hipersecreción de moco entre las vellosidades y hacia la luz del intestino en contacto con la tenia (fig. 19 a y b). Hubo presencia de células plasmáticas y edema en la lámina propia. En los hámsteres se observó un aumento de CC y de eosinófilos, además, en algunos casos había nódulos linfoides amplios y extensos hacia la lámina propia. La submucosa presentó ensanchamiento.

En uno de los cortes histológicos a los 18 dpi, se vió una tenia que estaba implantada en el intestino delgado de un jerbo. Una de las ventosas del parásito se adhirió a la capa muscular haciendo presión en el tejido, fue evidente la inflamación en la zona de anclaje de la tenia, esta reacción inflamatoria se caracterizó por presentar hiperplasia linfoidea acentuada hasta la formación de nódulos linfoides, con infiltración

polimorfonuclear focal (figuras 20 a y b). En la mucosa adyacente al parásito se perdió la estructura típica de las vellosidades, además hubo un aumento de moco, eosinofilia en la submucosa y en lámina propia; se encontraron de 3 a 4 mitosis por cripta, mientras que en los hámsteres se contaron de 2 a 3 mitosis por cripta. En ambos roedores se observó edema y células plasmáticas. La figura 21 a y b muestra parte del tejido de la tenia y tejido del hospedero donde la tenia se inserta.

A los 24 dpi en los hámsteres se observaron vellosidades poco alargadas, la reacción inflamatoria fue más intensa caracterizada por la presencia de eosinófilos, neutrófilos y linfocitos. Las CC no fueron muy numerosas. La figura 22 muestra a las CC con gran actividad, dentro de las CC se observó una estructura en forma de red y cavidades mostrando eventos de secreción acelerada. En los jerbos se observaron numerosas CC, pero sin huellas de secreción acelerada. En ambas especies de animales los eosinófilos fueron disminuyendo, y los neutrófilos sólo estuvieron presentes en la zona de anclaje de las tenias. La presencia de edema fue menor; se observaron escasas células plasmáticas y linfocitos dispersos en forma moderada. Las mitosis fueron de 3 a 4 por cripta.

Para los 30 dpi en algunos casos en el modelo de hámster se observó que la forma de la CC se perdió y sólo apareció una red filamentosa, se observaron células plasmáticas y linfocitos dispersos. En ambos roedores el número de CC disminuyó al igual que el número de eosinófilos, los neutrófilos estuvieron casi ausentes. La actividad mitótica se conservó de 3 a 4 por vellosidad; se observó edema, además de que hubo presencia moderada de linfocitos.

En el caso de los jerbos para esta fecha se observó la estructura característica de la vellosidad, un menor número de CC, de eosinófilos, de linfocitos y de neutrófilos, además de pocas células plasmáticas, el edema fue casi normal; las mitosis se siguieron conservando de 3 a 4 por cripta. La cantidad de moco en la mucosa y lumen intestinal casi fue normal (fig. 23 y cuadro 2).

En la parte posterior del intestino delgado de hámsteres y jerbos a los diferentes días post infección hubo vellosidades cortas y más anchas, no se observó aumento en el número de CC ni eventos de secreción acelerada, además los granulocitos no fueron muy evidentes, los linfocitos estuvieron presentes en forma moderada al igual que las células plasmáticas, la actividad mitótica fue de 0 a 3 en la base la las criptas de Lieberkühn (fig. 24).

Cuadro 2. Diferencias en la reacción celular de la mucosa intestinal de animales infectados.

Estructuras celulares en la mucosa intestinal	Jerbos	Hámsteres
Células plasmáticas	**	***
Linfocitos	***	**
Eosinófilos	**	**
Neutrófilos	*	*
Fibroblastos	*	*
Edema	*	***
Células Caliciformes	***	**

* escasa, **moderada, ***intensa



a ————— 350 μm

Figura 14. Cortes histológicos de la parte anterior del intestino delgado de jerbos no infectados. Vellosidades alargadas en la mucosa con células caliciformes teñidas con ácido peryódico de Schiff (PAS). a) mucosa intestinal con células caliciformes CC en color fucsia (flechas). b) acercamiento del área mostrando las diferentes capas del intestino delgado: Muscular (M), Lámina propia (Lp), Sumbucosa (Sb), Mucosa (MC).





Figura 15. Corte histológico transversal de la parte posterior del intestino delgado de jerbo sin infección. Se observan pocas células caliciformes (flecha), tinción de PAS. a) Vellosidades anchas y cortas. b) Vista de otra área del íleon en un corte tangencial, criptas de Lieberkühn (CL).

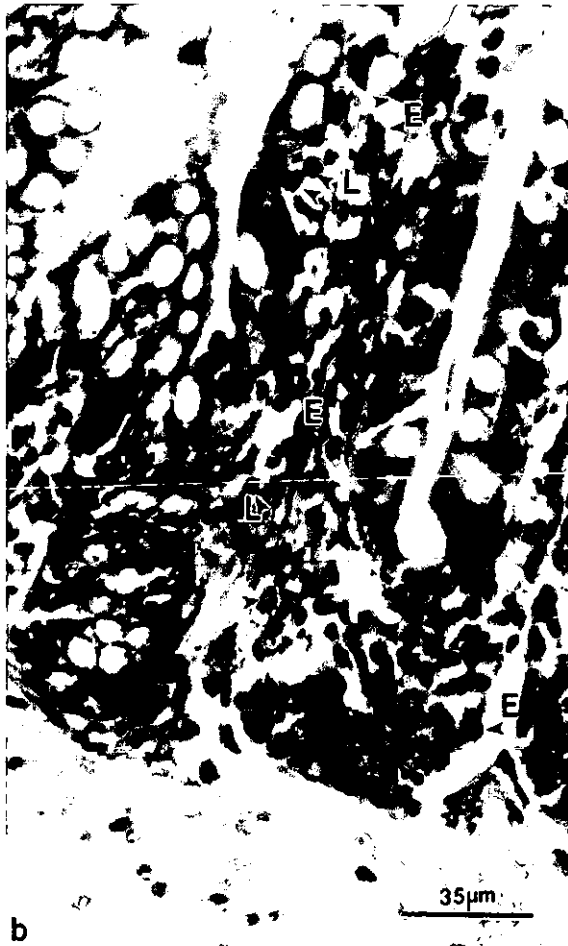


Figura 16a. Corte histológico de la parte anterior del intestino delgado de hámster infectado con *T. solium* teñido con hematoxilina-eosina a los 6 dpi.



Figura 16. b) La microfotografía muestra un acercamiento del área señalada en la figura 14a, se observan numerosos eosinófilos (E), linfocitos (L) y fibroblastos (F).

Figura 17. Parte anterior del intestino delgado de jerbo con 12 dpi teñido con H-E, a) se observan CC (flechas). b) acercamiento del área mostrando eosinófilos (E), y linfocitos (L), en la submucosa.



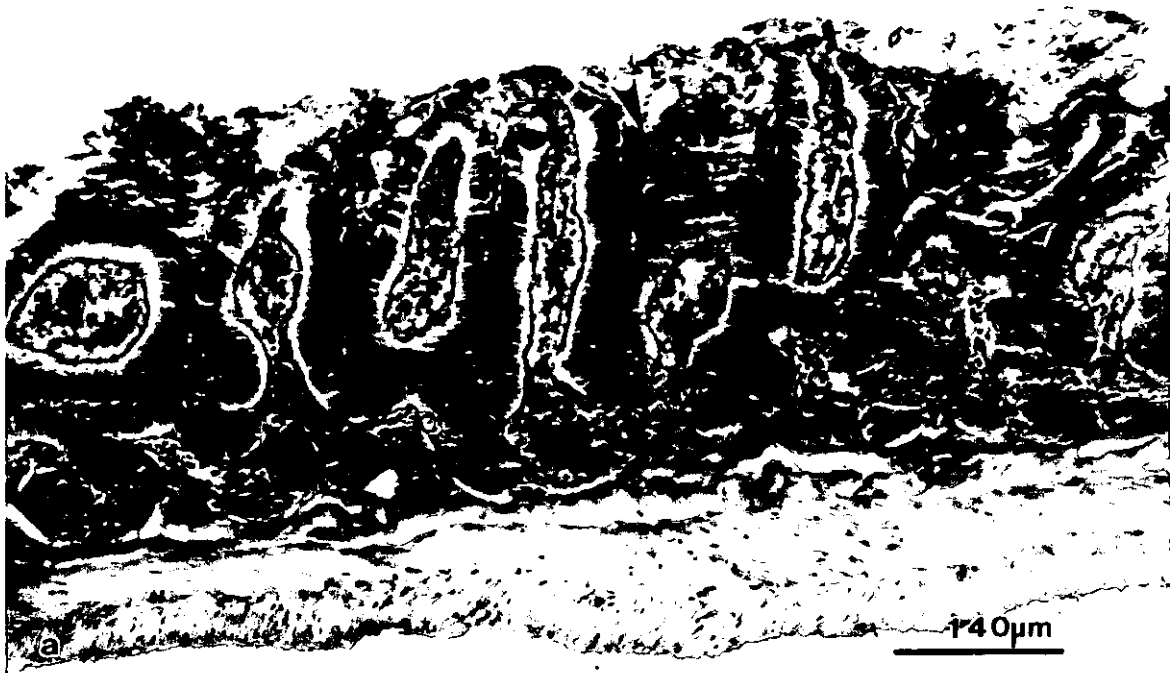


Figura 18a. Parte anterior de la mucosa intestinal de jerbo infectado con *T. solium* a los 6 dpi, se distingue mucha mucina en las células caliciformes desde las criptas de Lieberkühn, entre las vellosidades, y hacia el lumen intestinal (flechas), tinción de PAS.



Figura 18 b. Parte anterior de la mucosa intestinal de hámster infectado con *T. solium* a los 6 dpi, se observan células caliciformes y poca mucina entre las vellosidades (flechas), corte tangencial teñidas con PAS.

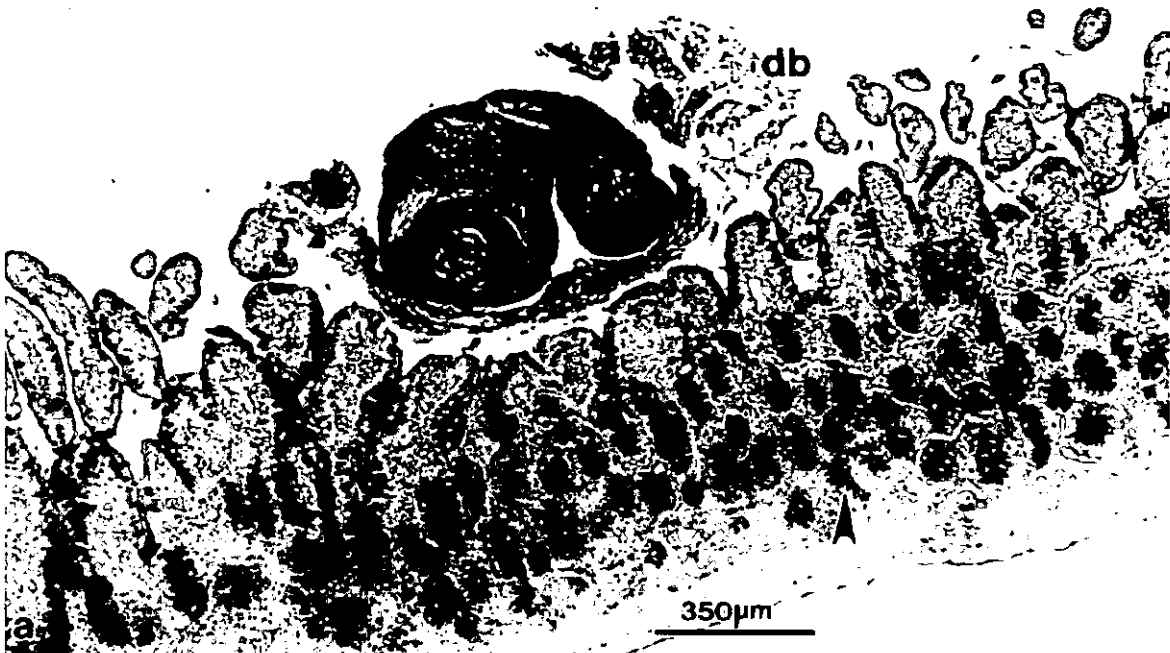


Figura 19 a. Parte anterior del intestino delgado de jervo infectado con *Taenia solium* a los 12 dpi. Se observa mayor cantidad de células caliciformes desde la base de la cripta hasta la mucosa (flecha). Hacia la luz intestinal se ve parte del tejido de la tenia mostrando una ventosa y dentro de ésta detritos celulares (d) del hospedero. Técnica de PAS.

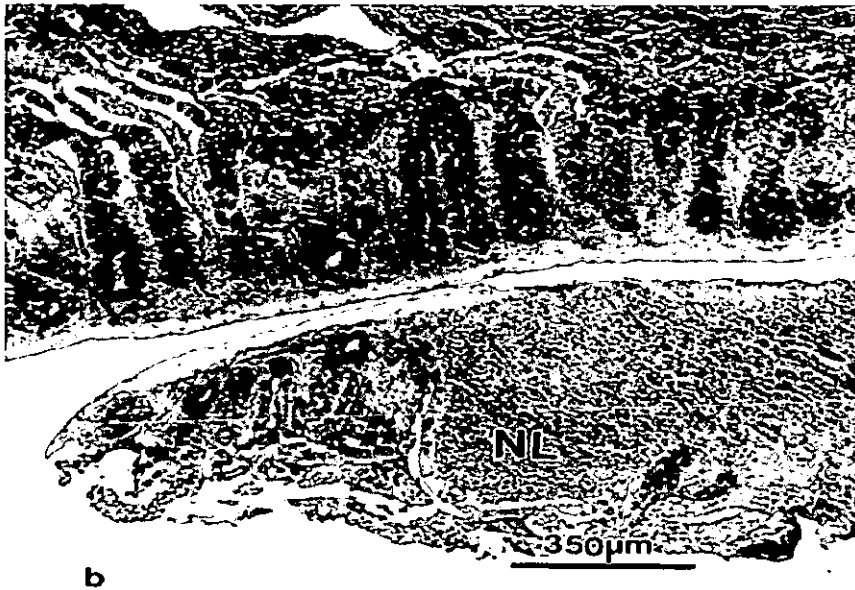


Figura 19b. Parte anterior de la mucosa intestinal de jervo con *Taenia solium* a 3 mm de donde se encontró la tenia en el tejido de la figura anterior. El tejido donde se muestran nódulos linfoides que aunque se ve abajo es continuidad del mismo corte histológico que se dobló. El número de CC es mucho mayor, las criptas de Lieberkühn están completamente llenas de CC, detritos celulares y pérdida de la forma de la vellosidad.



a

Figura 20 a. Corte histológico de la parte anterior del intestino delgado de jervo infectado con *T. solium* a los 18 dpi, se observa el sitio de inserción de la tenia, la ventosa derecha claramente atrapa a la pared muscular (tercio interno) del intestino, teñida con PAS.



b

Figura 20 b. Acercamiento del área donde la tenia esta sujeta, en el interior de la ventosa hay fibras musculares (flecha), en el sitio de inserción de la tenia hay pérdida de las vellosidades del hospedero y a un lado se ve un nódulo linfóide adyacente a la zona de inserción (NL) y mucina entre las vellosidades, con un mayor número de células caliciformes.



a

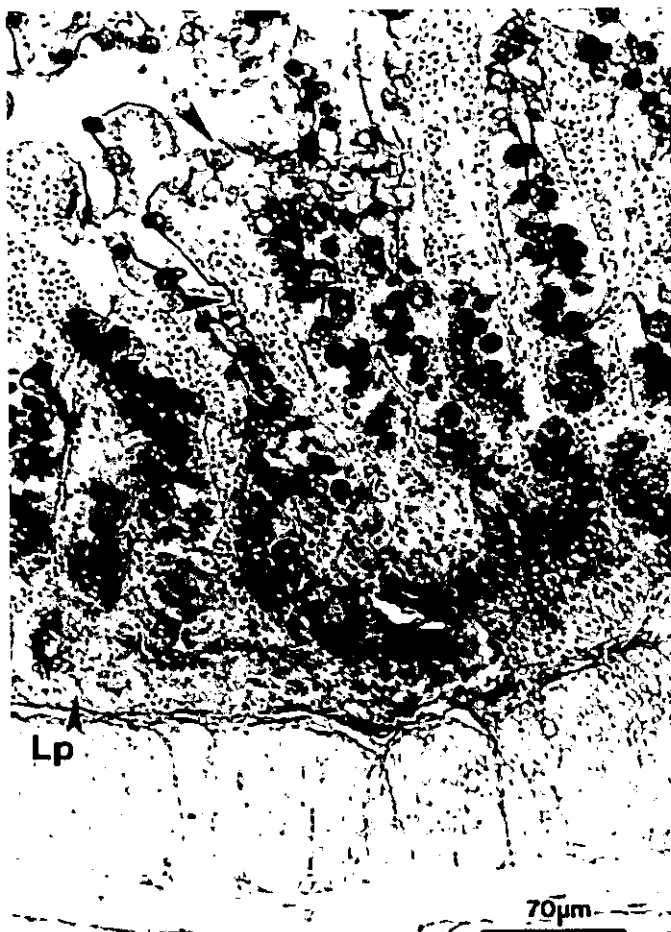
Figura 21 a. Corte histológico transversal de la parte anterior del intestino delgado de un jervo infectado con *T. solium* a los 18 dpi, se observó parte del tejido de la tenia, así como células caliciformes llenas de mucina en la mucosa. Técnica de PAS.



b

Figura 21 b. Zona cercana donde la tenia estaba anclada (fig. 21a), se observa mucha mucina entre las vellosidades, detritos celular, el promedio de células caliciformes (CC) que se observa es de 90 a 100 por vellosidad. Técnica de PAS.

Figura 22. Corte histológico transversal del intestino delgado de hámster a los 24 dpi, se observa hiperplasia celular de las células caliciformes con y cavidades en las mismas (flechas), ruptura de la parte apical de las vellosidades, engrosamiento de la lámina propia (LP) y mucina hacia el lumen intestinal. Técnica de PAS.



22

Figura 23. Corte histológico transversal del intestino delgado de jerbo a los 30 dpi, se observan células caliciformes (CC) con poca cantidad de mucina, poca inflamación en la submucosa (flechas). Técnica de PAS.



23

La parte posterior del intestino delgado de hámster y de jerbo infectados no vario en cuanto a la cantidad de células caliciformes de 15 a 20 unidades y los eosinófilos fueron escasos o no presentes en la vellosidad, la estructura de la mucosa intestinal conservó su forma durante el tiempo de infección (fig. 24).



Figura 24. Corte transversal del intestino delgado de hámster infectado con *T. solium*, a los 6 dpi parte posterior (íleon) vellosidades más anchas y menos alargadas con pocas células caliciformes, técnica de PAS.

Histoquímica de la lectina *Helix pomatia* (HPA).

La histoquímica de la lectina HPA reveló que hubo un mayor reconocimiento de N-acetilgalactosamina en los animales infectados tanto en la parte anterior como en la parte posterior del intestino delgado de ambos roedores. A los 6, 12 y 18 dpi se observó un mayor marcaje en la mucosa, criptas y capa serosa (cuadro 3), cuando los roedores secretaron más mucina hubo mayor reconocimiento del azúcar, cuando las células caliciformes fueron numerosas la marca hacia HPA se observó fuertemente positiva, mientras que las células caliciformes vacías fueron negativas a la lectina HPA, las mucinas liberadas a la luz intestinal y en las criptas de Lieberkühn fueron HPA positivas (figs 25 a, b y c).

Cuadro 3. Intensidad de reconocimiento de N-acetilgalactosamina Por la lectina HPA

Nivel en la mucosa intestinal	Animales no infectados	Animales infectados
Serosa	*/-	*/-
Muscular de la mucosa	-	-
Lámina propia	-	-
Criptas de Lieberkühn	-	***
Submucosa	-	-
Mucosa	*	***

* débil , * * mediana, *** intensa

En los animales no infectados el reconocimiento de N-acetilgalactosamina fue muy débil en las partes anteriores y posteriores del intestino delgado en ambos modelos experimentales, este reconocimiento se observó en la mucosa y en algunas células caliciformes cuando éstas estuvieron presentes, en las criptas de Lieberkühn y en la serosa (cuadro 3 y figs 26 y 27).

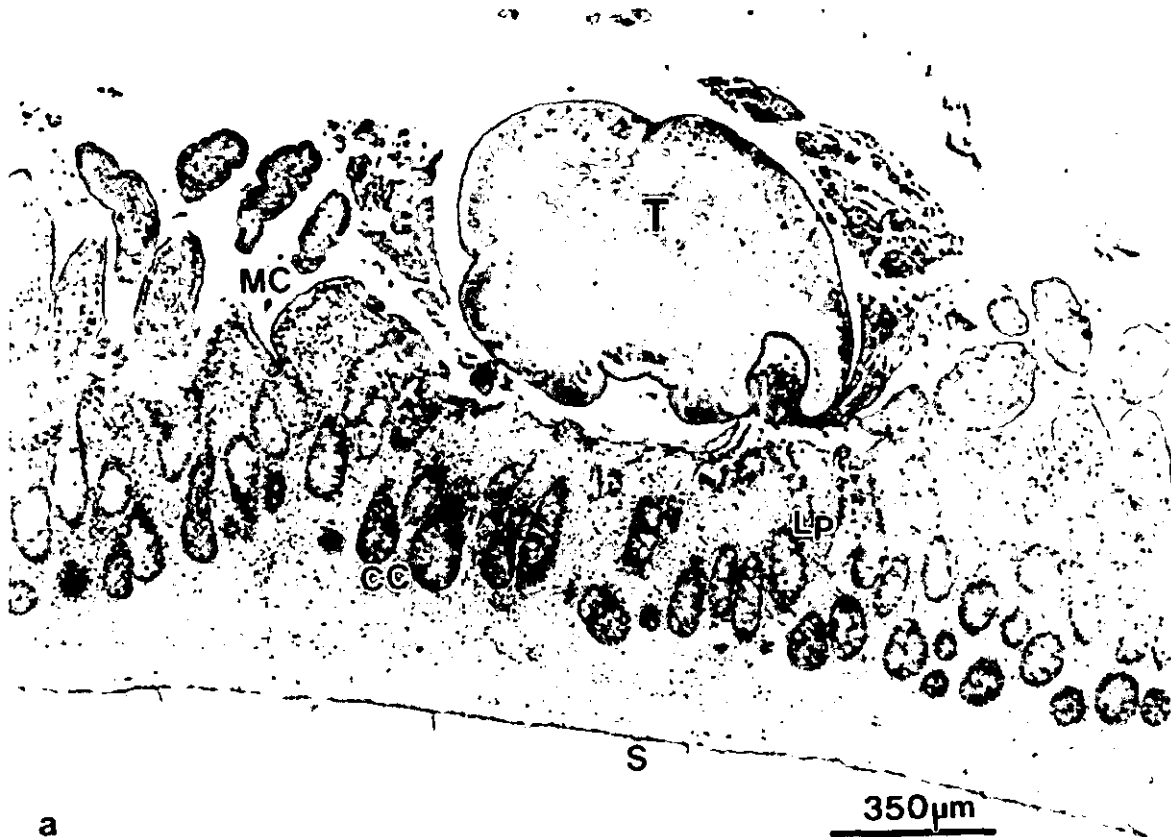


Figura 25a. Parte anterior del intestino delgado de jerbo infectado con *Tenia solium* a los 12 dpi, reacción histoquímica a la lectina HPA. Se observa reconocimiento fuerte de la lectina HPA de color café, en las células caliciformes de las criptas de Lieberkühn (CL), en la mucosa (MC) de las vellosidades y en el parásito (T) cuya ventosa tiene en su interior mucosa del huésped.



Figura 25 b y c. Acercamiento de la interfase huésped-parásito, el color de N-acetilgalactosamina es más intenso en la zona de contacto de la tenia con el intestino del roedor, en sus microtricos y tegumento. En la mucosa intestinal del jerbo, en las criptas de Lieberkühn (CL) y en la serosa (S). Se observa tejido del huésped dentro de la ventosa de la tenia.

Figura 26. Parte anterior del intestino delgado de jerbo no infectado teñido por histoquímica de la lectina HPA, se observa un reconocimiento débil, en la mucosa de las vellosidades en la submucosa; y en la serosa.

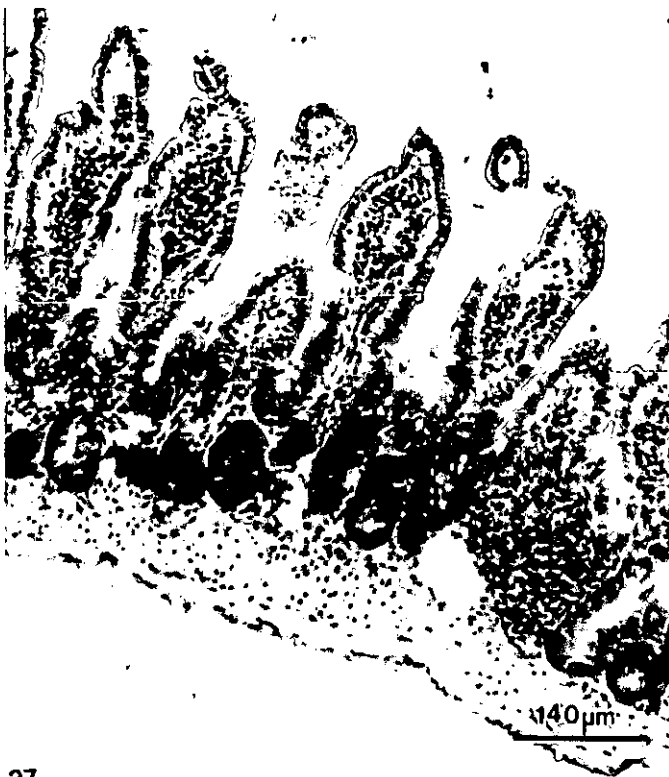


Figura 27. Parte posterior del intestino delgado de jerbo no infectado teñido por histoquímica de la lectina HPA, se observa un reconocimiento débil en la mucosa y en la submucosa.

DISCUSIÓN

Los modelos experimentales de hámsteres y jerbos no inmunosuprimidos e infectados con *Taenia solium* son una alternativa útil que permite realizar estudios para conocer la relación huésped-parásito que se está llevando a nivel de la mucosa intestinal. Es interesante notar que el comportamiento de esta relación huésped-parásito es diferente en ambas especies de roedores estudiados, por ejemplo en cuanto la eficiencia de la infección en el presente estudio fue de 34% para hámsteres y de 20% para jerbos, aunque se recuperaron tenias hasta a los 30dpi en ambos roedores. Estos resultados son diferentes a los reportados por Maravilla (1996), quién determinó que la eficiencia de la infección en hámsteres fue del 50% y para jerbos del 43%, además recuperó tenias a los 90 y 77 dpi en hámsteres y jerbos respectivamente. Estas diferencias se deben principalmente a que en el trabajo anterior, los animales se inmunodeprimieron con diferentes dosis de esteroide acetato de metil prednisolona, (MPA) y utilizando un sistema de ELISA permitió confirmar que las tenias se implantaron ya que a los 12 días fue positiva. La prueba se volvió negativa a las 4 semanas en hámsteres y una semana antes en jerbos, cuando en estudios previos con animales inmunosuprimidos (Maravilla y col. 1998), la positividad se mantuvo hasta 18 semanas en hámsteres y 8 semanas en jerbos. En el estudio de Maravilla y colaboradores (1998) se recuperaron tenias pregrávidas de mas de 40 cm de longitud después de las 8 semanas post infección, en el presente estudio con roedores no inmunosuprimidos los ejemplares de mayor tamaño y desarrollo se obtuvieron de los hámsteres a las cuatro semanas de infección, las tenias mas grandes midieron 20 cm y contenían proglótidos maduros. Llama la atención que las tenias obtenidas de los jerbos en su gran mayoría medían menos de 1 cm de largo y por lo tanto el estróbilo era mínimo. Los resultados sugieren que los esteroides podrían favorecer un mejor desarrollo de *T. solium* en hámsteres y jerbos, aunque en ausencia de drogas supresoras el desarrollo de los parásitos es diferente en ambos roedores.

En cuanto al sitio de implantación de las tenias, la mayoría de las éstas se encontraron adheridas a los 8 cm después del píloro en los jerbos, mientras que en los hámsteres se encontraron ancladas a los 12.5 cm por debajo del píloro. Esta aparente diferencia se debe a que los intestinos delgados de éstos animales son de diferente tamaño, de 28 cm para los jerbos y de 35 cm para los hámsteres. Esto permite concluir que el sitio de implantación de *T. solium* es en el primer tercio del intestino delgado de ambos roedores. En el ser humano se reporta que la tenia se fija en la porción superior del intestino delgado (Chacón en Tay y cols. 1994) y que se encuentra en el yeyuno (Botero y Restrepo 1992), sin embargo ningún autor aclara en donde se fija la tenia al intestino, muy probablemente por la imposibilidad de definirlo. Si se extrapolan los resultados de los experimentos mostrados en esta tesis, se puede inferir que el escolex se fija en el duodeno y el estróbilo del parásito se encuentra en el yeyuno. En infecciones experimentales con otros céstodos adultos como *T. crassiceps*, se ha reportado el desplazamiento de la tenia hacia el tercer tercio del intestino delgado antes de ser expulsada (Sato y Kamiya, 1994). En este trabajo, se observó que un hámster con tres tenias a la necropsia, presentó un ejemplar adherido 24 cm por debajo del píloro (en el tercer tercio) a los 30 dpi; aparentemente por el tiempo de infección y la localización de la tenia, este parásito iba a ser expulsado. Este fenómeno de desplazamiento de *T. crassiceps* hacia el tercer tercio del intestino delgado en el modelo del hámster se presentó con mayor frecuencia en los animales que fueron infectados con 15, 30 y 60 metacéstodos y no en los animales que se infectaron con uno o tres cisticercos; por lo tanto y debido a que los animales utilizados en el presente estudio tuvieron cargas parasitarias bajas, las tenias se encontraron generalmente en el primer tercio del intestino delgado en ambos roedores.

Trabajos previos señalan que hay diferencias en la recuperación y permanencia de *T. solium* en hámsteres y jerbos. Maravilla y cols. (1998), para mantener la infección en los jerbos por periodos prolongados, tuvieron que inmunosuprimirlos con

dosis de esteroides cuatro veces mayores que las empleadas en hámsteres. Los esteroides favorecen que se recupere un mayor número de parásitos y que dure más tiempo la infección debido a que abaten la respuesta inflamatoria e inmunológica, ya que inhiben la síntesis de IL-2 y la unión con su receptor en los linfocitos T; también abaten la función de las células asesinas naturales y la activación de los linfocitos citotóxicos. Asimismo, a nivel de los macrófagos inhiben la síntesis del factor inhibidor de la migración de los macrófagos, el procesamiento y presentación de antígenos y la síntesis y liberación de IL-1 (Abbas et al., 2000; Goodman y Gilman, 1990). Al respecto Monroy-Ostria y colaboradores (1993) en hámsteres no inmunosuprimidos e infectados con *T. solium*, observaron que la reacción inflamatoria en el intestino constaba de un infiltrado formado por macrófagos, células epitelioides y algunas células plasmáticas. En este trabajo se realizaron estudios más detallados de la reacción inflamatoria mediante la cuantificación de diversas estirpes celulares en la mucosa intestinal, además se demostró que el escólex de la tenia penetró hasta la capa muscular del intestino delgado de manera similar como lo hacen *E. granulosus* y *E. multiloculares*, céstodos que inducen también una respuesta inflamatoria (Smyth y McManus, 1989).

En los jerbos infectados se observó que desde el inicio de la infección la respuesta de las células caliciformes fue muy intensa, el número de estas células fue mucho mayor en comparación con el número de células caliciformes en los hámsteres. En ambas especies se observaron eventos de secreción acelerada, las células mostraron cavidades sin presencia de mucina y daban el aspecto de red. Los eosinófilos fueron relativamente más abundantes en hámsteres que en jerbos. La regeneración celular en la mucosa intestinal de jerbos que estuvieron infectados con *T. solium* comenzó aproximadamente a los 30 dpi, mientras que en hámsteres todavía se observó hiperplasia de las células caliciformes. Estos resultados señalan que en el sitio donde la tenia se implantó hubo una intensa reacción inflamatoria, la cual no fue

evidente en segmentos del íleon. El presente estudio demostró que la expulsión más intensa de *T. solium* en los jerbos sucede a partir de los 18 a los 30 dpi, y en los hámsteres es de los 18 a los 36 dpi, cuando se obtienen los mayores valores de células caliciformes. Estos datos son similares a los que encontró Fujino y cols. (1996) cuando infectó ratones BALB/c con *Echinostoma trivolvis*, donde las células caliciformes se incrementaron a los 13 dpi, ocurriendo la expulsión de los parásitos entre los 10 y 13 dpi.

En las vellosidades de la mucosa intestinal en condiciones normales el promedio fue de un eosinófilo por vellosidad. En los animales infectados se observaron hasta 40 eosinófilos en una vellosidad para el caso de jerbos; mientras que en los hámsteres fue de 34 eosinófilos por vellosidad, lo que sugiere que éstas células podrían estar liberando sus proteínas (MBP, ECP, EPO, EDN) y mediadores de la inflamación, los cuales también pueden participar en la reacción inflamatoria y ser quimiotácticos para otras poblaciones celulares como las células cebadas, las caliciformes, neutrófilos, basófilos etc .

La morfología general de la mucosa intestinal en los animales infectados se observó que las vellosidades eran más cortas y con desprendimiento de la mucosa epitelial; en la lámina propia se observaron múltiples linfocitos y células plasmáticas. Los eosinófilos se encontraron principalmente en la base de las vellosidades; mientras que los neutrófilos en los nódulos linfoides. Se presentan diferencias entre los componentes de la reacción inflamatoria en el hámster y el jerbo. En el jerbo se encontró compactación de células, en la lámina propia de una vellosidad se presentaron linfocitos, eosinófilos, fibroblastos y pocas células plasmáticas, escasos neutrófilos, además de poco edema celular; mientras que en los hámsteres hubo mayor número de células plasmáticas, linfocitos dispersos y eosinófilos, escasos neutrófilos y mayor cantidad de edema celular.

Para caracterizar a los carbohidratos de las mucinas de las células caliciformes, se empleó la reacción con lectinas, las cuales son proteínas que reconocen específicamente carbohidratos, en particular se utilizó la lectina de *Helix pomatia* (HPA) que se une a residuos de N-acetilgalactosamina. En los cortes de tejido del intestino delgado de hámsteres y jerbos se observó reconocimiento de N-acetilgalactosamina en los animales infectados, éste reconocimiento fue muy intenso, por lo que la secreción acelerada de mucinas también puede contribuir en la defensa del hospedero en contra de *T. solium* en ambos roedores. Fujino y colaboradores (1996) encontraron datos similares cuando infectaron ratones C3H con *E. trivolvis* y *E. caproni* ya que observaron un incremento en el reconocimiento de N-acetilgalactosamina y N-acetilgalactosamina únicamente en los ratones infectados con *E. trivolvis*. Por su parte Nawa y colaboradores (1994) describieron que dentro de los mecanismos de defensa de la mucosa intestinal contra helmintos se observan cambios en las células caliciformes durante la expulsión de *N. brasiliensis*, además de que la proliferación de estas células es dependiente de linfocitos T mientras que la alteración de los azúcares terminales de las mucinas es independiente de los linfocitos T, estos cambios cualitativos en las células caliciformes parecen ser críticos para la expulsión de estos parásitos.

El estudio realizado con la lectina HPA permitió conocer además que en la superficie de la mucosa intestinal de hámsters y de jerbos infectados con *T. solium* la secreción aumentada de N-acetilgalactosamina coincide con el estado patológico observado en la mucosa intestinal; ya que se detectó una mayor intensidad de marca en los animales infectados en comparación con los animales del grupo testigo. Es probable que, en primera instancia, ocurriera un reconocimiento por parte del escólex para adherirse en el primer tercio de la mucosa del intestino delgado, sin embargo la inserción de la tenia produjo un daño, desplazando las vellosidades y erosionándolas, y a su vez el epitelio intestinal, al intentar recuperarse, produjo una hipersecreción de

moco, que aunado a los cambios patológicos observados en la mucosa, aparentemente no permitió que *T. solium* permaneciera por mas tiempo anclada en la pared del intestino delgado, ocurriendo entonces el desprendimiento de la tenias.

En el presente estudio algunas células caliciformes fueron negativas a la HPA, probablemente no reconocieron al azúcar debido a que hubo un proceso de secreción acelerada, y la célula caliciforme dejó su estructura tridimensional expuesta y vacía sin mucinas. Como se había mencionado los azúcares en el intestino delgado tienen una carga negativa, sin embargo en procesos de secreción acelerada, las células caliciformes no llegan a su madurez, por lo que salen de las criptas y se dirigen a la vellosidad con carga neutra.

Al correlacionar los números de células calciformes y de eosinófilos acumulados en la mucosa intestinal del primer tercio del intestino de los roedores utilizados en la teniosis experimental, con el tamaño y número de tenias encontradas en la necropsia y los valores de absorbancia que indican la presencia de coproantígenos, se puede confirmar la hipótesis de este trabajo, que propone que el aumento de las células inflamatorias coincide con la expulsión de los parásitos. Esto se debe a que a los 12 de infección en los jerbos se encontró un número de células caliciformes 5 veces mayor al de los controles y 10 veces más eosinófilos que en los controles y el número máximo de tenias (19) se recuperó a los 6 días, es decir cuando se presentó el pico de células caliciformes y de eosinófilos empezó a disminuir el número de tenias encontradas. Un comportamiento similar a las de las células inflamatorias lo tuvieron los coproantígenos, cuyas mayores absorbancias fueron en los días 12, 18 y 24. Además el tamaño de las tenias era minúsculo comparado con las de los hámsteres. En estos huéspedes el aumento de células caliciformes fue de 4 veces y el de eosinófilos de 10 veces, su pico fue a los 18 días y la disminución en el número de tenias se presentó una semana después. Aunque las células inflamatorias aparentemente participan en la expulsión de los parásitos, el desarrollo (en tamaño de tenias y duración de la

infección) de los mismos esta modulado por otros factores que son diferentes en el hámster que en el jerbo. Esto podría sugerir que la infección en hámsteres es mas parecida a la de seres humanos que la de jerbos, ya que se producen tenias mas grandes, con mayor desarrollo de los proglótidos y que sobreviven mayor tiempo en el huésped, a pesar de que este muestre una reacción inflamatoria contra la tenia en el sitio de anclaje.

CONCLUSIONES

1. Los modelos experimentales de hámster y jerbo son útiles para estudiar la reacción inflamatoria en la mucosa intestinal con el fin de entender los elementos que participan en la expulsión de las tenias.
2. La morfología general de la mucosa intestinal mostró compactación de diversas estirpes celulares en la lámina propia del intestino en jerbos, este efecto fue menor en hámsteres debido a la presencia de mayor edema celular.
3. El número de células caliciformes y eosinófilos en ambos modelos experimentales aumentó considerablemente en el primer tercio del intestino en donde se encontró el sitio de inserción de la tenia, pero no en la parte distal del intestino delgado, lo que indica que la reacción inflamatoria se debe al anclaje de la tenia.
4. El aumento de células caliciformes y eosinófilos, así como el tamaño y número de tenias encontradas en la necropsia y la presencia de coproantígenos sugiere que la reacción inflamatoria participa en la expulsión de las tenias.
5. Las mucinas de las células caliciformes contienen N-acetilgalactosamina, que reacciona con la lectina HPA con mayor intensidad cuando los animales estaban infectados, lo que sugiere que la secreción acelerada de mucinas también puede contribuir en la defensa del hospedero.
6. La duración de la infección, el tamaño y desarrollo de las tenias es mayor en hámsteres que en jerbos, lo que indica que participan otros factores del huésped que son diferentes en ambas especies de roedores.

BIBLIOGRAFIA

Abbas, A.K., *Cellular and molecular immunology* (2000). Lichtman A. H. J., and Pober, J.S., Philadelphia W. pp 417

Aguilar, V. L. (1995). *Efecto de la carga parasitaria y la dosis del esteroide acetato de metil prednisolona en el desarrollo del estadio adulto de T. Solium en el modelo experimental del Mesocricetus auratus*. Tesis de licenciatura , Biología. Facultad de Ciencias. UNAM. 84p.

Allan, J.C., Avila, G., García-Noval, J., Flisser, A., and Craig, P.S. (1990). Immunodiagnosis of teniasis by coproantigen detection. *Parasitology*. **101**: 473-477

Allan, J.C., Grcía-Domínguez, P. S. Craig, M. T. Rogan, B. S. Lowe, and Flisser A. (1991). Sexual development of *Taenia solium* hamsters. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*.**85**(5): 473-477.

Allen, A., (1978). Structure of gastrointestinal mucus glycoproteins and the viscous and gel-forming properties of mucus. *Br. Medical Bulletin*.**34**:28-332

Avila Ramírez, G. (1992). *Detección de antígenos de Taenia solium en heces por un método inmunoenzimático*. Tesis de Maestría en Ciencias Biomédicas, área inmunología, Facultad de Medicina UNAM, 126p.

Behm, C.A. and Ovington, K.S. (2000). The role of eosinóphils in parasitic helmonth infection: Insights from genetically modified mice. *Parasitology Today*. **15** (5): 202-209.

Benítez, G. A, M., (1996) *Estudios de la respuesta inmune humoral en el modelo experimental de Taenia solium en el hámster dorado*. Tesis de Licenciatura en el área de Químico Farmacéutico Biólogo, Facultad de Química, UNAM. México. 109p.

Boland,.C.R., Montgomery, C.K., and Kim S.Y. (1982).Alteration in human colinic mucin occurring with cellular differentiation and malignant transformatios. *Proc. Natl. Acad. Sci.USA*. **79**:2051-2055

Boland,.C.R., And Ahnen, D.J., (1985). Binding of lectins to goblet cell mucin in malignant and premalignant colonic epithelium in the CF-1 mouse *Gastroenterology*. **89**:258-284

Botero, D. y Restrepo, M. (1992). Parasitosis intestinales, cap 2, 126-143 pp.

Butterworth A. E. (1984). Cell-mediated damage to helminths. *Advances in Parasitology*. **14**:23-28.

Brown, T.R. (1898). Studies on trichinosis with special reference to the increase of the eosinophilic cells in the blood and muscle, the origin of these cells and their diagnostic importance. *Journal of Experimental Medicine*. **3**, 315.

Cañedo, L., Laclette, J.P., Morales, E., (1982). Evagination of the metacestode of *Taenia solium* in cysticercosis: *Present state of Knowlege and perspectives*. In Flisser A., Willms, K., Larralde, C., Ridaura, C. And Beltran F., Eds. Academic Press, New York, 363-373.

Capron, A., Dessaint, J. P., Capron, M., Amaisen J-C. And Tonnel, A.B. (1986). From parasite to allergy: A second receptor for IgE. *Immunology Today*. **7**,15

Chacón, A. R., (1994) Clase Cestoidea, teniasis y cisticercosis en: *Microbiología y Parasitología* Tay., J., Gutierrez Q., M., Rodríguez Q., R., López M. R., Romero, C., R., eds, México D.F., 3.129-3.148

Correa, D., Tovar, A., Espinoza, B., Plancarte, A., Flisser, A., (1989). Cisticercosis humana: reacción inmunológica huésped-parásito, in *Cisticercosis humana y porcina, su conocimiento e investigación en México*. Flisser, A., and Malagón, F., Eds., Limusa-Noriega, México D.F., 31-43 pp.

Douch, P.G.C., Harrison, G.B. L., Buchanan L.L. and Brunson, R.V. (1983). In vitro bioassay of sheep gastrointestinal mucus for nematode paralyzing activity mediated by a substance with some properties characteristic of SRS-A. *International Journal for Parasitology*.**13**: 207-212.

Dunn, I.J. and Wright, K.A. (1985). Cell injury caused by *Trichinella spiralis* in the mucosal epithelium of mice. *Journal of Parasitology*.**71**: 757-766

Egesten, A., Alumets, J., von Mecklenburg, C., Plamergren, M., and Olssen, I. (1986). Localization of eosinophil cationic protein, major basic protein and eosinophil peroxidase in human eosinophils by immunoelectron microscopic technique. *Journal of Histochemistry*. **34**, 1399.

Ehrlich, P. and Lazarus, A. (1900). Histology of the Blood: Normal and Pathological, W. Mayers, ed.,pp. 148. Cambridge Univ. Press, Cambridge.

Fahim, R.E.F., Forstner, G.G., Forstner J.F. (1983) Heterogeneity of rat goblet - cell mucin before and after reduction. *Biochemistry Journal*. **209**:117-124

Flisser, A. (1994). Teniasis and cysticercosis due *Taenia solium* in *Progress in Clinical parasitology*. Sun, T. (Ed) . CRC Press, Inc. Boca Raton Florida. **4**:77-116.

Filipe, M. I., (1979). Mucins in the human gastrointestinal epithelium: a review. *Investigation on Cell Pathology*. **2**:195-216

Forstner J.F., Taichman, N., Kalnins, V., Forstner, G.G. (1973). Intestinal goblet cell mucus: isolation and identification by immunofluorescence of a goblet cell protein. *Journal of Cellular Science*.**12**: 585-602

Fujino, T., Fried, B., Ichikawa, H., Tada, I. (1996). Rapid expulsion of the intestinal Trematodes *Echinostoma trivolvis* and *E. Caproni* from C3H mice by trapping with increase goblet cells mucins. *International Journal of Parasitology*.**26** (3) 319-324

Gemmell, M., Matyas, Z., Pawlowsky, Z, and Soulsby, E.J.L. (1983). *Guidelines for surveillance, prevention and control of Teniasis-Cisticercosis*. WHO Publication **vph/83.49** Switzerland. 207 p.

Gleinch, G.J., and Adolphson, C.R. (1986). The eosinophil leukocyte: Structure and function. *Advances in Immunology*. **85**,422.

Goodman A. G., Rall W. T., Nies, S.A., and Taylor, P. (1990). Goodman and Gilman's. *The Pharmacological basis of therapeutics*. 8th edition Pergamon Press New York 1436-1462

Goetzl, G.J., Wasserman, S. I., and Austen, K.F. (1975). Eosinophils polymorphonuclear leukocyte fuction in immediates hypersitivity. *Archives in Pathology*. **99**,4.

Grove, D.I., Mahmoud, A. A. F. and Warren K.S. (1977). Eosinophils and resistance to *Trichinella spiralis*. *Journal of Experimental Medicine*. **145**:755-799

Hamann, K.J., Barker, R.L., Loegering .A. and Gleinch, G. J. (1987) Comparative toxicity at purified human eosiniphils granule proteins for newborn larve of *Trichinella spiralis*. *Journal of Parasitology*. **73**: 523-529.

Handler, J. H. and Rothwell, T. L.W. (1981). Studies of the response of basophis and eosinophil leucocytes and mast cells to the nematode *Tricostrongylus colubriformis*: comparison of the cell populations in parasite resistant and susceptible guinea pigs. *International Journal for Parasitology* **11**: 67-780.

Hildebrand, M. (1987). Digestive System in : *Analysis of Vetebrate Structure*. John Wiley S Sons Inc , pp221.239.

Instituto de patología de las fuerzas armadas de los Estados Unidos de America (AFIP)., (1995). *Métodos Histológicos*. Prohet, B. E., Mills., B, Arrington, J. B., Sobin, L. Eds., Registro de Patología de los Estados Unidos de America (ARP) Washington, D.C., 280pp

Ishikawa, N., Horri Y. And Nawa, Y. (1993) Immune-mediated alteration of the terminal sugars of goblet cell mucins in tha small intestine of *Nippostrongylus brasiliensis*- infected rats. *Immunology*. **78** 303-307.

Ito, A. & Smyth, J.D. (1987). Immunology of the lumen dwelling cestodeinfections. In immuno responses in *parasites infections: immunology, immunoprophylaxys, vol 11, Trematodes and cestodes*, Soulsby E.J.L., ed., 115-163pp, CRC Press Inc., Boca Raton, I.L.

Jenkins, D.J. & Rickard, D.M. (1986). Specific responses in dogs experimentally infected with *Echinococcus granulosus*, *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. **35** (2), 345-349p.

Kay, A.B., Moqbel, R., Durham, S.R., MacDonald, A.J., Walsh, G.M., Shaw, R.J., Cromwell, O., and Mackay, J. (1985). Leucocyte activation initiated by IgE-dependente mechanism in relation to helminthic parasitic desease and clinical models of asthma. *International Archives Allergy Application Immunology*. **77**, 69.

Kemper, A.C., and Specian R.D. (1992). Rat small intestine mucins a quantitative analysis. *American Journal of Anatomy*.

Koninkx, F., Mirck, M.H., Hendriks, H.G., Mouwen, J.M. and Van Dijk J.E. (1988) *Nippostrongylus brasiliensis*: histochemical changes in the composition of mucins in goblet cells during infection in rats. *Experimental Parasitology*. **65**, 84

Kvist, N., Olsen, P.S., Poulsen, S.S., and Nexø, E. (1987). Secretion goblet cell serine proteinase, ingobsin, is stimulated by vasoactive intestinal polypeptide and acetylcholine. *Digestive*. **37**: 223-227

Laclette, J.P., Ornelas, y Merchant, M.T. & Willms, K. (1982). Ultrastructure of the surrounding envelopes of *Taenia solium* eggs in *Cysticercosis: Present state of the knowledge and perspectives*. In Flisser, A., Willms, K., Laclette J.P. Larralde, C., Ridaura, C. & Bernal, F., Eds, Academic Press, New York, 307-361.

Lake, A.M., Blonch, K.J., Sinclair, K.J., Walker, W. A. (1980). Anaphylactic release of intestinal goblet cell mucus. *Immunology*, **39**: 173-178

Lamont, J.T., and Ventola, A. S. (1980). Purification and Composition of colonic epithelial mucin., *Biochemistry of Biophysics Acta*, **626**: 234-243

Lee, G.B. and Ogilvie, B.M. (1981). The mucus layer in intestinal nematode infections. In: *The mucosal immune system in health and disease* (Edited by Ogra, P.I. and Bienenstock, J,) pp.175-183. Ross Laboratories, Columbus.

Lee, D.L. (1976) Ultrastructural changes in the infective larva of *Nippostrongylus brasiliensis* in the skin of immune mice. *Rice University Studies*, **62**: 175-182.

Lev, R., (1968). A histochemical study of glycogen and mucin in developing human foetal epithelia. *Histochemical Journal*. **1**, 152-165.

Love, R.J., Kelly J.D. and Denen J.K. 1974. *Nippostrongylus brasiliensis*: effects of immunity on the preintestinal and intestinal stages of the parasites. *International Journal for Parasitology*. **4**:183-191

MacCoy, O.R. (1940). Rapid loss of trichinella larvae fed to immune rats and its bearing on the mechanism of immunity. *American Journal of Hygiene*. **32D**:105-116

MacFarlane, G.T., Hay, S., and Gibson, G. R. (1989). Influence of mucins on glycosidase, protease and arylamidase activities of human gut bacteria grown in a 3 stage continuous culture system. *Journal Approaches in Bacteriology*. **66**:407-417

Mackenzie, C.D. (1980). Eosinophil leucocytes in filarial infections. *Transactions of the royal society of tropical medicine and hygiene*. **74**:S51-S58.

MacLaren, D.J., Mackenzie, C.D. and Ramalho-Pinto, F.J. (1977). Ultrastructural observations on the *in vitro* interactions between rat eosinophils and some parasitic helminths (*Schistosoma mansoni*, *Trichinella spiralis*, *Nippostrongylus brasiliensis*) *Clinical and Experimental Immunology*. **30**:105-118

Magnusson, K. E. and Stjernstrom. (1982). Mucosal Barrier mechanisms. Interplay between secretory IgA (SIgA), IgG and mucins on the surface properties and association of salmonellae with intestine and granulocytes. *Immunology*. **45**: 239-248.

Manjili, M.H., France, M.P., Sangster, N.C., Rothwell, T.L.W. (1998). Quantitative changes in intestinal goblet cells during primary infection of *Trichostrongylus colubriformis* high and low responder guinea pigs. *International Journal for Parasitology*. **28**: 761-765

Maravilla, J. P., (1996). *Desarrollo de Taenia solium en diferentes modelos experimentales*. Tesis de Licenciatura, area químico farmacobiólogo microbiología, Facultad de Química UNAM 81 p.

Maravilla, J. P., Avila, G., Cabrera, V., Aguilar, L. and Flisser, A. (1998). Comparative development of *Taenia solium* in experimental models. *Journal of Parasitology*. **8(5)**:882-886

Merchant, M T, Aguilar L, Avila G., Robert L., Flisser A., y Willms K. (1998). *Taenia solium*: Description of the intestinal implantation site in experimental hamster infections, *Journal of Parasitology*. **84** (4), 681-685.

Merzel, J., and Leblond, C.P. (1969). Origin and renewal of goblet cell in the epithelium of the mouse small intestine. *American Journal of Anatomy*. **124**: 281-306.

Miller, H.R.P. and Nawa Y. (1979). *Nippostrongylus brasiliensis*: intestinal goblet-cell response in adoptively immunized rats. *Experimental Parasitology*. **47**:81.

Miller, H.R.P. (1984). The protective mucosal response against gastrointestinal nematodes in ruminants and laboratory animals. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. **6**: 167-259.

Miller, H.R.P. (1987). Gastrointestinal mucus, a medium for survival and for elimination of parasitic nematodes and protozoa. *Parasitology*. **94**: 577

Monroy-Ostria, A., Monroy-Ostria, T. J., Gómez, G., Hernández, M.O. (1993). Some studies on experimental infection of golden hamsters with *Taenia solium*, *Revista Latinoamericana de Microbiología*. **35**: 91-98

Moqbel R. (1980a). Histopathological changes following primary, secondary and repeated infection of rats with *Strongyloides ratti*, with special reference to tissue eosinophils. *Parasite Immunology*. **2**: 11-27

Moqbel, R. and MacLaren, D.J. (1980b). *Strongyloides ratti*: structural and functional characteristics of normal and immune-damage worms. *Experimental Parasitology*. **49**:153--166

Moqbel, R., Levi-Schaffer, F. and Kay, A. B. (1994). Cytokine generation by eosinophils. *Journal Allergy Clinical and Immunology*. **94**, 1183.

Nawa, Y., and Miller, H.R.P. (1978). Protection against *Nippostrongylus brasiliensis* by adoptive immunization with thoracic duct lymphocytes. *Cellular Immunology*. **42**: 225-239

Nawa, Y., Hirii, Y., Okada M. And Arizono, N. (1994). Histochemical and cytological characterizations of mucosal and connective tissue mast cells of

Mongolian gerbils. *Meriones unguiculatus*. *International Archives of Allergy and Immunology*.

Neutra, M.R., Grand, R.J., and Trier, J.S. (1977). Glycoprotein synthesis, transport and secretion by epithelial cells of the human rectal mucosa. *Laboratory Investigation*. **36**:535-546

Nexo, E., Poulsen, S.S., Hansen, S.N., Kirkegaard P., and Olsen P.S. (1987). Characterization of a novel proteolytic enzyme localized to goblet cells in rat and man. *Gut*. **25**: 656-664

Nimmerfall, F., and Rosenthaler, J. (1980). Significance of the goblet cell mucin layer, the outermost luminal barrier to passage through the gut wall. *Biochemistry. Biophysics and Research Communication*. **94**: 960-966

Oliver, M.G., and Specian R.D., Deitch, E., Forstner J.F. and MacCool, D. (1989). Intragranular localization of secretory IgA in human intestinal goblet cell. *Journal of Cell Biology*. **107**: 351

Oliver, M.G., and Specian R.D. (1990). The cytoskeleton of the intestinal goblet cells: The role of actin filaments in baseline secretions. *American Journal of Physiology*. 259

Podolsky, D.K. (1985). Oligosaccharide structures of human colonic mucin. *Journal of Biology and Chemistry*. **260**: 8262-8271.

Radwan, K. A., Oliver, M.G., and Specian R.D. (1990). Cytoarchitectural reorganization of rabbit colonic goblet cells during baseline secretion. **189**: 365-376

Rothwell, T. L.W., Adams D. B. Love, R. J., Love, D.N. & McLaren , D.J. (1988). Immunity against *Trichostrongylus colubriformis* in guinea pigs and sheep: some comparisons with *Nippostrongylus brasiliensis* infection in rat. *International Journal of Parasitology* **18**: 147-351.

Sajjan, S.U., and Forstner J.F. (1990). Role of the putative "link" glycopeptide of the intestinal mucin in binding of pilated *Escherichia coli* serotype O157:H7 strain CL-49. *Infection in Immunology*. **58**: 868-873

Sato, H., Kamiya H., Oku, Y., Kamiya, M. (1994). Infection course of the strobilar stage of *Taenia crassiceps* in golden hamster, with reference to host response. *Parasitology Research*. **809**:99-103

Shaw, R.J., Walsh,G.M., Cromwell,O., Moqbel,r., Spry, C.J. F., and Kay, A.B. (1985). Activated human eosinophils generate SRS-A leucotrienes following physiological (IgG-dependent) stimulation. *Nature*. **316**,150.

Sher, A., Cuffman,R.L., Hieny, S., and Cheever, A.W. (1990). Ablation of eosinophil and IgE responses with anti-IL5 and anti IL-4 antibodies fails to affect immunity against *Schistosoma mansoni* larvae in the mouse. *Journal of Immunology*. **145**, 3911.

Schenone, H., Villarroel, F., Rojas, A. & Ramírez, R. (1982). Epidemiology of human cysticercosis en Latin America. In *Cysticercosis : Present stage of the*

knowledge ad perspectives . In Flisser , A., Willms, K., Lactlette J.P. Larralde , C., Ridaura, c. & Bernal, F., Eds, Academic Presss, New York, 25-38.

Schmidt.,G.D. and Roberts, L.S. (1989). *Foundation of Parasitology.*, C.V. Mosby, St. Louis, 354-379

Shin, E.H. (1997). Protective roles of eosinophils in *Nippostrongylus brasiliensis* infectio. *Int. Archives in Allergy and Immunoly.***114**, 45-50.

Smithson, K.W., Millar, D.B., Jakobs, L.R., and Gray, G.M. (1981). Intestinal diffusion barrier: unstirred mater layer or membrane surface mucous coat? *Science Wash. D.C.*, **214**:1241-1244

Smyth, J.D. y McManus, D.P. (1989). *The physiology and Biochemestry of cestodes.* Cambridge University Press. New York. 25-38

Sokol, R.J., Hudson, G., Wales, J., and James, N.T. (1991). Ultraestructural morphomery of human leucocytes in health and disease. *Electron microscopy.* **4**, 179

Spry, C.J.F., Li, M-S., Sun, L., and Sato, T. (1993). Summing up: Eosinophils In *Eosinophils in Allergy and Inflammation* (G.J. Gleinch and A.B. Kay, Eds.),Chap. 26, pp473-478. Dekker, New York.

Strous, G.J., (1979). Initial glycosylation of proteins with acetylgalactosaminylserine linkages. *Procedures Natl Academic in Science. USA.*, **76**: 2694-2698

Taliaferro,W.H. and Sarles, M.P. (1939). The cellular reactions in the skin, lungs and intestine of normal and immune rats after infection with *Nippostrongylus muris*. *Journal of Infectious Diseases*, **64**:157-192

Turani, H., Lurie, B., Chaimoff, CH., Kessler, E. (1986). The diagnostic significance of sulfated acid mucins content in gastric intestinal metaplasia with early gastric cancer. *The Americn Journal of Gastroenterology.* **81**, 343-345.

Uber, C. L., Roth, R. L., and Levy, D.A. (1980). Expulsion of *Nippostrongylus brasiliensis* by mice deficient in mast cells. *Nature.* **287**: 226-228.

Variyam, E.P., and Hoskins, L.C. (1981). Mucin degradation in human colon ecosystems. Degradation of hog gastrics mucin by fecal extracts and fecal cultures. *Gastroenterology.* **81**:751-758

Wesley, A.M., Mantle, D. Man, Qureshi, R., Forstner, G., and Forstner J. (1985). Neutral and acids species of human intestinal mucin: evidence for different core peptides. *Journal of Biology and Chemistry.* **260**:7955-7959

Weller, P.F., (1993). Eicosanoids, cytokines and other mediators elaborated by eosinophils. In *Eosinophils, Biological and clinical aspects* (S. Makino and Y. Fukuda Eds.), pp.125-154. CRC Press, Baca Raton, FL.

Weiss, S.J., Test, S.T., Eckman, C.M., Ross, D., and Gasson, J.C. (1986). Brominating oxidants generated by human eosinophils. *Science.* **234**, 200

Wilkins, P.P., Allan, J.C., Verastegui, M., Acosta, M., Eason, A., García, H.H., González A.E., Gilman, H.R. and Tsang, V.C.W. (1999). Development of a serologic assay to detect *Taenia solium* teniasis. *American Journal of Tropical Medicine of Hygiene* 60 (2): 199-204.

Winet, H., (1976). Ciliary propulsion of objects in tubes: wall drag on swimming *Tetrahymena* (ciliata) in the presence of mucin and other long-chain polymers. *Journal of Experimental Biology*. **64**:283-302

Wong, D. T., W., Donoff, R. B., Yang, J., Song, B.Z., Matossian, K., Nagure, N., Elovic, A., McBride, J., Gallagher, G., Todd, R., et al. (1993). Sequential expression of transforming growth factors alpha and beta 1 by eosinophils during cutaneous wound healing in the hamster, *American Journal of Pathology*. **143**,130

Yoshida, T. (1996) Defective B-1 cell development and impaired immunity against *Angiostrongylus cantonensis* in IL-5 R α -deficient mice. *Immunity* **4**, 483-494.