



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y
DE LA SALUD ANIMAL

EFFECTO DEL ESTRÉS SOBRE LA INFECCION DE
CISTICERCOSIS POR *Taenia solium* EN CERDOS

T E S I S

PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO EN
CIENCIAS

P R E S E N T A

GUADALUPE NÚÑEZ MARTÍNEZ

TUTOR:

DRA. ALINE SCHUNEMANN HOFER DE ALUJA

COMITÉ TUTORAL:

DRA. MARTA CATALINA ROMANO PARDO
DR. DANIEL MOTA ROJAS



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.

DEDICATORIA

A mis padres Francisco Núñez Azcona y Ma. del Rosario Martínez Escobar a los cuales Amo y Respeto. Ellos son mi motor para ser mejor cada día.

A mis hermanos y amigos Francisco Núñez Martínez y Víctor Manuel Núñez Martínez a los cuales amo y admiro muchísimo.

A mi esposo Carlos A. Castillo Colorado, el amor de mi vida.

**“Por muy alta que sea una colina
siempre hay un sendero hacia su cima”**

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México y a CONACYT por hacer realidad este sueño.

A mi familia por compartir conmigo los momentos felices y sobre todo porque en cualquier situación difícil siempre estuvieron conmigo.

A la Dra. Aline S. de Aluja por creer en mí, por todo el apoyo que me brindo para crecer, por ser mi amiga, mi cómplice, en pocas palabras por ser mi ángel de la guarda. La quiero mucho y aunque no sea muy expresiva es una persona muy especial e importante para mí. Muchas gracias.

A la Dra. Nelly Villalobos por su amistad, comprensión, apoyo y sobre todo paciencia. Por todos los consejos, regaños y coscorriones dados. Gracias por todo su cariño y confianza. La quiero mucho.

A la Dra. Marta Romano por su amistad y apoyo para desarrollar este proyecto, siempre con la mejor intención de resolver inquietudes sobre la investigación.

A la Dra. Alba por su amistad y por el hecho de estar siempre dispuesta a explicarme y apoyarme en momentos difíciles.

A él Biólogo Ricardo por su tiempo para la realización de este trabajo

A él Dr. José Juan Martínez por la disposición y esmero en esta investigación.

A él Dr. Daniel Mota por la disponibilidad de su tiempo para este proyecto

A los profesores y técnicos del departamento de patología por sus valiosas enseñanzas.

A los miembros de mi jurado: Dra. Edda, Dra. Guillermina, Dr. Campuzano y Dr. Alba Hurtado por sus aportaciones en esta investigación.

A Isabel y Mary por su apoyo, comprensión y paciencia

A Miriam, Lety, Raúl, Diana, Orlando, Dan, Eva, Carlos y Efraín por su amistad y apoyo, sin cuya valiosa ayuda no hubiera sido posible la realización de este trabajo.

A Jazmín y Armando por todo su apoyo en los momentos difíciles pero, sobre todo por su amistad y cariño.

INDICE

I. Resumen	5
II. Introducción.....	6
III. Hipótesis.....	10
IV. Objetivo General	10
V. Objetivos particulares	10
VI. Marco teórico.....	11
1. Taenia solium.....	11
1.1. Clasificación.....	11
1.2. Estructura.....	11
1.3. Ciclo de vida.....	13
2. Huevos.....	15
2.1. Estructura histológica.....	15
3. Cisticercos	16
3.1. Estructura histológica.....	16
3.2. Etapas evolutivas del cisticerco	19
3.2.1. Vesicular	19
3.2.2. Coloidal	19
3.2.3. Caseoso o nodular granular	19
3.2.4. Calcificado	19
4. Concepto de estrés	20
5. Respuesta fisiológica al estrés.....	21
6. Mecanismo de acción del cortisol sobre:	24
6.1. Metabolismo de carbohidratos	24
6.2. Metabolismo de proteínas.....	25
6.3. Metabolismo de lípidos.....	25
6.4. Efecto de los glucocorticoides en el sistema inmune.....	25
a) Acciones antiinflamatorias.....	25
b) Acciones inmunosupresoras	26
7. Evaluación de la respuesta a estrés.....	27
7.1. Sustrato de medición de cortisol	27
a) Heces.....	28
b) Sangre (suero y plasma).....	29
VII. Material y Métodos.....	30
VIII. Resultados	41
IX. Discusión	55
X. Conclusiones	59
XI. Bibliografía.....	60

Índice de figuras

Figura 1.- Partes de la <i>Taenia solium</i>	12
Figura 2. Ciclo de vida de <i>Taenia solium</i>	14
Figura 3. Micrografía electrónica de barrido de un huevo de <i>Taenia solium</i>	16
Figura 4. Corte de cisticerco	17
Figura 5. Los tres grupos de cerdos.....	31
Figura 6. Diagrama del proceso de extracción.....	34
Figura 7. Contenido del kit de radioinmunoanálisis para cortisol.....	35
Figura 8. Insensibilización	39
Figura 9. Músculos y encéfalo examinados en el conteo y clasificación de cisticercos	39
Figura 10.- Prueba de evaginación.....	54

Índice de tablas

Tabla 1. Distribución de los grupos experimentales.....	31
Tabla 2. Distribución de los tubos	35
Tabla 3. Porcentaje de reacción cruzada vs cortisol	38
Tabla 4. Número de cerdos iniciales y cerdos finales	41
Tabla 5. Número de cisticercos implantados.....	52

Índice de gráficas

Gráfica 1. Nivel de anticuerpos contra cisticercos de cerdos del primer mes.....	42
Gráficas 2. Resultados de Zoometría en los tres grupos durante todos los meses	44
Gráfica 3. Pesos de los tres grupos en todos los meses.....	45
Gráfica 4. Mediana de los niveles de cortisol en suero en cada uno de los meses	46
Gráfica 5. Mediana de la concentración de cortisol en suero de todos los meses.	47
Gráfica 6. Mediana de los niveles de cortisol en suero de los 2 grupos control...	47
Gráfica 7. Mediana de los niveles de cortisol en heces en cada uno de los meses.	48
Gráfica 8. Mediana de la concentración de cortisol en heces de todos los meses..	49
Gráfica 9. Mediana de los niveles de cortisol en heces de los 2 grupos control...	49
Gráfica 10.- Curva Dosis-Respuesta para Cortisol en heces de cerdo	50
Gráfica 11. Paralelismo en muestras de heces de cerdo.....	51
Gráfica 12. Coeficiente de variación inter-ensayo de 5.37	51
Gráfica 13. Coeficiente de variación intra-ensayo de 3.77	52
Gráfica 14. Resultados de los cisticercos recuperados en la necropsia.....	53
Gráfica 15. Implantación de cisticercos en cerdos inoculados	58
Grafica 16. Porcentaje de evaginación.....	54

I. Resumen

Con el objetivo de establecer si factores estresantes influyen en la manera como manejan los cerdos la infección por *T. solium*, se estudiaron 3 grupos de cerdos que se infectaron cada uno con un segmento grávido de *T. solium* por vía oral. Un grupo vivió en las condiciones precarias del medio rural (G 1), otro fue transportado del medio rural a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia FMVZ (G 2) y el tercer grupo provenía de una granja tecnificada que también fue trasladado a la FMVZ (G 3). Los grupos 2 y 3 recibieron cuidados y alimentación adecuados. Se realizaron muestreos sanguíneos una vez por mes durante 8 meses. Al inicio del experimento se evaluaron anticuerpos por medio de Elisa. Se midieron las concentraciones de cortisol en suero y heces por Radioinmunoanálisis (RIA). Al cabo de los 8 meses, se les practicó la eutanasia a todos los animales, se examinaron los metacéstodos macroscópicos y por medio del estudio histológico, se clasificaron de acuerdo a Aluja y Vargas. Se observó menor concentración de cortisol en suero en el grupo 3, con una mediana de 12.41 mientras que los del grupo 1 y 2 son similares con 29.41 y 29.75 respectivamente ($p < 0.05$). El grupo 3 que presentó menores concentraciones de cortisol mostró una mayor implantación de cisticercos, con una mediana de 53 ($p = 0.5999$) y mayor destrucción con una mediana de 2.5, aunque sin diferencia significativa ($P = 0.1256$). Esto sugiere que entre mayor concentración de cortisol menor destrucción.

Palabras clave: Estrés, Cortisol, *Taenia solium*, heces, suero

Abstract

In order to establish whether stressors affect the way pigs infected with *T. solium* handle the infection, we studied 3 groups of pigs that were infected each with a gravid segment of *T. solium* orally. One group lived in precarious conditions in rural areas (G 1), another was transported from the countryside to the Faculty of Veterinary Medicine (FMVZ) of UNAM, Mexico (G 2), the third group came from a technical farm, and was also transferred to FMVZ (G 3). Groups 2 and 3 received proper care and feeding. Blood samples were taken once a month for 8 months. At the beginning of the experiment the animals were evaluated antibodies by ELISA. Concentrations of cortisol in serum and feces by radioimmunoassay (RIA). After 8 months, they euthanized all animals, metacestodes were examined by macroscopic and histological study were classified according to Aluja and Vargas. We observed lower serum cortisol concentration in group 3, with a median of 12.41 while those of group 1 and 2 are similar with 29.41 and 29.75 respectively ($p < 0.05$). Group 3 had lower cortisol concentrations showed a wider adoption of cysticerci, with a median of 53 ($p = 0.5999$) and more destruction with a median of 2.5, although no significant difference ($P = 0.1256$). This suggests that the higher cortisol concentration less destruction.

Keywords: Stress, Cortisol, *Taenia solium*, feces, serum

II. Introducción

La cisticercosis porcina debida a *cisticercus cellulosae*, el metacéstodo de *Taenia solium* es causa de pérdidas económicas en la carne de cerdo; (García *et al.*, 2003; Verastegui *et al.*, 2007) y la cisticercosis humana es un grave problema de salud pública en las zonas rurales de los países no desarrollados, ya que mantienen condiciones que favorecen su transmisión (Aluja *et al.*, 1999; Brando, 2005). México es uno de los países donde la cisticercosis por *T. solium* todavía existe en los cerdos y en los seres humanos, afectando a estos últimos neurológicamente. Entre 1995 y 2001 en el Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía (INNN), la neurocisticercosis (NC) fue la novena causa de mortalidad y la quinta en morbilidad hospitalaria. De los casos diagnosticados en dicho instituto en 1994 en México, presentó una frecuencia de neurocisticercosis del 2.4% (100/4098) y en el 2004 una frecuencia del 2.5% (120/4706) (Jiménez y Velásquez, 2004).

El bajo nivel económico de los individuos en comunidades donde la parasitosis todavía existe, la inadecuada higiene personal (García *et al.*, 2003) y la falta de escusados, lleva a los habitantes a defecar al ras del suelo, donde los cerdos que circulan libremente en los pueblos en busca de comida, tienen acceso a las deyecciones (Aluja y Larralde, 2006). Si el cerdo tiene acceso a las heces de una persona portadora de *T. solium*, ingiere los proglótidos grávidos y también los huevos, desarrollándose en el cerdo los metacéstodos o cisticercos dando como resultado la cisticercosis porcina (Aluja *et al.*, 1999). El ciclo se completa cuando el humano consume carne de cerdo con cisticercos vivos presentes en la carne cruda o insuficientemente cocida dando origen una teniasis (Martínez *et al.*, 2003). Cabe mencionar que si el humano consume cisticercos, desarrolla teniasis y si el humano o cerdo consumen huevos, desarrollan cisticercosis. En los seres humanos los cisticercos presentan una especial predisposición en afectar al sistema

nervioso central (SNC), aunque también se localizan en músculos, tejido subcutáneo y ojos. La sintomatología depende del número, tamaño, localización y viabilidad de los quistes ó bien de la respuesta inmune que desencadenen, aunque algunas ocasiones son asintomáticos (Del Brutto, 1999).

Por el aspecto macroscópico en los tejidos infectados con los metacéstodos pueden observarse como vesiculares, coloidales, caseosos o calcificados. En los vesiculares la membrana del metacéstodo es delgada, friable, transparente, contiene la larva invaginada, de 4 a 5 mm, que yace en un líquido transparente y son infectivos. Los de tipo coloidal su quiste se halla adherido, comúnmente rodeado de una cápsula de tejido conectivo fibroso que lo rodea y delimita del tejido donde se localiza, el contenido pierde líquido, adquiere un aspecto lechoso de consistencia gelatinosa; la larva se fragmenta fácilmente y es infectivo en menor grado. Por último en los calcificados sólo se identifica un nódulo duro, reducido a menos de la mitad del tamaño original y en términos de transmisión no tiene importancia debido a que el parásito ya está muerto. Las diferentes fases macroscópicas del metacéstodo implica grados variables de viabilidad que tienen importancia en la transmisión, ya que no todos los cisticercos que se ingieren darán lugar a tenias, en vista de que muchos no son infectivos (Aluja y Larralde, 2006).

La experiencia obtenida con cerdos infectados experimentalmente con el metacéstodo de *T. solium* y que son mantenidos en condiciones óptimas de alimentación y de cuidado, manejan la infección en forma diferente que aquellos que se infectan naturalmente en el medio rural, donde viven bajo condiciones precarias de alimentación y en la mayoría de las veces sin ningún cuidado. Los animales bajo condiciones experimentales transforman al metacéstodo vesicular de *T. solium* en caseosa en un lapso de 4 a 5 meses, en tanto, los cerdos que se infectan naturalmente en pueblos los conservan en

forma vesicular por mucho tiempo, frecuentemente en ausencia de reacción inflamatoria perilarvaria (Aluja *et al.*, 1999, Santamaría *et al.*, 2002).

Esta diferencia en el manejo de la infección podría estar relacionada con muchas condiciones que inducen estrés; siendo más intensas en los cerdos del medio rural (Copado *et al.*, 2004). Por ejemplo, escasez de alimentos, las largas caminatas que tienen que efectuar para encontrarlos, la lucha entre los integrantes de un grupo de cerdos (alta jerarquía), el maltrato que reciben de los habitantes de la comunidad y de otros animales como perros, entre otros. Los cerdos de las comunidades rurales, tienen condiciones de vida mucho más estresantes (Copado *et al.*, 2004) que las de los animales que viven en un ambiente de tranquilidad como los que se trasladan a la facultad, por lo que el objetivo de esta investigación es estudiar si los factores estresantes tienen influencia sobre el desarrollo y la destrucción de las larvas de *T. solium* en el organismo del cerdo.

El estrés crónico en el cerdo puede provocar anorexia, pérdida de peso, depresión, disminución en su capacidad reproductiva, úlceras pépticas (Chrousos y Gold 1992; Yates *et al.*, 2010) e inmunosupresión, esto último da como consecuencia incremento en la susceptibilidad a contraer enfermedades infecciosas principalmente (Kino y Chrousos, 2001).

El estrés se puede definir como la variedad de respuestas que se desencadenan frente a estímulos internos o externos que modifican la homeóstasis de un individuo (Broom y Johnson, 1993). El estrés puede ser considerado como un factor perjudicial, dependiendo de la forma en que un individuo es capaz de adaptarse, debido a que el estrés induce una amplia gama de cambios fisiológicos y de comportamiento que permiten una rápida adaptación o recuperación al cambio (Borell, 2001). Durante el estrés, diversas respuestas endócrinas participan para restablecer la homeostasis (Nelson y Demas, 1996). Las primeras hormonas que se producen para superar las situaciones de estrés son los glucocorticoides y catecolaminas,

siendo el cortisol el principal glucocorticoide secretado en la mayoría de los mamíferos (Chrousos, 2000). Estas hormonas sirven para determinar la actividad suprarrenal y por lo tanto, el nivel de estrés de los individuos (Möstl y Palme, 2002).

La concentración de los glucocorticoides y/o sus metabolitos se puede determinar en varias muestras biológicas, como la sangre (suero o plasma), saliva, orina y heces (Mormede *et al.*, 2007). Cierta proporción de las hormonas esteroides pueden aparecer en la saliva. Todas las hormonas esteroideas se metabolizan para ser eliminadas a través de la orina y las heces, sin embargo los metabolitos que aparecen en la orina son generalmente conjugados, mientras que los que se eliminan por heces no lo están. El tipo de metabolitos y la ruta de excreción varían considerablemente entre especies, por lo que es necesario estandarizar la prueba para cada una de ellas. Los métodos utilizados para determinar la concentración de hormonas como glucocorticoides en las muestras biológicas son Radioinmunoanálisis (RIA) y pruebas inmunoabsorbentes de unión enzimática (ELISA) (Brousset *et al.*, 2005). Dado el caso de que un no existe la estandarización de la prueba de RIA en heces de cerdos, es necesario validar dicha prueba en esta investigación. El radioinmunoanálisis es un método altamente sensible y específico. El método se basa al añadir una cantidad conocida de hormona esteroide marcada radioactivamente a los extractos (heces, suero, saliva, etc.) que contengan hormonas en concentración desconocida, se produce una competencia entre la hormona marcada y la no marcada por el anticuerpo. Entonces, es posible medir la cantidad de hormona marcada unida al anticuerpo que será inversamente proporcional a la cantidad de hormona no marcada de la muestra y así de esa forma, calcular la concentración de hormona de interés en la muestra (Zambrano y Díaz, 1996).

III. Hipótesis

- Los cerdos infectados con huevos de *T. solium* y que están expuestos a factores estresantes en su habitat natural, reducen la capacidad de destruir al cisticerco debido a los efectos adversos de los glucocorticoides producidos por el organismo ya que deprimen al sistema inmune.

IV. Objetivo General

El objetivo del presente trabajo es estudiar si los factores estresantes, influyen en el desarrollo y la destrucción de los metacéstodos de *T. solium* en el cerdo.

V. Objetivos particulares

1. Infectar cerdos criollos y cerdos York-landrace.
2. Identificar niveles de anticuerpos pre-infección.
3. Precisar el peso y la medición (zometría) en los diferentes grupos, con el fin de observar el ritmo de crecimiento.
4. Determinar las concentraciones de cortisol en suero y heces en los diferentes grupos.
5. Validar la técnica de Radioinmunoanálisis en fase líquida para la determinación de cortisol en extractos de heces de cerdo.
6. Comparar las concentraciones de cortisol en la materia fecal con las del suero de los cerdos.
7. Comparar si los cambios histológicos y macroscópicos de los metacéstodos se relacionan con el estrés determinados por medio de niveles de cortisol encontrados en los diferentes grupos de animales.

VI. Marco teórico

1. *Taenia solium*

1.1. Clasificación

Reino: Animalia

Filo: Platyhelminthes

Clase: Cestoda

Orden: Cyclophyllidea

Familia: Taeniidae

Género: *Taenia*

Especie: *T. solium*

1.2. Estructura

La *Taenia solium* presenta un cuerpo largo y aplanado cuya longitud aproximada es de 1.5 a 5 metros. Provista de un tegumento o epitelio que le permite absorber los nutrientes del medio. En la figura 1 se muestran las partes de la *T. solium*, la cual está constituida por:

Escólex o cabeza: La cual posee cuatro ventosas y róstelo coronado por dos hileras de ganchos, el número de ganchos rostelares puede variar entre 22 y 32, y su tamaño entre 159 y 173 μm (media $165.7 \pm 5.0 \mu\text{m}$). Tanto las ventosas como el róstelo son estructuras de fijación que capacitan a la *Taenia* para mantenerse anclada en la pared del intestino delgado (yeyuno). A diferencia de *Taenia solium*, la *Taenia saginata* no posee un róstelo y por tanto carece de una corona de ganchos.

Cuello: Parte inferior de la cabeza y es a partir de aquí, que se producen los proglótidos o segmentos.

Estróbilo: Es el cuerpo de la tenia, está segmentado, cada segmento se le llama proglótido y van mostrando un grado creciente de desarrollo y diferenciación a medida que se alejan del escólex, por lo que se pueden encontrar:

Proglótidos inmaduros que están más cercanos al cuello, son los más jóvenes e indiferenciados, de tamaño variable y sin órganos sexuales desarrollados

Proglótidos maduros se encuentran en la parte media del estróbilo, poseen órganos reproductores masculinos y femeninos, que lo convierten en

una auténtica unidad de reproducción: la tenia es un parásito hermafrodita. Los genitales masculinos se desarrollan primero y están constituidos por un gran número de testículos (275 a 575) que se anastomosan en un conducto genital que desemboca por un costado en el atrio genital del proglótido. Los órganos reproductores femeninos están constituidos por un ovario aparentemente trilobulado situado en la base del útero en el extremo posterior del proglótido. El ovario desemboca a través de la vagina en el atrio genital. El útero en los proglótidos grávidos de *T. solium*, muestran entre 7 y 11 ramas que nacen de un útero central, y *T. saginata*, desarrolla 12 o más ramas. El número de ramas uterinas y la presencia de ganchos permiten diferenciar morfológicamente a *Taenia solium* y *Taenia saginata*.

Proglótidos grávidos son los más alejados del escólex, muestran un útero "grávido" ramificado lleno de huevos (~ 50.000 en cada uno). Generalmente miden de 7 a 12 mm de largo por 5 a 6 mm de ancho.



Figura 1.- Partes de la *Taenia solium* (Flisser et al., 2006)

1.3. Ciclo de vida

El ser humano es el huésped definitivo de *Taenia solium* y habita en el intestino delgado. Este al defecar expulsa en las heces los segmentos grávidos desprendidos espontáneamente por el gusano adulto (en promedio de 4 o 5 por día), los cuales contienen 50,000 huevos aproximadamente. La primera expulsión de proglótidos ocurre de 2 a 3 meses después de la infección con cisticercos (Silverman, 1954).

El cerdo al consumir heces infectadas con proglótidos grávidos, al llegar al intestino delgado, las enzimas proteolíticas y sales biliares, son la señal para la activación del embrión hexacanto contenido en el huevo. Los embriones activados penetran la pared intestinal del huésped hasta alcanzar capilares linfáticos y sanguíneos que los distribuyen a una gran variedad de órganos y tejidos (tejidos subcutáneo, musculo esquelético y cardiaco, hígado, cerebro, ojos, etc.) formándose los cisticercos en 10 semanas aproximadamente. El ciclo se completa cuando el humano consume carne de cerdo con cisticercos viables presentes en la carne cruda o insuficientemente cocida proveniente de un cerdo cisticercoso. Las sales biliares y enzimas proteolíticas provocan la evaginación del escólex del cisticerco, el cual se fija en la pared intestinal. Una vez anclado el parásito crece y se diferencia hasta *Taenia* adulta productora de proglótidos grávidos. Cabe indicar que si el humano consume cisticercos, desarrolla teniasis y si el humano o cerdo consumen huevos, desarrollan cisticercosis. En la figura 2 se observa el ciclo de vida del parásito.

Aunque el cerdo es el principal huésped intermediario del cisticerco de *Taenia solium*, también se ha reportado en varias especies de mamíferos, incluyendo a el hombre; perros, gatos domésticos, camellos, conejos, liebres, osos pardos, zorros, coaties, ratas y ratones (Mazzotti *et al.*, 1965; Smyth, 1969).

CICLO DE VIDA

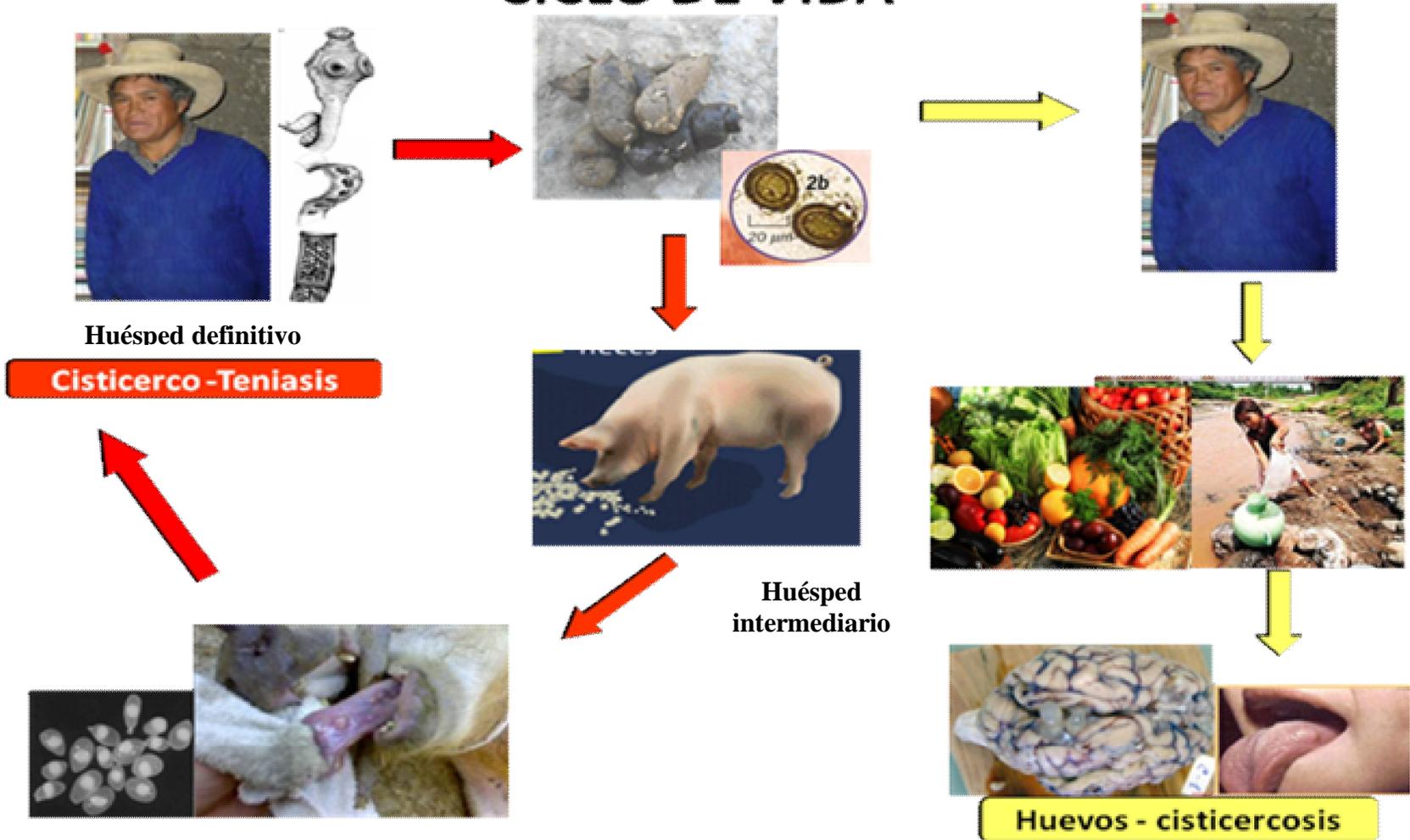


Figura 2.- Ciclo de vida de *Taenia solium*

2. Huevos

En 1835, Karl Theodor Ernst von Siebold descubrió que los huevos de *Taenia* son esféricos y con apariencia radial y miden 20-40µm, cuando se observan a través del microscopio óptico, contienen una oncosfera, un embrión con seis ganchos pequeños. Los huevos contenidos en los proglótidos grávidos se encuentran en distintos grados de maduración; alrededor del 50% contienen oncosferas infectivas totalmente desarrolladas. Los huevos inmaduros pueden madurar fuera del huésped y permanecer viables e infectivos en aguas negras, ríos o pasturas por semanas (Flisser *et al.*, 2006).

2.1.- Estructura histológica

Los huevos se observan en la figura 3, son morfológicamente similares a los de otras especies de tenidos. Poseen varias envolturas que posibilitan la supervivencia de la oncosfera en el medio ambiente.

- **Vitelo o cápsula.-** Es la envoltura más externa, constituida por un grupo de células formando un sincicio.
- **El embrioforo.-** Es la siguiente envoltura, por un lado, es impermeable y muy resistente, lo que posibilita la sobrevivencia en un ambiente desfavorable; por otro, los bloques proteícos están unidos entre sí por una sustancia cementante sensible a la digestión enzimática. Esta envoltura, es la más importante en la protección de la oncosfera, además confiere a los huevos su apariencia estriada característica. El embrioforo es producido por una envoltura celular más profunda llamada célula embrioforal.
- **La membrana oncosferal.-** Rodea directamente al embrión hexacanto (Willms *et al.*, 2003).

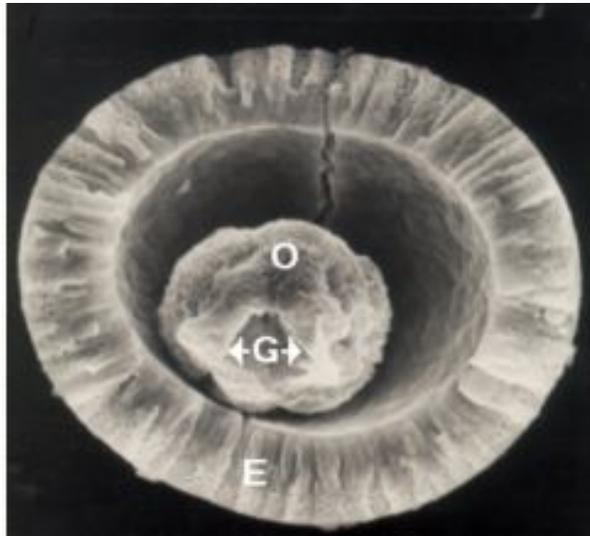


Figura 3. Micrografía electrónica de barrido de un huevo de *Taenia solium*. E: embrioforo, G: ganchos oncosferales, O: oncosfera (Vázquez y Laclette, 2011).

3. Cisticercos

El cisticerco de *T. solium* es una vesícula ovalada y translúcida, llena de líquido y mide de 0,5 a 2 centímetros de largo, dotada de un pequeño escólex en su interior. Al igual que la tenia adulta, el escólex del cisticerco posee cuatro ventosas y dos hileras de ganchos (Flisser *et al.*, 2006).

3.1. Estructura histológica

La estructura histológica se observa en la figura 4, la cual se compone del tegumento que es la zona de contacto del parásito con el huésped, desempeña un papel central en el mantenimiento de la interacción huésped-parásito. La superficie del tegumento le sirve a la larva para obtener sus nutrientes y excretar sus desechos, ya que carecen de tracto digestivo, esta superficie externa presenta una membrana plasmática y microtriquias, estructuras parecidas a las microvellosidades del intestino con función de absorción.

Por debajo del tegumento se encuentran varias capas de tejido muscular liso, así como los llamados citones subtegumentales. Estas células sintetizan activamente proteínas y otros componentes que posteriormente son transportados hacia el tegumento a través de puentes citoplásmicos. Se han descrito proteínas del citoesqueleto, como la miosina tipo II, y la actina, la cual se encuentra en siete

isoformas diferentes. A mayor distancia de la superficie se encuentra una serie de conductos o canales, aparentemente relacionados con células ciliadas, llamadas células flama, que constituyen un sistema protonefridial.

T. solium produce concreciones minerales denominadas corpúsculos calcáreos que se forman en el lumen de los ductos protonefridiales y no intracelularmente como se ha descrito para otros céstodos. Debido a su localización, es probable que dichos corpúsculos participen en procesos de desintoxicación. Cabe notar que todos los elementos celulares por debajo del tegumento se distribuyen en forma poco organizada y sincicial en medio de un abundante tejido conectivo parasitario (Willms *et al.*, 2003).

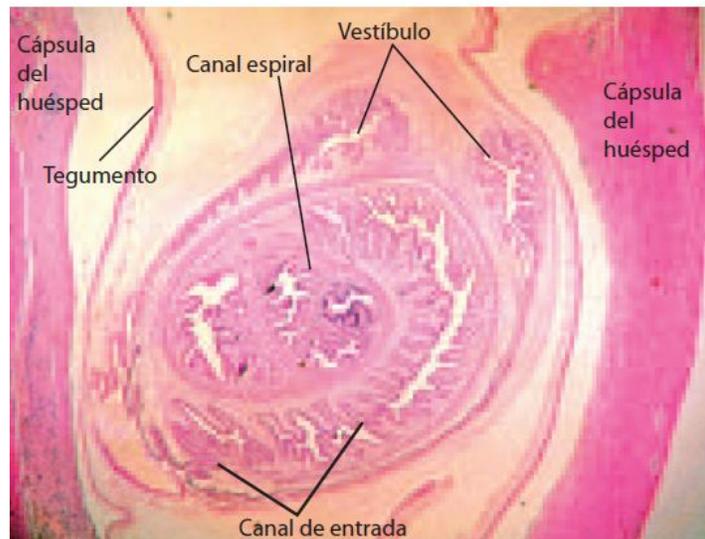


Figura 4. Corte de cisticerco (tomada de Flisser *et al.*, 2004 citada por Larralde y Aluja, 2006)

Por otra parte, Aluja y Vargas, (1988) describieron la reacción de los tejidos causada por la fase larvaria de la *Taenia solium* en los músculos de cerdos. Las lesiones se clasificaron de acuerdo a la severidad de la respuesta inflamatoria del tejido, la degeneración de larvas y su sustitución por tejido cicatrizal en los grados 0-6.

Grado 0

No hay reacción inflamatoria

Grado 1

- Se observa discreto infiltrado focal en la zona del canal de entrada

principalmente por eosinófilos, neutrofilos, con escasos linfocitos y células plasmáticas.

Grado 2

- La reacción focal aumenta en extensión, mayor cantidad de linfocitos y células plasmáticas
- Los eosinófilos son numerosos y en el borde de la cavidad que contiene al parásito
- Aparecen macrófagos en el infiltrado.
- Dentro de la zona periférica de inflamación, arteriolas y capilares muestran hiperemia y diapedesis.

Grado 3

- Se inicia una reacción granulomatosa de intensidad variable que empieza a extenderse alrededor de toda la cavidad larvaria
- Eosinófilos acumulados alrededor del borde interno de la reacción, varios de ellos se adhieren a la pared del parásito y lo penetran entre los surcos formados en el tegumento y la degranulación eosinofílica puede ser observada.

Grado 4

- La reacción inflamatoria rodea casi completamente a la cavidad que contiene al parásito. Entre los macrófagos aparecen células gigantes y fibroblastos.

Grado 5

- El parásito está completamente degenerado y no es posible ya reconocer detalles estructurales, excepto corpúsculos calcáreos y ganchos dentro del exudado. La calcificación de la lesión no es común en cerdos. Los fibroblastos, fibrocitos y células gigantes son numerosos.

Grado 6

- El lugar que ocupaba el parásito está totalmente invadido por tejido fibroso. Las células inflamatorias son muy escasas, en algunas de estas cicatrices pueden detectarse ganchos y corpúsculos calcáreos (Aluja y Vargas, 1988).

3.2. Etapas evolutivas del cisticerco

3.2.1. Vesicular (Grado 1 y 2)

Aspecto macroscópico.-La membrana del metacéstodo es delgada, friable, transparente, contiene la larva invaginada, de 4 a 5 mm, que yace en un líquido transparente.

Aspectos microscópico.- El tejido adyacente muestra apenas ligera reacción inflamatoria (Aluja y Vargas, 1988).

3.2.2. Coloidal (Grado 3 y 4)

Aspecto macroscópico.-El quiste se halla adherido y comúnmente rodeado de cápsula conectiva que lo engloba en el tejido donde se localiza. El contenido pierde fluidez, adquiere aspecto lechoso, gelatinoso en consistencia; la larva se fragmenta fácilmente.

Aspecto microscópico.- La membrana está hialinizada al igual que la larva, con mineralización temprana.

3.2.3. Caseoso o nodular granular (Grado 5)

Aspecto macroscópico.-El quiste está disminuido de tamaño, la membrana propia se encuentra íntimamente adherida a la cápsula de colágena secundaria formada por el tejido del huésped, la parte central presenta un contenido caseoso que impide la identificación del escólex.

Aspectos microscópico.- los remanentes de membrana y el escólex pueden identificarse utilizando la tinción tricrómica de Masson, mediante la cual la membrana se tiñe de color rojo y el escólex de azul por la infiltración de colágena. En el caso de cisticercos parenquimatosos, en el encéfalo se aprecia abundante infiltrado de polimorfonucleares en el interior de la vesícula y es difícil de identificar la estructura propia del parásito.

3.2.4. Calcificado (Grado 6)

Aspecto macroscópico.-Solo se identifica un nódulo de consistencia dura, reducido de tamaño original y la superficie de corte es blanca.

Aspectos microscópico.-Nódulo totalmente calcificado que puede tener escasa reacción inflamatoria a su alrededor (Aluja y Vargas, 1988).

4. Concepto de estrés

Varios autores han definido el término de estrés:

- Hans Selye (1907-1982) lo definió (del griego *stringere*= tensión) como la respuesta no específica del organismo a cualquier demanda del exterior.
- Broom y Johnson (1993) lo definen como la variedad de respuestas que se desencadenan frente a estímulos internos o externos que modifican la homeóstasis de un individuo.
- Charmandaris (2005), Constantine (2007) y Chrousos (2009) concuerdan que es un estado contra la amenaza o es percibido como tal para la homeostasis, donde el factor que causa el estrés puede ser considerado como perjudicial, dependiendo de la forma en que un organismo es capaz de hacer frente a la situación de amenaza (Von Borell, 2000).

Selye clasifico al estrés en dos tipos:

- **Distrés o estrés negativo**, está asociado a emociones negativas, así como al desarrollo de alteraciones fisiológicas considerables (Venero *et al.*, 2001) es decir, tiene consecuencias perjudiciales y dañinas por un estrés excesivo (Mucio, 2007)
- **Eustrés o estrés positivo**, asociado a la vivencia de emociones gratificantes, así como a la promoción de un estado físico saludable (Venero *et al.*, 2001) y se aplica al estrés mínimo que es hasta cierto punto benéfico (Mucio, 2007).

Sterling y Eyer 1988 introdujeron otro concepto para entender la relación entre estrés y enfermedad:

- **Alostasis:** Se refiere a los procesos de adaptación que utiliza el organismo ante las situaciones de estrés con el objetivo de retornar a la homeostasis (Venero *et al.*, 2001), ó bien, es el proceso que mantiene la homeostasis (Mucio, 2007).

- **Carga alostática:** Cuando la alostasis trabaja en exceso genera un costo para el organismo, por lo que la carga alostática es el precio que paga el organismo cuando se ve forzado a adaptarse ante circunstancias adversas (Venero *et al.*, 2001; Mucio, 2007)

5.- Respuesta fisiológica al estrés

Ante las amenazas o factores estresantes, el organismo reacciona mediante un complejo repertorio de respuestas fisiológicas y de comportamiento, conocida como "lucha o huida" respuesta descrita por Walter Cannon en el año 1900 (Constantine, 2007). Los estímulos pueden ser de naturaleza física, biológica o psicológica. Los estímulos físicos son aquellos de índole externa al sujeto que, de un modo u otro, inciden sobre las constantes del organismo dentro de los cuales se señalan las temperaturas extremas, el ruido, la altitud, los choques eléctricos, la inmovilización, humedad, radiación, pinchazos, quemaduras, heridas o fracturas y todo tipo de agresiones físicas. Los estímulos biológicos incluyen aquellas situaciones en las que se interfiere en la propia regulación homeostática del organismo, como por ejemplo la privación de alimentos o líquidos, de igual modo que la ingesta excesiva de cualquiera de ellos, la privación de sueño, o el cambio brusco de los horarios o alimentación. Y por último los estímulos psicológicos están determinados, en gran medida, por el "significado personal" que el individuo otorga a las situaciones, en cuyo caso suele estar asociado con emociones, como el miedo, angustia, ansiedad, presencia de personas o animales extraños, malos tratos, etc. (Venero *et al.*, 2001; Mucio, 2007). Selye (1950) propuso el concepto del "Síndrome de estrés biológico" mejor conocido como "Síndrome general de adaptación" Este síndrome contempla secuencialmente el impacto que las amenazas o agresiones externas ejercen sobre el organismo, incluyendo las respuestas adaptativas iniciales, como las consecuencias negativas del mantenimiento sostenido de la situación de estrés, en donde distingue tres fases:

- 1) **REACCION DE ALARMA:** Esta fase se produce en los momentos iniciales en los que el individuo se enfrenta a una situación de amenaza o peligro. Se

caracteriza por una activación del sistema simpático adrenomedular, con la consiguiente secreción de adrenalina y noradrenalina con el objetivo de incrementar la disponibilidad de energía para luchar o huir del peligro. La fase de alarma comienza cuando hay un estímulo, el cual se va a procesar dependiendo del tipo de estímulo. El físico y biológico activa a las neuronas del tallo cerebral y el psicológico las áreas del sistema límbico, esta información es enviada al núcleo paraventricular del hipotálamo, que a su vez transmite la información a través de las vías autónomas descendentes a las neuronas pre-ganglionares simpáticas de la médula espinal, las cuales hacen sinapsis con las neuronas post-ganglionares. Cuando estas neuronas post-ganglionares simpáticas son activadas liberan noradrenalina en los distintos órganos que inervan. La activación de receptores β_1 -adrenérgicos en el corazón produce aumento de la fuerza de contracción, la frecuencia cardíaca y vasodilatación de las arteriolas coronarias. Además, la activación simpática causa la relajación de la musculatura bronquial en los pulmones, así como un incremento en la frecuencia respiratoria, lo cual permite una mejor ventilación pulmonar. La activación de los receptores α -adrenérgicos produce contracción de los vasos sanguíneos en aquellos órganos y tejidos cuya función no es vital, como la piel, riñones, sistema digestivo, etc. Esta acción permite una redistribución de la circulación sanguínea hacia los órganos que precisan mayor riego sanguíneo.

Por otra parte, el sistema simpático produce cambios metabólicos como por ejemplo, en el hígado en donde se estimula la glucogénesis (glucógeno-glucosa) para obtener glucosa para ser utilizada en aquellos tejidos u órganos que demanden mayor cantidad de aporte energético. Otro cambio metabólico, es el aumento en el flujo sanguíneo provocando mayor aporte suplementario de oxígeno y glucosa, tanto en el músculo esquelético (esta acción permitirá que se pueda desarrollar un mayor esfuerzo físico), como en el cerebro. Debemos recordar que las neuronas pre-ganglionares simpáticas también

activan a la médula adrenal, la cual sintetiza principalmente adrenalina y, en menor grado, noradrenalina. Estas hormonas son almacenadas en gránulos cromafines, las cuales son liberadas a la circulación cuando reciben la señal activadora del sistema simpático. Así la adrenalina y noradrenalina pueden activar estructuras que no están directamente inervadas por el sistema simpático, y reforzar los efectos que ya se han producido anteriormente. Los efectos de la adrenalina son los siguientes:

- Incrementa la tasa y la fuerza de contracción cardíaca
- Produce dilatación de los vasos sanguíneos (β_2 -adrenérgicos)
- Contrae el músculo liso vascular
- Dilata las vías respiratorias
- Contribuye a la generación de sudor, disminuye procesos fisiológicos que no son vitales a corto plazo (inflamación, reproducción, digestión, etc.)
- Estimula la glucogénesis en el hígado y músculo esquelético
- Aumenta la gluconeogénesis hepática
- Inhibe la secreción de insulina y estimula la de glucagón en el páncreas
- Estimula la lipólisis en los adipocitos

Si tras la reacción de alarma inicial, el animal ha conseguido superar la situación de estrés, la activación del sistema simpático disminuye y, por lo tanto, los efectos fisiológicos y metabólicos tienden a desaparecer. Sin embargo, si la situación estresante se mantiene (estrés crónico), el sistema simpático mantiene una actividad elevada sin regresar a sus niveles normales. Si un estímulo estresante sobrepasa un determinado umbral en intensidad y/o duración, se activa además, otro sistema que ayudara al organismo en su respuesta de estrés: el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (HHA).

2) **LA FASE DE RESISTENCIA:** En esta fase la respuesta fisiológica predominante es la del eje hipotálamo-hipofisario-adrenal. Los glucocorticoides son las hormonas más activas en este eje, principalmente el

cortisol, el cual ejerce acción sobre los carbohidratos, lípidos y proteínas con el fin de asegurar la distribución paulatina de sus recursos, de modo que no se agoten.

- 3) **LA FASE DE AGOTAMIENTO O EXTENUACIÓN.** Esta fase se presenta si el estresor es de suficiente intensidad y duración, por lo que el animal ha perdido ya su capacidad de resistencia o su capacidad de adaptación que conlleva a lo que Selye denominó "Enfermedades de la adaptación" (Venero *et al.*, 2001).

6. Mecanismo de acción del cortisol sobre:

6.1. Metabolismo de carbohidratos

Los glucocorticoides en el metabolismo de los hidratos de carbono, tienen un efecto hiperglucemiante y diabetogénico, se conocen tres efectos principales:

1. Aumenta la gluconeogénesis hepática: El efecto del cortisol en el hígado es anabólico, activa la captación de aminoácidos y la síntesis proteica, dando lugar a un aumento de la síntesis de las enzimas que participan en la gluconeogénesis y la glucogenogénesis, como son: piruvato descarboxilasa, fosfoenol piruvato carboxilasa, fructosa 1,6 difosfatasa y glucosa 6 fosfatasa y enzimas que catalizan las reacciones finales de la gluconeogénesis

2. Disminuye la entrada de la glucosa en las células periféricas: En los tejidos periféricos, el cortisol disminuye la entrada de glucosa en las células, exceptuando el sistema nervioso y el miocardio, de este modo tiende a aumentar la glucemia para que la glucosa pueda ser utilizada por dichos órganos vitales.

3. Estimula la síntesis hepática de glucógeno: El glucógeno se almacena, quedando disponible para ser liberado por las hormonas glucogenolíticas, como son el glucagón y la adrenalina. Tanto el cortisol como la glucosa activan la formación de glucógeno, ya que promueven la síntesis de la glucógeno sintetasa y la conversión de la glucógeno sintetasa beta inactiva en activa, mediante una reacción que además inactiva la glucogénesis. En este caso el cortisol actuaría como protector contra la hipoglucemia en situaciones de ayuno prolongado y el papel de la insulina sería de

control rápido, disminuyendo la concentración de glucosa y transformándola en reservas de glucógeno (López et al., 2006).

6.2. Metabolismo de proteínas

Los glucocorticoides estimulan el catabolismo proteico e incrementan los aminoácidos libres en sangre; los aminoácidos se desaminarán en los tejidos periféricos formándose alanina, que será captada por el hígado para la formación de glucosa. Se formará también glutamina, que servirá como sustrato para la gluconeogénesis renal. Además, al aumentar la producción de alanina, también aumenta la generación hepática de glucosa, ya que este aminoácido estimula la gluconeogénesis al inhibir la piruvato quinasa hepática (López et al., 2006).

6.3. Metabolismo de lípidos

En el tejido adiposo, el cortisol favorece la acción lipolítica de la adrenalina y la hormona del crecimiento (GH), además, al impedir la entrada de glucosa en el adipocito, dificulta la síntesis de triglicéridos. Sin embargo, los efectos del cortisol sobre el metabolismo de los lípidos son complejos, ya que ejerce acciones anabólicas en ciertos tejidos adiposos como el de la cara, cuello y nuca. Mientras que, por el contrario, en otros tejidos como el músculo esquelético predomina la acción catabólica (López et al., 2006).

6.4. Efecto de los glucocorticoides en el sistema inmune

a) Acciones antiinflamatorias

Las acciones antiinflamatorias de los glucocorticoides se deben a:

- Su efecto inhibitor sobre la síntesis de prostaglandinas. El cortisol inhibe la producción de ácido araquidónico a partir de los fosfolípidos de membrana. El cortisol induce la síntesis de una proteína, llamada lipocortina o lipomodulina que inhibe la fosfolipasa A₂.
- Disminuye la expresión del gen de una ciclooxigenasa, que aumenta en respuesta a las citocinas.
- Inhiben el aumento de la permeabilidad vascular por su capacidad de inhibir la síntesis de prostaglandinas y leucotrienos, así como la liberación de

histamina por los basófilos y células cebadas, por lo tanto disminuyen el edema y la infiltración de leucocitos.

- Inhibe la capacidad de los granulocitos y monocitos de adherirse a la pared vascular, dificultando su llegada a la zona inflamada.
- Estabilizan la membrana de los lisosomas de los fagocitos, impidiendo que liberen sus enzimas y disminuyendo su actividad citotóxica.
- En los fibroblastos disminuyen la formación de fibrina y colágeno, por lo que retrasan la cicatrización de las heridas e impiden que la lesión o infección quede circunscrita (López et al., 2006).

b) Acciones inmunosupresoras

A nivel celular, los principales efectos inmunosupresores de los glucocorticoides incluyen alteraciones en el tráfico de leucocitos (Charmandaris, 2005).

- **Neutrofilia:** Los glucocorticoides aumentan su producción y liberación por la médula ósea y a nivel circulatorio disminuyen el número de neutrófilos que están adheridos a la pared vascular.
- **Eosinopenia:** Se debe a una disminución de la liberación de eosinófilos de la médula ósea.
- **Monocitopenia:** Por inhibición tanto de la producción como de la liberación de monocitos de la médula ósea.
- **Linfocitopenia:** parece ser debida fundamentalmente al secuestro de los linfocitos por el sistema mononuclear fagocítico, que los retira de la circulación sanguínea a los tejidos linfoides o incluso a la médula ósea.

Los glucocorticoides también alteran funciones vitales de dichas células.

Basófilos y células cebadas: Disminuyen la liberación de histamina

Macrófagos y monocitos: Atenúan la acción bactericida de estas células, por lo que disminuyen la resistencia a las infecciones. Además, inhiben la expresión de los receptores Fc, la producción de IL-1 de TNF, así como su capacidad para producir diversas sustancias pro-inflamatorias como la elastasa, la colagenasa y el activador del plasminógeno. Al disminuir la IL-1 disminuye su efecto pirógeno y atenúan la

proliferación de linfocitos T en respuesta a un estímulo antigénico.

Linfocitos: Inhibe la función linfocitaria y tiene un efecto muy potente sobre la transcripción de la IL-2, la cual es fundamental para la expansión clonal de los linfocitos, esta disminución da un descenso de la proliferación de linfocitos. Los efectos de los glucocorticoides son más acusados en los linfocitos T que en los B. Dentro de los linfocitos T, son más sensibles al cortisol los linfocitos T CD4 o cooperadores que los linfocitos T CD8 o citotóxicos-supresores.

El tratamiento con glucocorticoides produce modificaciones en el metabolismo celular de los timocitos (linfocitos T inmaduros), de modo que produce su muerte por apoptosis, éstos efectos también afectan a linfocitos T maduros y a los linfocitos B que están madurando (López et al., 2000).

7. Evaluación de la respuesta a estrés

La evaluación la actividad hormonal de la corteza suprarrenal es utilizada en una gran variedad de disciplinas (por ejemplo, de comportamiento, bienestar animal, la ecología, la biología de la conservación, la ornitología y la primatología) (Washburn and Millspaugh, 2002).

El procedimiento invasivo tradicional se ha dejado un poco de lado, debido a la implementación de métodos no invasivos ya que una de sus limitantes de las técnicas de muestreo invasivas es que los niveles hormonales se ven afectados rápidamente en respuesta al estrés de la manipulación, restricción física, y el procedimiento de toma de muestras de sangre en sí, que sustancialmente modifica los parámetros fisiológicos y de comportamiento (Touma y Palme, 2005).

7.1. Sustrato de medición de cortisol

Las hormonas como los glucocorticoides se pueden medir en varias muestras biológicas, entre los que se incluyen el plasma, la saliva, la orina, el pelo, la leche y heces. Los métodos actuales para el análisis de los glucocorticoides en las muestras biológicas son radioinmunoensayo (RIA), ensayo de inmunoabsorción (ELISA), y cromatografía líquida a alta presión con detección UV. En estas técnicas es de suma importancia considerar al anticuerpo primario dirigido contra el cortisol utilizado en

los ensayos, debido a su alta especificidad por especie (Mormede *et al.*, 2007).

a) Heces

Las técnicas de evaluación no invasivas de estrés, incluyendo análisis de glucocorticoides en las muestras de heces, tiene un gran potencial para proporcionar información importante sobre la actividad de la corteza suprarrenal en las especies silvestres (Wasser *et al.*, 2000). Sin embargo, existen muchos factores que pueden influir en las concentraciones hormonales, como la dieta (Wasser *et al.*, 1993), la edad (Dufty y Belthoff, 1997), el estado reproductivo (Wingfield *et al.*, 1994), la condición corporal (Smith *et al.*, 1994), el ritmo natural de todos los días (Romero y Remage, 2000), temporada (Millspaugh and Washburn, 2003) y género (Palme, 2005) entre otros.

En general, las hormonas esteroides que circulan son metabolizados por el hígado y se excreta como conjugados a través de los riñones en la orina a través de la bilis en el intestino. A pesar de que los esteroides en el intestino entran en circulación entero-hepática (es decir, reabsorción en el torrente sanguíneo) y son intensamente metabolizada por la flora microbiana, la estructura primaria de la hormona no es degradada. Por lo tanto, metabolitos derivados de los esteroides pueden ser detectados en las heces de los mamíferos (Touma y Palme, 2005, Mostl *et al.*, 2005)

Extracción

En los mamíferos, los esteroides o sus metabolitos, presentes en las heces nos se encuentran distribuidos uniformemente dentro de la muestra. Por lo tanto, se recomienda homogeneizar las heces antes de su análisis. La homogeneidad de la muestra es muy importante para la determinación de metabolitos en las heces y por lo tanto debemos considerar cierta cantidad de muestra para que sea representativa de una muestra aleatoria. La congelación de las heces no destruye las enzimas bacterianas, las cuales metabolizan esteroides. Si estas enzimas no se inactivan antes de almacenar las muestras (secado, el alcohol, o el calor), el metabolismo puede continuar después de la descongelación. Descongelar las muestras por calefacción (95 ° C) destruye la enzima bacteriana. Otra posibilidad es la de mantener intervalos

cortos entre la descongelación y la adición de disolvente orgánico. En general, los procedimientos de extracción se desarrollan para concentrar las muestras de interés y al mismo tiempo excluir posibles compuestos interferentes. La mayoría de los autores utilizan mezclas de metanol o etanol con agua para disolver los esteroides a partir de las heces, lo cual es más una suspensión de una extracción (Mostl *et al.*, 2005).

b) Sangre (suero y plasma)

La concentración de cortisol en la sangre se utiliza ampliamente como un indicador de estrés, aunque se recomienda precaución, ya que el manejo produce un tipo de estrés (Mostl y Palme 2002). El plasma es la muestra para medir los glucocorticoides en estudios de bienestar animal. En altas concentraciones, como por ejemplo durante estimulación con ACTH o estrés, el cortisol libre en plasma aumenta a 20-30%. Los niveles de glucocorticoides también son sensibles a muchos factores del medio ambiente, por ejemplo pueden aumentar en forma importante sólo mediante la captura y el manejo de la animal. Este efecto post-captura puede ser evitado mediante la obtención de la muestra de sangre antes de la corteza suprarrenal se ha activado, dentro de los 2-3 minutos de la captura del animal y una segunda posibilidad es para habituar a los animales al manejo. Una ventaja evidente de muestras de sangre, cuando se hace en buenas condiciones, es que da acceso no sólo a los niveles de glucocorticoides y sino también para la ACTH (Mormede *et al.*, 2007).

VII. Material y Métodos

Población

En la comunidad rural “El Terrero” del estado de Guerrero, se adquirieron 20 cerdos criollos de 3 y 4 meses de edad (12 hembras y 8 machos), no infectados con el metacésto de *T. solium*. Se verificó que los animales no estuvieran infectados con el metacésto de *T. solium* por medio de la inspección de lengua, niveles de anticuerpos y examen de ultrasonido (Herrera *et al.*, 2007). Diez cerdos se dejaron en el pueblo con las personas que los vendieron y vivieron en las mismas condiciones que los demás cerdos en la comunidad; sin agua limpia, alimentación de pobre aporte nutricional, calor extenuante por el día, fríos intensos por la noche y maltratos por parte de los perros, habitantes de la comunidad o por los mismos cerdos de alta jerarquía (Grupo 1). Los otros diez cerdos, se trasladaron a las instalaciones de la FMVZ de la UNAM, donde recibieron alimentación a base de concentrado, agua limpia a acceso libre, temperatura de 15 a 22 °C, humedad de 60-70%, ventilación durante el día, un paseo de 20min diarios en un jardín de la facultad y la otra parte del tiempo, mantenidos en un ambiente de tranquilidad (Grupo 2). Al mismo tiempo se adquirieron 10 cerdos (5 hembras y 5 machos), de 3 meses de raza cruce de York-Landrace de la granja de la FMVZ de Jilotepec, Edo. de México (granja tecnificada) en la que no se han encontrado casos de cisticercosis porcina, los cuales también se mantuvieron en condiciones óptimas en la FMVZ (Grupo 3). En la tabla 1 se muestra la distribución de los animales en los diferentes grupos y en la figura 5 se muestran las condiciones de los 3 grupos.

	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
No. de animales	10 cerdos criollos	10 cerdos criollos	10 cerdos York-Landrace
Procedencia	Comunidad rural	Comunidad rural	Granja de la FMVZ Jilotepec
Estancia	Comunidad rural	Instalaciones de FMVZ	Instalaciones de FMVZ
Animales inoculados	10	8	7
Animales no inoculados (Controles)	0	2	3

Tabla 1. Distribución de los grupos experimentales



Figura 5. Los tres grupos de cerdos. A.-Cerdos del pueblo que se quedaron en sus condiciones de vida habituales; B.- Cerdos del pueblo que se trasladaron a la facultad de veterinaria; C.- Cerdos de granja tecnificada trasladados a la facultad de veterinaria.

Inoculación

Se recuperaron tres Tenias, de tres pacientes después de un solo tratamiento con niclosamida. Los segmentos que se utilizaron para la inoculación, se encontraban sueltos en las heces de los pacientes, es decir, no se utilizaron los segmentos adheridos a la tenia, por lo que se puede decir que fueron segmentos grávidos que contienen huevos fértiles (Romero, 2006). Se acepta que cada segmento grávido contiene unos 50 000 huevos de *T. solium* de los cuales el 80% son fértiles (Silverman, 1954).

Siete cerdos provenientes de la granja de la FMVZ de Jilotepec, Edo. de México y 18

cerdos de la comunidad rural de Guerrero se infectaron cada uno con un segmento grávido de *T. solium* por vía oral. Los 3 cerdos restantes de la granja de la FMVZ y los 2 de la comunidad de Guerrero se tomaron como cerdos control, con la finalidad de ver si la infección por si misma aumentaba los niveles de cortisol.

Toma de muestras

Muestreo sanguíneo: Suero para cortisol y anticuerpos

La toma de muestras está clasificada como Categoría B en Experimentos que causan molestia o estrés mínimo, de acuerdo con el Apéndice A Informativo (Clasificación de actividades experimentales de acuerdo al grado de invasión, molestia o daño producido sobre los animales de laboratorio) de la NOM-062-ZOO-1999.

Las muestras sanguíneas se tomaron mensualmente, los cuatro primeros muestreos fueron de la vena cava anterior y las siguientes cuatro tomas se hicieron de la vena yugular externa por facilidad en el manejo. Para la toma de muestras se utilizó el sistema para extracción de sangre "S-Monovette" de la casa comercial Sarstedt, empleando una aguja amarilla de 1 ½ pulgadas, con el que se obtuvo un volumen de 4 ml de sangre completa. Una vez coagulada la sangre, las muestras fueron centrifugadas en una centrifuga (Desga Sarstedt- gruppe, Zentrifuge L-12) a 25 000 x g por 20 min a 4 °C., posteriormente con pipetas de Pasteur de 6 ml se tomó el suero, se guardaron y etiquetaron en tubos Eppendorf de 5ml, los que se refrigeraron a -20° C en una hielera con sal de grano por 24 hrs que es el tiempo de traslado de Guerrero a la FMVZ para finalmente congelarlas a -80°C hasta que se procesó la muestra. En el caso de las muestras tomadas en la Facultad se realizó el mismo procedimiento para equiparar condiciones.

Heces

Se tomaron muestras de materia fecal de los tres grupos de animales. En el grupo dos y tres se tomaron dos veces al mes, una en la mañana y otra en la tarde del mismo día, a diferencia del grupo 1 que solo se tomó una vez al momento del sangrado, esta diferencia se debió a la facilidad de manejo, que no se tenía en el grupo 1 que

permaneció en pueblo. La muestra de aproximadamente 100gr. fue tomada directamente del recto con un guante de plástico, esta se transfirió a un tubo de polipropileno de 50 ml, en donde se homogeneizó con aplicadores de madera y se congeló a -20°C hasta su uso. Posteriormente, estas muestras se procesaron por medio del secado en una horno bacteriológico marca Napco, modelo 5100, a una temperatura de $<70^{\circ}\text{C}$ de 8 a 12 horas, después de ese tiempo las muestras ya desecadas se colocaron en un mortero y se molieron hasta ser pulverizadas, se tamizaron y retiraron restos de alimento y pelo, posteriormente se almacenaron en una bolsa de plástico bien identificada a -8°C hasta el momento de su uso.

Zoometría y Pesaje

Las morfometrías se llevaron a cabo una vez por mes en los tres grupos. Las mediciones corporales que se realizaron fueron: ancho de la cabeza y de la grupa (con Vernier), perímetro torácico y abdominal, altura a la grupa, altura a la cruz y redondez del jamón. Estas últimas se realizaron utilizando una cinta métrica. El pesaje se hizo con una báscula romana de 100kg.

Medición de cortisol

Heces

Extracción

De las muestras fecales previamente secas y liofilizadas, se pesaron 0.6 gr. en tubos de vidrio con tapa de rosca; a los cuales se les agregaron 5 ml de etanol al 80%, marcando el nivel del líquido en cada tubo. El contenido de los tubos se mezcló en el vortex (L-VM2000 con plataforma) durante 10min, al finalizar se puso en baño María a 80°C durante 20 min. Al secarse las muestras, se les añadió etanol absoluto, reponiendo así el etanol evaporado en la ebullición; se homogenizaron en el vortex (L-VM2000 con plataforma) durante 1 min aproximadamente, para posteriormente centrifugar los tubos a $25\ 000 \times g$ por 20 min a 4°C . El sobrenadante se decantó en otro tubo limpio y se etiquetó. El líquido decantado se evaporó con aire a presión en baño maría a 40°C , después se le adicionó 1ml de etanol absoluto, se agitó en el

vortex durante 10min y se dejó reposar durante 30min. Terminado este tiempo se centrifugó a 25 000 x g por 20 min a 4 °C., en seguida se decantó el sobrenadante a tubos de ensayo de fondo redondo sin graduación de 4 ml. (Marienfeld), previamente identificados y se les añadió 2ml de buffer RIA a cada uno, por último se congelaron a -8°C hasta que se le realizó la medición de cortisol por medio de un kit.

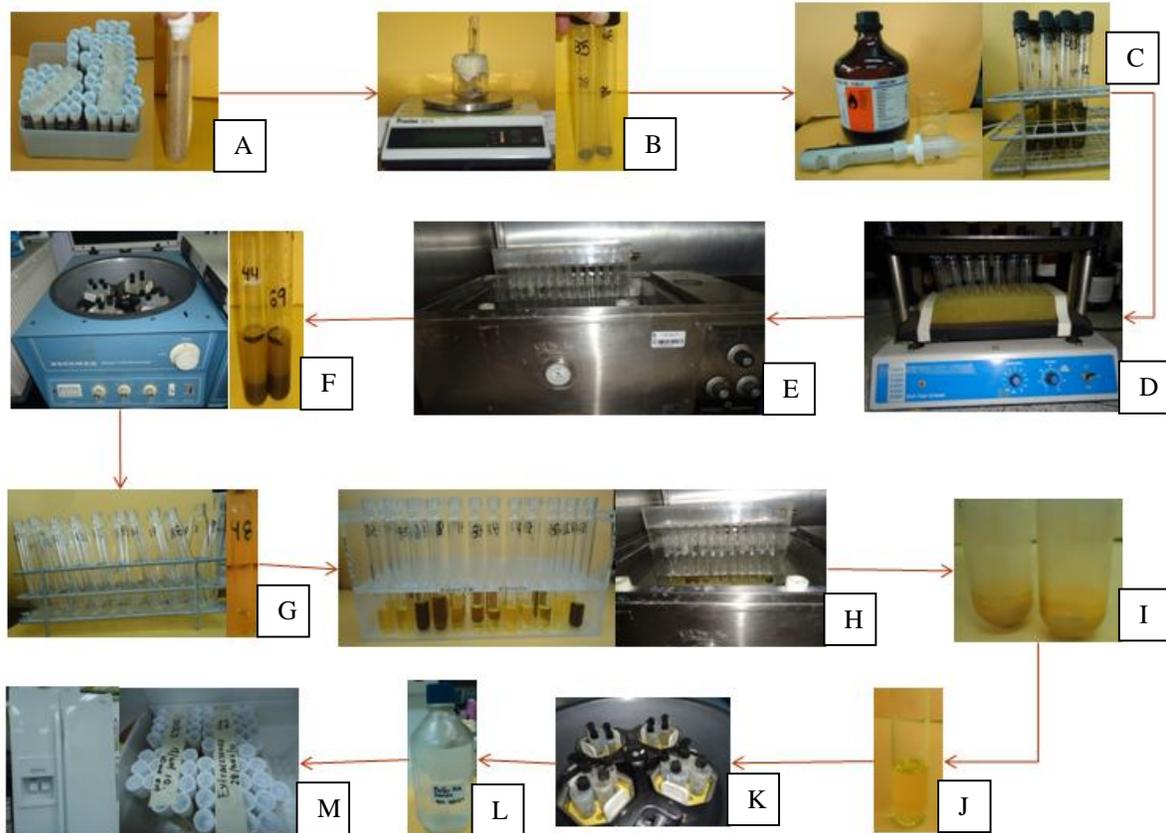


Figura 6. Diagrama del proceso de extracción. A.- Heces pulverizadas; B.- Peso de las heces pulverizadas; C.-Adición de los 5ml de etanol a las heces pulverizadas; D.- Heces con etanol en el vortex; E.- Baño maría a 80°C; F.- Centrifugación de las heces; G.- Tubos identificados para decantar el sobrenadante de las heces centrifugadas; H.-Secado por aire a presión en baño maría a 40°C; I.- Heces evaporadas; J.- Heces con 1ml de etanol en reposo; K.- Centrifugación de las heces; L.-Buffer RIA; M.-Extracto de heces identificadas en congelación.

Determinación directa del cortisol en suero y en extracto de heces

La medición del cortisol se hizo con un Kit de cortisol (Kit CORT-CT2 Cisbio Bloassays) para uso humano. Este Kit cuenta con 100 tubos con antisuero de conejo

anti-cortisol fijado en el fondo del tubo, un frasco de 55 ml de cortisol marcado radiactivamente (^{125}I) con ≤ 6.75 microcuries (μCi) y estándares liofilizados de cortisol sin marca en concentraciones de 0, 20, 75, 500, 2000 nmol/L.



Figura 7. Contenido del kit de radioinmunoanálisis para cortisol

El procedimiento fue el siguiente:

Se reconstituyeron los estándares de cortisol sin marca 30 minutos antes de que se usaran, con 0.5 ml de agua destilada, se taparon los viales y se mezclaron con cuidado para que el producto liofilizado quedara completamente disuelto. Para realizar las mediciones, se hizo el siguiente protocolo de trabajo en cada kit.

No de tubos		Contenido
1	2	Cuentas totales
3	4	Unión inespecífica
5	6	Unión total o B0
7 al	16	Curva estándar
17	18	Control interno
19	20	Control Externo
21 al	100	Muestras
101	102	Control interno
103	104	Control Externo

Tabla 2. Distribución de los tubos

Los primeros 4 tubos no tienen hormona, son tubos de ensayo de fondo redondo sin graduación de 4 ml. (Marienfeld). A los dos primeros se les colocó 500 μl de cortisol marcado radiactivamente (^{125}I) para verificar las cuentas totales con las que se

estuvo trabajando. Al siguiente par de tubos se les colocó 500µl de ¹²⁵I- cortisol para medir la unión no específica, la diferencia entre el primer par de tubos y este, es que en el primer par no se le desecha el ¹²⁵I- cortisol al momento del conteo y en el segundo sí.

A partir del tubo 5 hasta el 100, tienen antisuero de conejo anti-cortisol fijado en el fondo del tubo. Los tubos 5 y 6 se utilizaron para medir la unión total, colocando 500µl de ¹²⁵I- cortisol. Los tubos del 7 al 16, de dos en dos se fueron colocando 20µl de cada una de las concentraciones de la curva estándar que viene en el kit. Los tubos 17 y 18; 101 y 102 se les colocó 20µl de la concentración estándar de 75 nmol/L. que fungió como el control interno y el control externo, fueron 20µl de una muestra de suero de cerdo que se utilizó en todos los kits, este ocupó los tubos 19 y 20; 103 y 104. A partir del tubo 21 al 100 se colocaron 20µl de muestra de suero ó extracto de heces. Una vez que cada uno de los tubos contenía lo que le correspondía, se les añadió 500µl de ¹²⁵I- cortisol, se mezclaron en el vortex y se incubaron por 2 horas a 37°C, se eliminó la solución de ¹²⁵I- cortisol por aspiración, posteriormente se añadió 1 ml de agua destilada, se agitaron los tubos y se retiró el agua por aspiración, por último se midió la radioactividad unida en los tubos con un contador gamma Beckman LS 6000 TA®.

Validación de la técnica de radioinmunoanálisis en heces de cerdo

Debido a que esta técnica no ha sido usada con anterioridad en heces de cerdo se tuvo que evaluar la calidad de este análisis cuantitativo (validación) por medio de las siguientes pruebas de laboratorio:

- Precisión
- Exactitud
 - Curva Dosis-Respuesta
 - Paralelismo
- Especificidad
- Sensibilidad

Precisión

La precisión está dada por la dispersión de una misma muestra alrededor de su promedio. Esta se determinó por el coeficiente de variación intra e inter-ensayo, que se calculó a partir de muestras que se corrieron paralelamente en cada radioinmunoanálisis, para este estudio se utilizó el punto 75 de la curva estándar como control interno y una muestra de suero como control externo. Para sacar el coeficiente de variación se utilizó la fórmula citada por Zambrano y Díaz, 1996.

$$CV = \text{Desviación estándar} / \text{Promedio} \times 100$$

Exactitud

Curva Dosis-Respuesta

Esta medición sirve para confirmar que no haya nada en el extracto que pueda estar interfiriendo con la unión al anticuerpo. Para obtener esta curva se utilizaron 4 muestras de heces con concentraciones de cortisol conocidas, cada una de las muestras se dividió en 6 alícuotas, a una de ellas no se le adicionó nada y a las 5 restantes se les agregaron 5 concentraciones conocidas de la curva estándar (una concentración para cada alícuota), y ser determinadas en el radioinmunoanálisis como muestras individuales. El resultado obtenido de la muestra a la que no se le añadió nada, fue restado de los resultados de las 5 alícuotas con estándares, con el fin de que al restar los resultados de la muestra sin nada, quedara la cantidad de cortisol de la curva estándar que se colocó.

Paralelismo

El paralelismo indica que la interacción de la hormona presente en el extracto con el anticuerpo es similar a la del estándar con el anticuerpo. Para realizar esta prueba se utilizaron 4 muestras de heces tomadas al azar, las cuales fueron diluidas de forma seriada (1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64 y 1:128) y a cada dilución se le determinó su concentración en el radioinmunoanálisis como si fueran muestras independientes. Una vez obtenidos los resultados, se graficaron los porcentajes de unión del anticuerpo con la hormona estándar y los porcentajes de unión del anticuerpo con la

hormona de las muestras seriadas, con la finalidad de ver que la curva de la muestra sea paralela a la curva de la hormona estándar.

Especificidad y Sensibilidad

La especificidad y sensibilidad están dadas por el anticuerpo utilizado en el kit comercial (Kit CORT-CT2 Cisbio Bloassays). La sensibilidad de los radioinmunoanálisis realizados para muestras de suero y heces con el kit comercial fue de 4.6nmol/l o 1.66ng/ml y las principales reacciones cruzadas para el mismo anticuerpo con hormonas esteroides, se muestran en la tabla 3.

Esteroides	% Reacción cruzada
Cortisol	100
Fludrocortisona	12.1
5 α -Dihidrocortisol	8.8
21-Desoxicortisol	8.6
Corticoesterona	2.8
Prednisona	1.2
Cortisona	0.9
6 β -Hidroxicortisol	0.6
20 β -Hidrocortisol	0.4
Estradiol	<0.01
Progesterona	<0.01
Testosterona	<0.01

Tabla 3. Porcentaje de reacción cruzada del anticuerpo anti-cortisol con hormonas esteroides (informe de la casa comercial)

Necropsia

Al cabo de los 8 meses, se les practicó la eutanasia a todos los animales. Todos los cerdos instalados en la Facultad fueron insensibilizados por el sistema de electrocución (Aluja AS de y Constantino, 2002).

La intensidad de la corriente eléctrica utilizada dependió del peso del animal:

- Para 130 kg o más, 600 Volts; 6 amperes.
- De 90 a 130 kg, 400 Volts; 4 amperes
- De menos de 90 kg, 240 Volts; 2 amperes

El tiempo entre el intervalo del aturdimiento y el sangrado fue menor de 30 segundos. Todos los cerdos del grupo 1 que permanecieron en el pueblo, fueron insensibilizados con pistola de embolo oculto, por falta de una buena fuente de energía (Aluja AS de y Constantino, 2002).

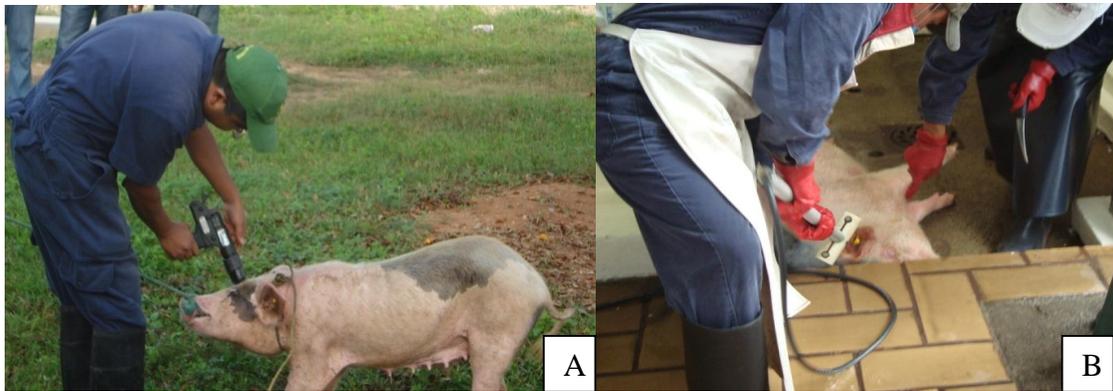


Figura 8. Insensibilización. A.- Insensibilización con pistola de perno cautivo en cerdos del pueblo que se sacrificaron en el pueblo (grupo 1); B.- Insensibilización por sistema eléctrico en cerdos de la facultad (grupo 2 y 3).

En la necropsia se examinaron las larvas y por medio del estudio histológico se clasificaron de acuerdo a la clasificación propuesta por Aluja y Vargas (1988), con el fin de establecer si se encontraron diferencias en el grado de destrucción de las larvas entre animales mantenidos en óptimas condiciones con aquellos que viven en las comunidades rurales, donde reciben poca atención.

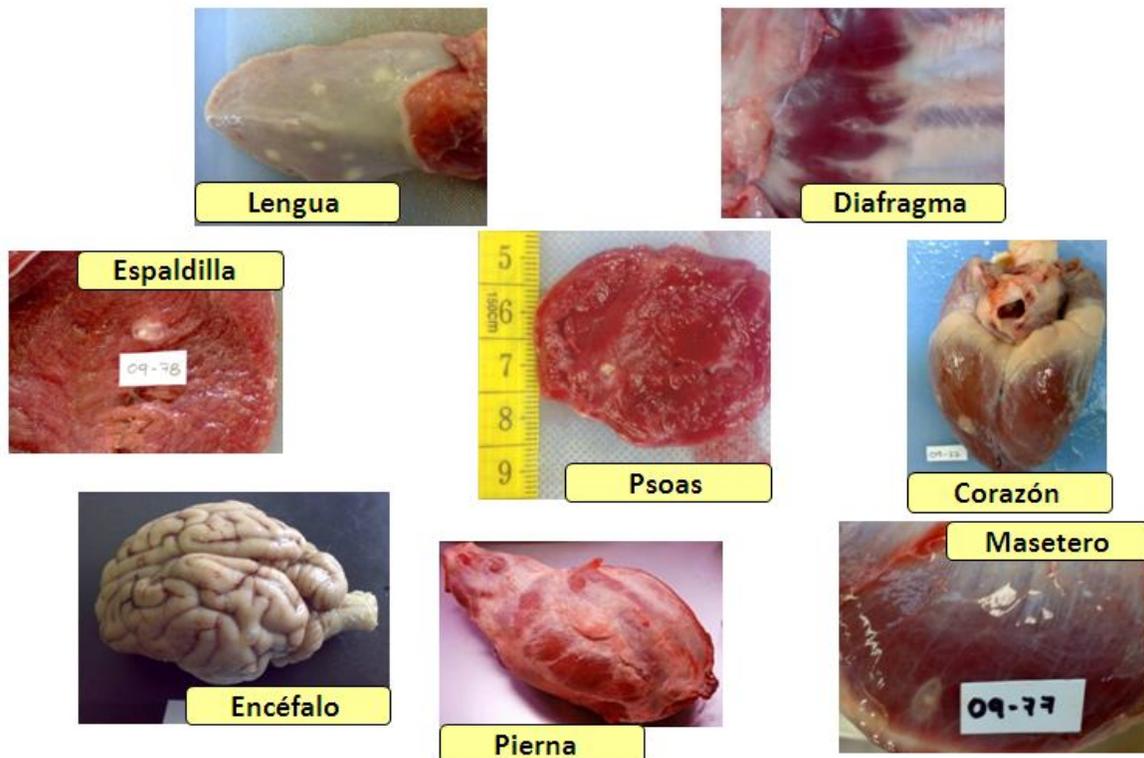


Figura 9. Músculos y encéfalo examinados en el conteo y clasificación de los cisticercos

Prueba de evaginación

Se realizaron ensayos de evaginación de los cisticercos con el propósito de poder determinar el grado de viabilidad de ellos. Durante la necropsia, se tomaron metacéstodos vesiculares de los cerdos del grupo 3 y del grupo 2, se colocaron en tubos de polipropileno de 50 ml, que contenía solución salina fisiológica (SSF), después se llevaron al laboratorio en donde se desechó la solución salina, los cisticercos se depositaron en una caja de Petri, y se les adicionó una solución que contenía, 20 ml de SSF más 10% de bilis de cerdo, se introdujeron en una estufa de cultivo marca "Riossa" a una temperatura de 37° C, durante 48 horas. En ese intervalo de tiempo se observaron a las 12, 24 y 48 horas para realizar un conteo y ver cuántos cisticercos evaginaron, se consideran como evaginados aquellos metacéstodos que presenten salida o distensión del cuello y escólex visible (Flores, 2003).

Análisis Estadístico

Para la determinación de la normalidad de los diferentes resultados se utilizaron las pruebas de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk. Los resultados con distribución normal fueron analizados con la prueba de Anova y Tukey Kramer. Los que no tenían distribución normal, las diferencias significativas entre medianas fueron analizadas a través de la prueba de Kruskal Wallis y Ji cuadrada $p < 0.05$ (SPSS, Inc. 2007).

VIII. Resultados

Población final

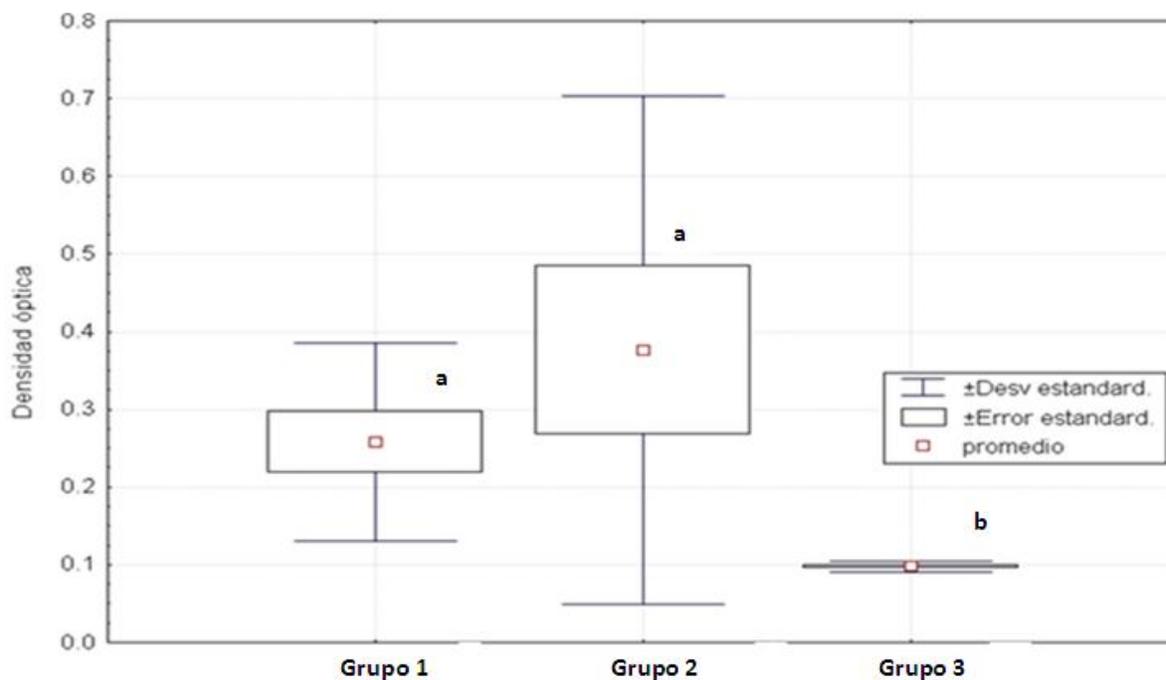
Al término de los ocho meses de muestreo, se realizó la necropsia a los cerdos. Hubo cerdos que se perdieron en el pueblo o murieron. En la tabla 4 se muestran los datos de los cerdos al inicio del experimento, los animales que se perdieron o murieron en el pueblo y los cerdos que permanecieron vivos al final del experimento. Los tres grupos iniciaron con 10 cerdos. En el grupo 1 se murió un cerdo y otro se perdió en el pueblo, quedando 8 cerdos finales en este grupo. El grupo 2 inicio con 8 cerdos inoculados y 2 cerdos control, de los cuales se murieron 2 animales inoculados, finalmente quedaron 6 cerdos inoculados y 2 controles. Por último el grupo tres, inicialmente tenía 7 cerdos inoculados y 3 cerdos control, de estos se murió un cerdo inoculado por lo que llegaron al final del experimento 6 cerdos inoculados y 3 cerdos control.

		Cerdos perdidos		
		Cerdos iniciales	o muertos	Cerdos Finales
Grupo 1	Inoculados	10	2	8
	No inoculados o cerdos control	0	0	0
Grupo 2	Inoculados	8	2	6
	No inoculados o cerdos control	2	0	2
Grupo 3	Inoculados	7	1	6
	No inoculados o cerdos control	3	0	3

Tabla 4. Número de cerdos iniciales y cerdos finales

Anticuerpos pre-infección

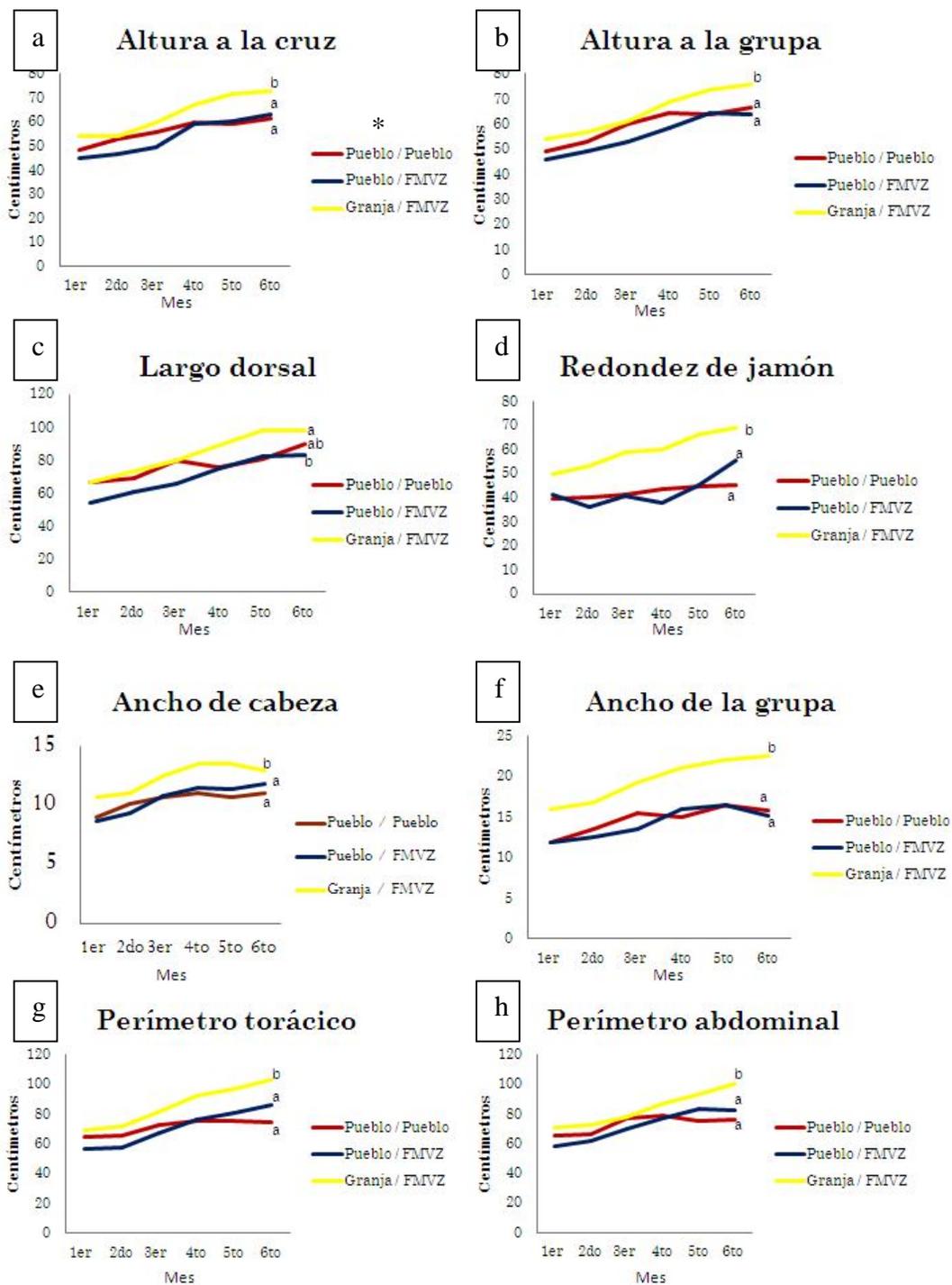
Los niveles de anticuerpos de los tres grupos, pre-infección se observan en la grafica 1. Los grupos 1 y 2 que fueron cerdos de la comunidad tienen niveles de anticuerpos más altos que los del grupo 1 (P<0.05) que provenía de una granja tecnificada. Aunque estos títulos de anticuerpos son altos no llegan a ser positivos contra cisticercosis.



Gráfica 1. Nivel de anticuerpos contra cisticercos de cerdos del primer mes (antes de la inoculación). Superíndices diferentes indican diferencia significativa. ANOVA (P<0.05).

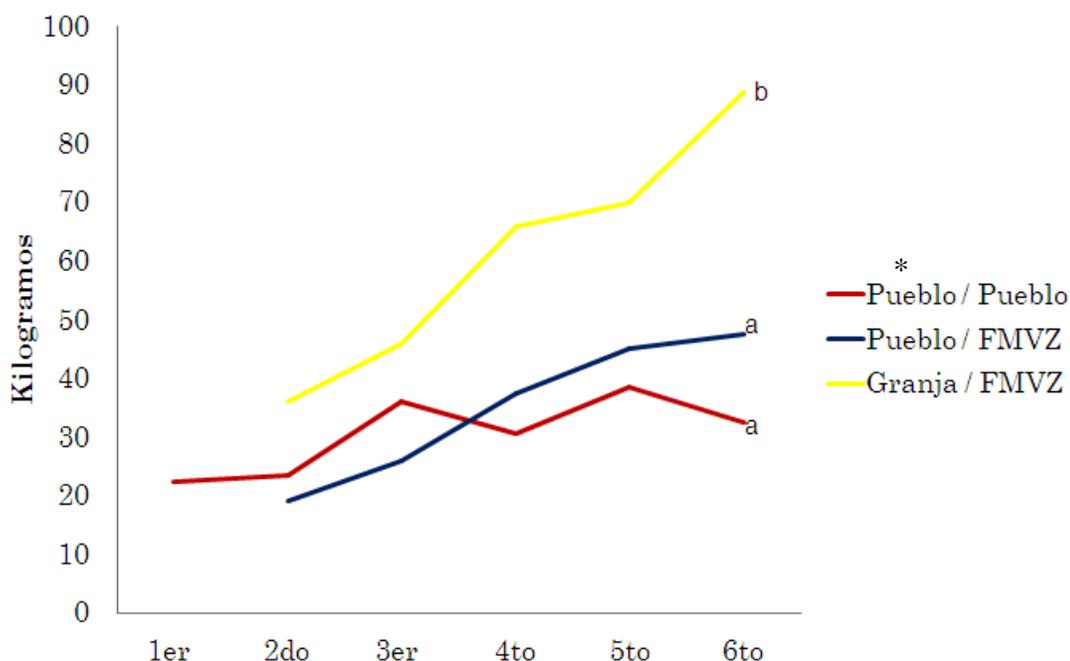
Zoometría y pesaje

Los resultados de la zoometría en los tres grupos de cerdos se muestran en las graficas 2. En la (a) se presentan los resultados de la altura a la cruz y en la (b) altura a la grupa, se observa que los cerdos del grupo 3 crecieron más que los otros dos grupos ($P < 0.05$). En la altura a la cruz los primeros tres meses, los cerdos del pueblo en la facultad no crecieron mucho en comparación con el grupo del pueblo que se quedo en el pueblo, sin embargo al final quedaron similares. En la altura a la grupa fue hasta el quinto mes en donde se emparejaron. En la figura (c) se exhibe el largo dorsal, se muestra que los cerdos del grupo 3 estaban más largos (98cm) que los cerdos del grupo 2 (83.25cm) ($P < 0.05$). La redondez del jamón se presenta en la figura (d), la cual fue más alta en el grupo 3 con respecto a los otros dos grupos con 89cm ($P < 0.05$). El grupo 2 tuvo 15cm más jamón que el grupo 1, sin evidencia estadística significativa ($P > 0.05$). Las figuras (e) y (f) representan ancho de cabeza y ancho de la grupa respectivamente. Se observa que los cerdos del Grupo 3 están 2cm más anchos en cabeza y 7cm más anchos en grupa que los otros dos grupos ($P < 0.05$). El perímetro torácico y el perímetro abdominal están representados en las figuras (g) y (h) respectivamente. Los cerdos del grupo 3 están más proporcionados con 103cm de perímetro torácico y 100.5cm de perímetro abdominal que los grupos 1 (75cm, 76.25cm) y 2 (86cm, 82.5cm) ($P < 0.05$).



Gráficas 2. Resultados de Zoometría en los tres grupos durante todos los meses. Literales distintas indican diferencias significativas ($P < 0.05$). Las diferencias fueron establecidas por ANDEVA, posteriormente con la prueba de Tukey. * Pueblo/Pueblo (Grupo 1), Pueblo/FMVZ (Grupo 2) y Granja/FMVZ (Grupo 3)

La grafica 3 muestra los pesos de los tres grupos, encontrando que los cerdos del grupo 1 alcanzaron un peso de 32.5kg, el grupo dos 47.5kg y el grupo tres 89kg. Siendo mayor estadísticamente ($P < 0.05$) el grupo 3 con respecto a los otros dos grupos.



Gráfica 3. Pesos de los tres grupos en todos los meses

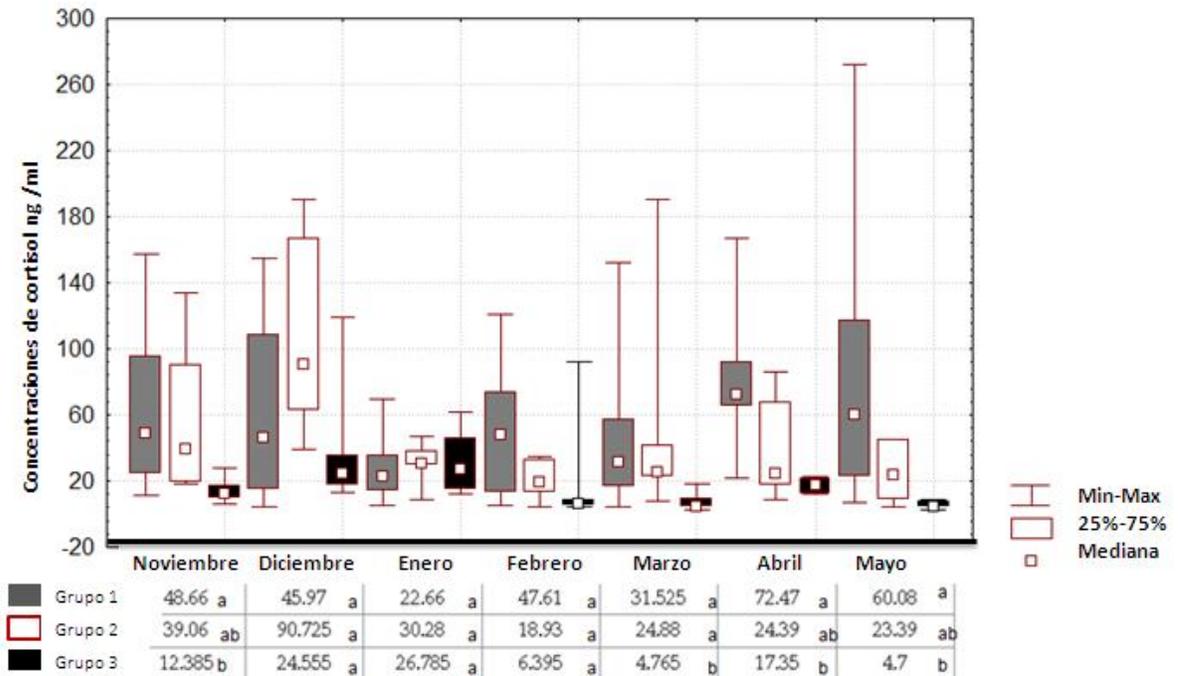
Literales distintas indican diferencias significativas ($P < 0.05$). Las diferencias fueron establecidas por ANDEVA, posteriormente con la prueba de Tukey. * Pueblo/Pueblo (Grupo 1), Pueblo/FMVZ (Grupo 2) y Granja/FMVZ (Grupo 3)

Niveles de cortisol

Al realizar las pruebas de normalidad en los niveles de cortisol, tanto en suero como en heces, no todos los grupos tuvieron una distribución normal, por lo que el indicador presentado es la mediana.

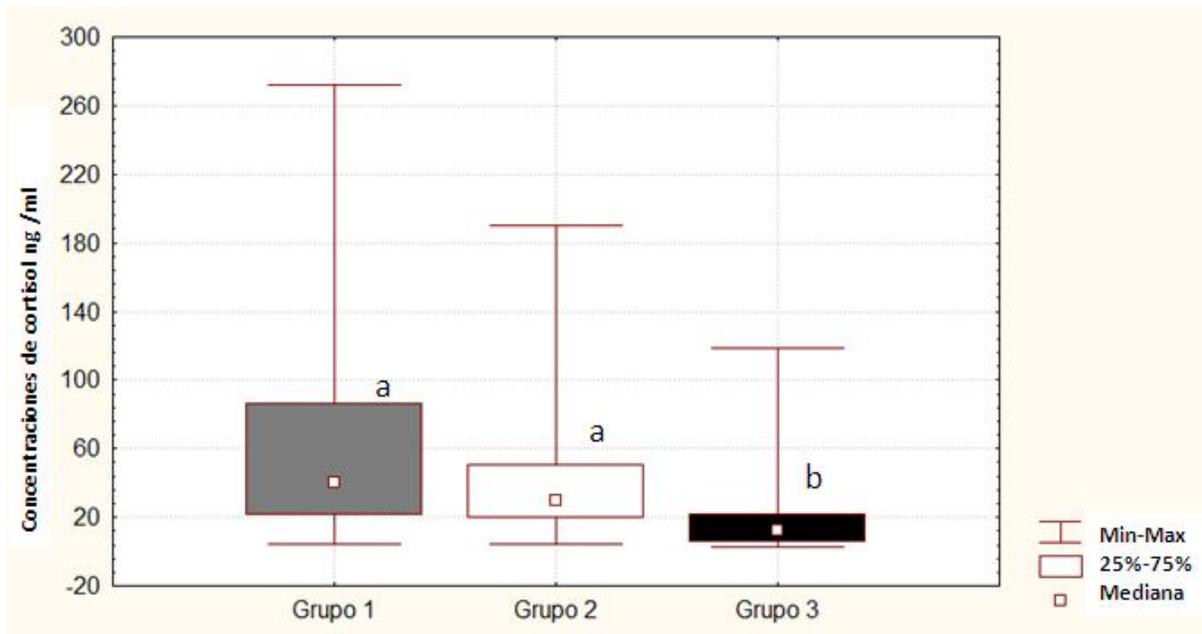
En suero:

Los niveles de cortisol en suero del grupo 3 fueron menores en todos los meses, con respecto al grupo 1 y 2, sin embargo, no se observó diferencia significativa en todos los meses, únicamente en Marzo. Noviembre, Abril y Mayo presentó diferencia significativa entre el grupo 3 y grupo 1, presentando niveles más bajos en el grupo 3 (Gráfica 4).

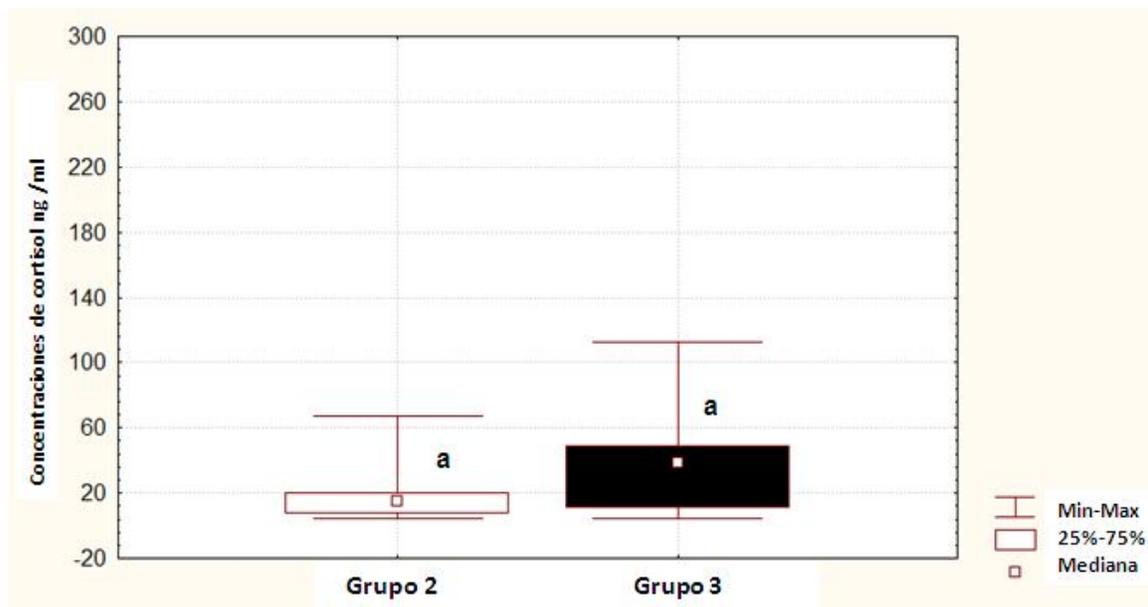


Gráfica 4. Mediana de los niveles de cortisol en suero de cerdo de los 3 grupos experimentales en cada uno de los meses. Literales diferentes indica diferencia significativa Kruskal Wallis ($P < 0.05$).

La mediana de los niveles de cortisol en el suero de todos los animales, durante el tiempo que duro el experimento, se observa en la grafica 5. Se muestran niveles de cortisol más altos en el grupo 1 con una mediana de 40.54ng/ml ($p < 0.05$) con respecto a los demás grupos, aunque solo hubo diferencia estadística con el grupo 3. No hubo diferencia significativa entre los grupos 2 y 3 con respecto a su grupo control (Gráfica 6)



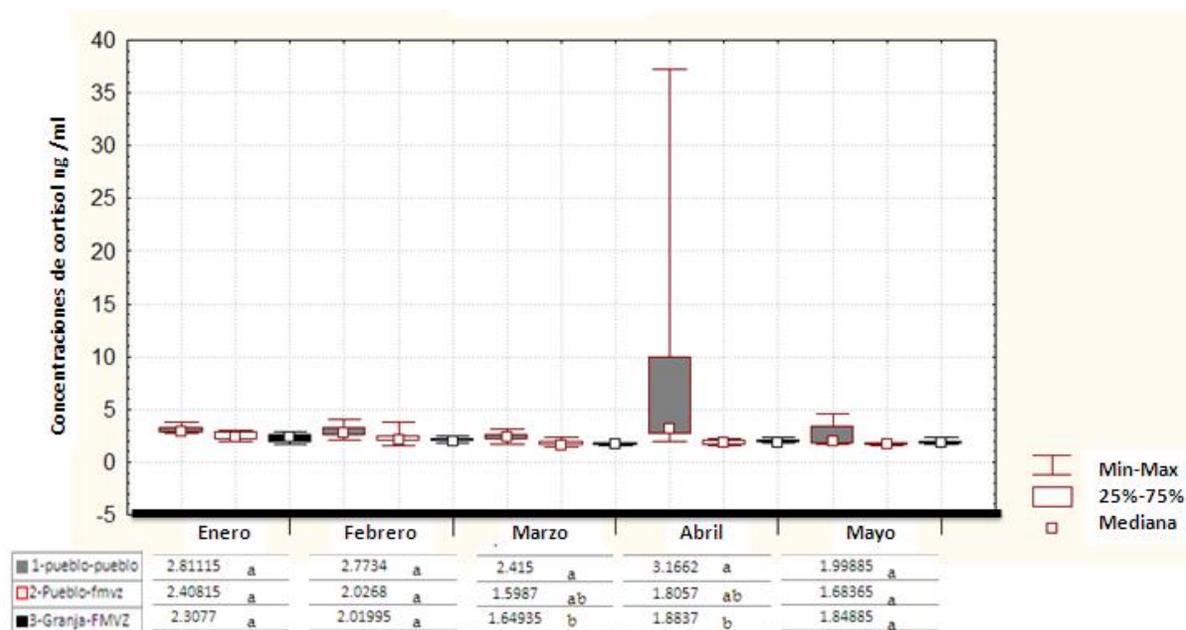
Gráfica 5. Mediana de la concentración de cortisol en suero de cerdo de los 3 grupos experimentales de todos los meses. Literales diferentes indica diferencia significativa Kruskal Wallis ($P < 0.05$).



Gráfica 6. Mediana de los niveles de cortisol en suero de cerdo de los 2 grupos control de todos los meses. Literales diferentes indica diferencia significativa Kruskal Wallis ($P < 0.05$).

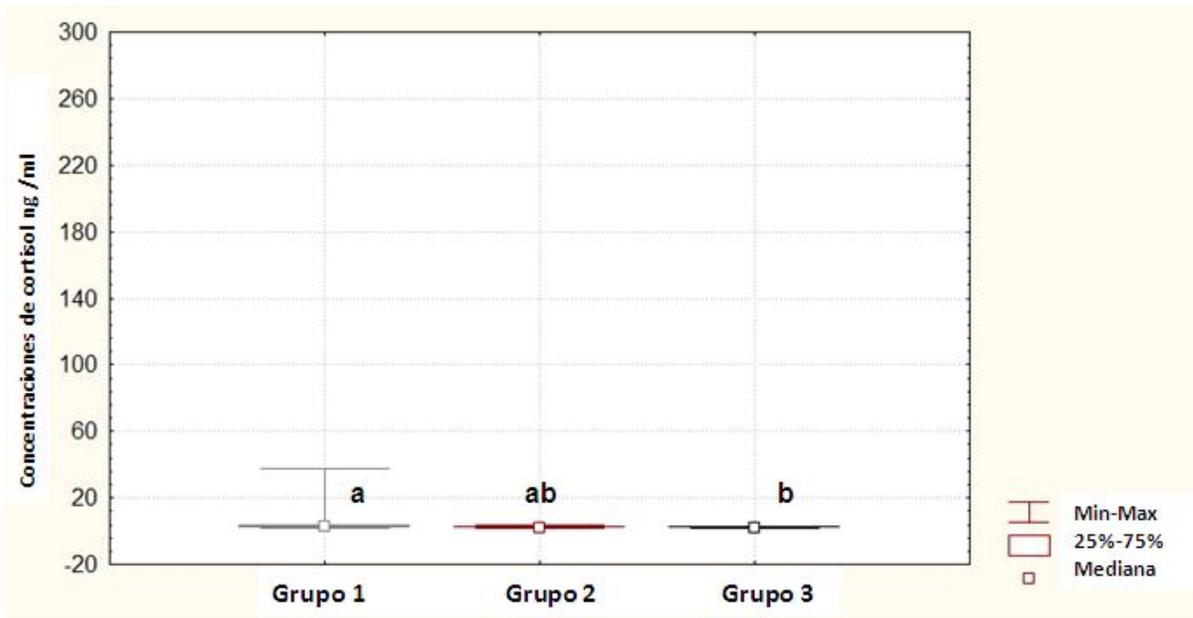
En heces:

Los niveles de cortisol en heces de cerdo, mostraron el mismo patrón que los niveles de cortisol en suero, observándose niveles bajos en el grupo 3 respecto a los otros dos grupos, pero sin diferencia estadística, a excepción de Marzo y Abril que sí presentó diferencia significativa entre el grupo 3 y el grupo 1 (Gráfica 7).

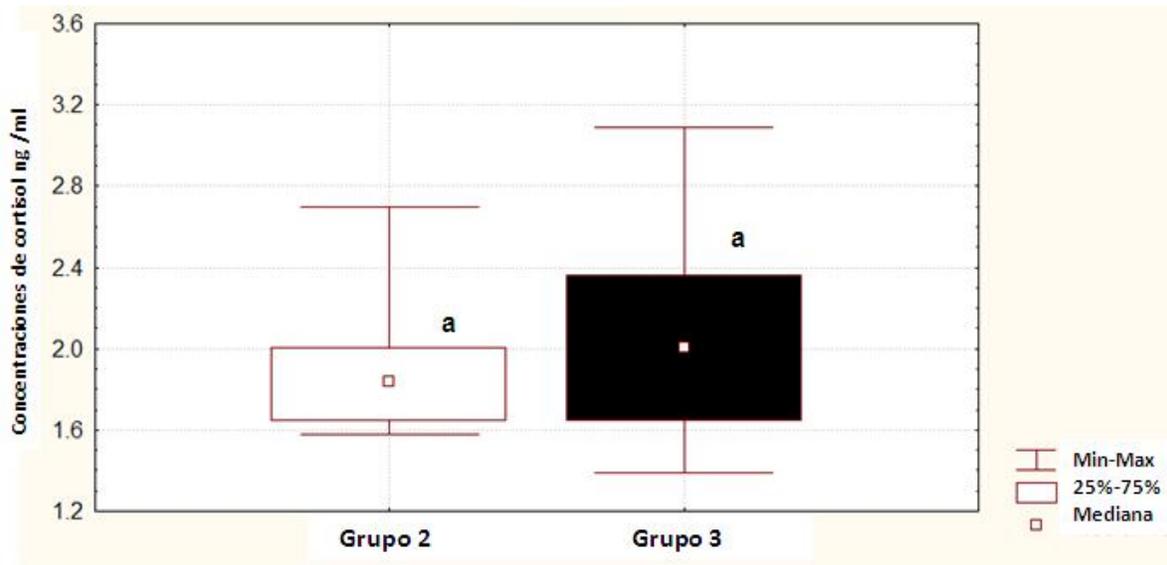


Gráfica 7. Mediana de los niveles de cortisol en heces de cerdo de los 3 grupos experimentales en cada uno de los meses. Literales diferentes indica diferencia significativa Kruskal Wallis ($P < 0.05$).

En la gráfica 8 se presenta la mediana de los niveles de cortisol en heces de todos los meses en cada uno de los grupos, mostrando niveles de cortisol más altos en el grupo 1 ($p < 0.05$) con una media de 2.71 ng/ml con respecto de los otros dos grupos sin embargo, solo hay diferencia estadística con el grupo 3. También en el los grupos control no existe diferencia significativa (Gráfica 9).



Gráfica 8. Mediana de la concentración de cortisol en heces de cerdo de los 3 grupos experimentales de todos los meses. Literales diferentes indica diferencia significativa Kruskal Wallis ($P < 0.05$).



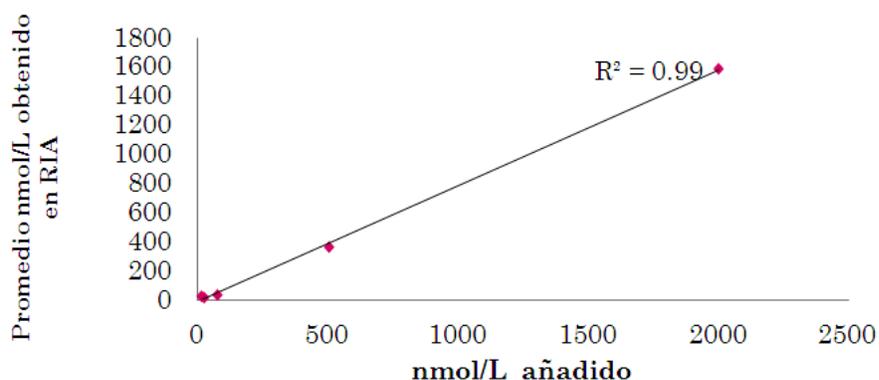
Gráfica 9. Mediana de los niveles de cortisol en heces de cerdo de los 2 grupos control de todos los meses. Literales diferentes indica diferencia significativa Kruskal Wallis ($P < 0.05$).

Resultados de la validación

Exactitud

- **Curva de dosis respuesta**

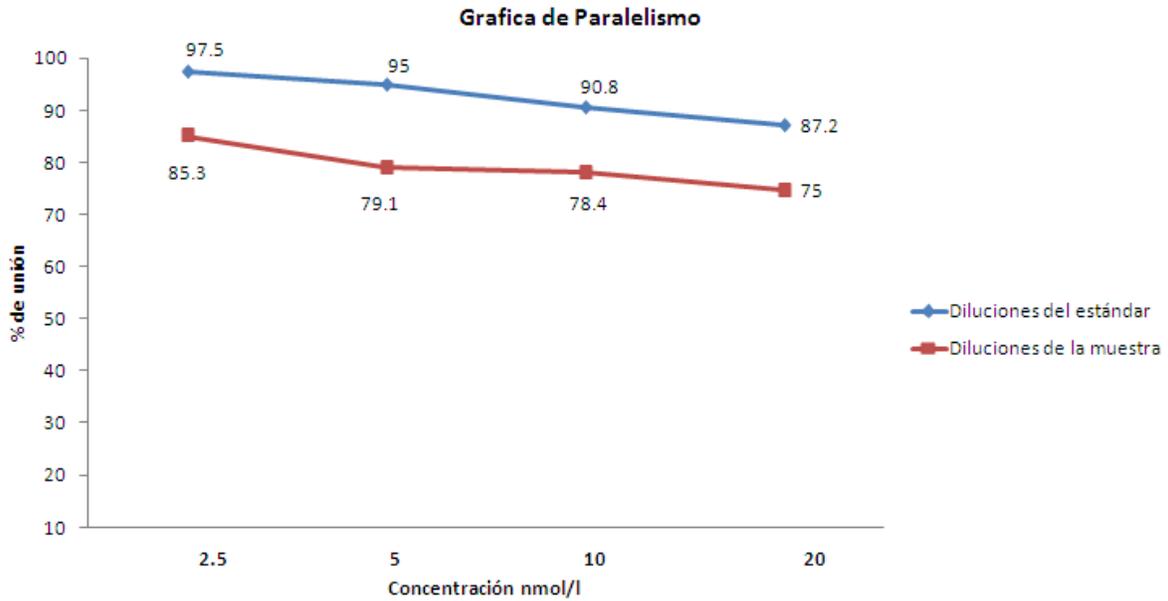
Las muestras de extractos de heces de cerdo, mostraron un coeficiente de correlación del 99% entre la concentración de la hormona estándar añadida y la concentración encontrada en la misma muestra medida después de realizar el RIA. En la grafica 10 se muestra la regresión lineal de la curva dosis-respuesta.



Gráfica 10.- Curva Dosis-Respuesta para Cortisol en heces de cerdo

- **Paralelismo**

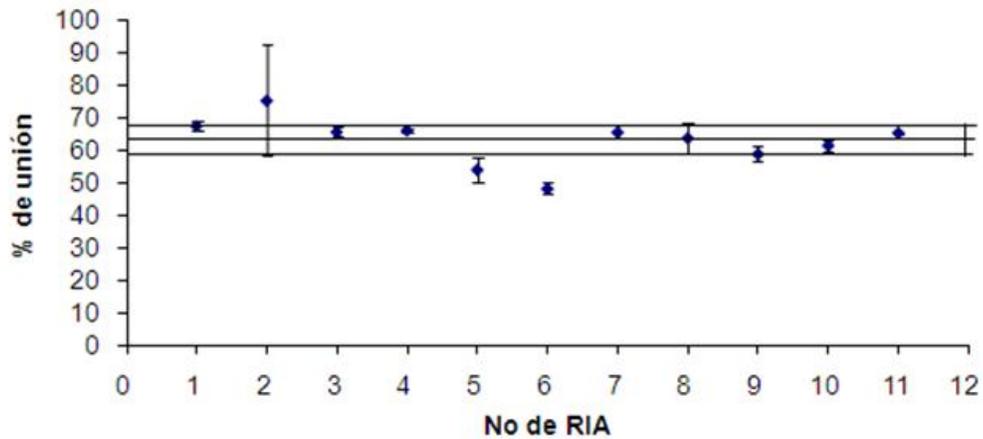
La hormona natural que se encontró en los extractos de muestras de heces de cerdo, se comportó de manera similar al cortisol de la curva estandar del kit comercial. La grafica donde se aprecia el comportamiento de las diferentes diluciones de muestras de heces con respecto a las diluciones del cortisol estandar, se puede ver en la grafica 11.



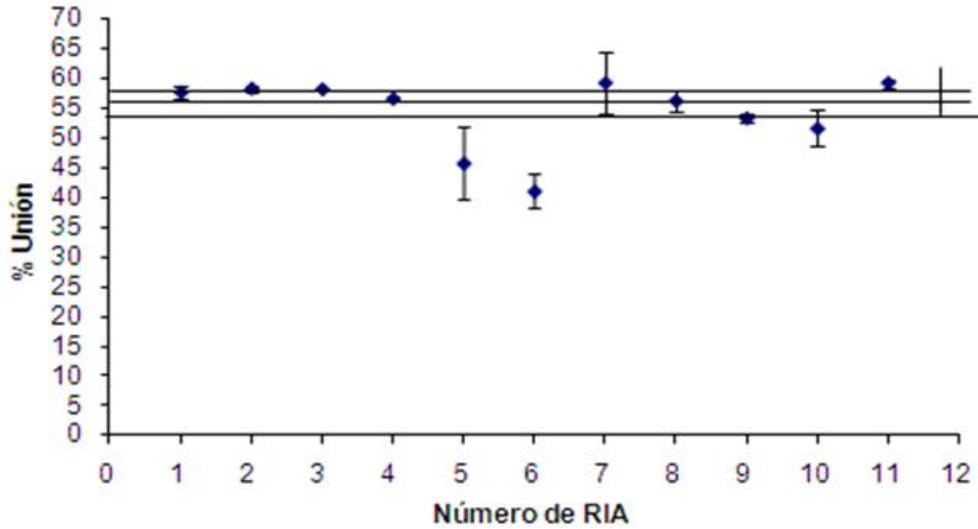
Gráfica 11. Paralelismo en muestras de heces de cerdo

Precisión

Para la medición de cortisol en heces de cerdo del presente trabajo, fueron realizados 11 radioinmunoanálisis. El coeficiente de variación inter-ensayo fue de 5.37 y el intra-ensayo fue de 3.77 representados en las graficas 12 y 13.



Gráfica 12. Coeficiente de variación inter-ensayo de 5.37



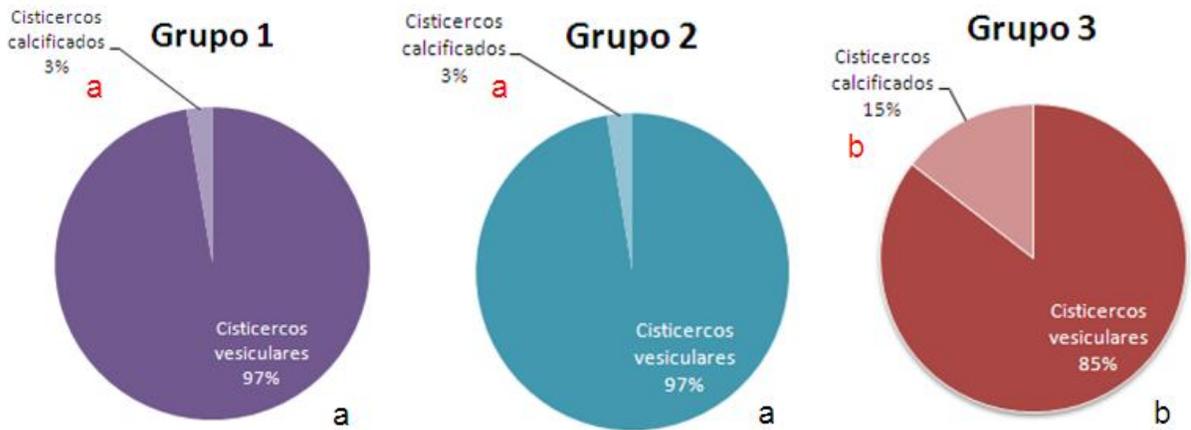
Gráfica 13. Coeficiente de variación intra-ensayo de 3.77

Necropsias

En la tabla 6 se muestran los datos de la grafica 14 en la cual se muestra el grado de destrucción de los cisticercos recuperados de los cerdos, según el proceso de caseificación, donde se señala el porcentaje de cisticercos calcificados y vesiculares. Se observa que los grupos 1 y 2 presentaron el mismo porcentaje de destrucción que fue del 3%, mostrando una diferencia significativa ($P < 0.05$) con el grupo 3 que presentó mayor destrucción, 15%.

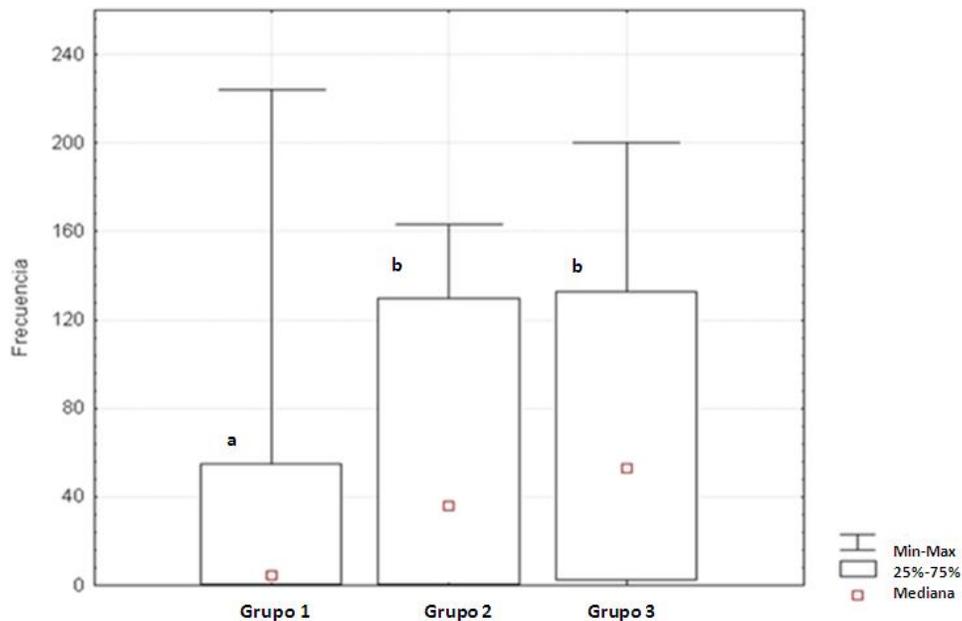
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
Implantados	343	410	441
Cisticercos vesiculares	334	397	377
Cisticercos caseosos	9	13	64

Tabla 5. Número de cisticercos implantados, número de cisticercos vesiculares y caseosos en los tres grupos.



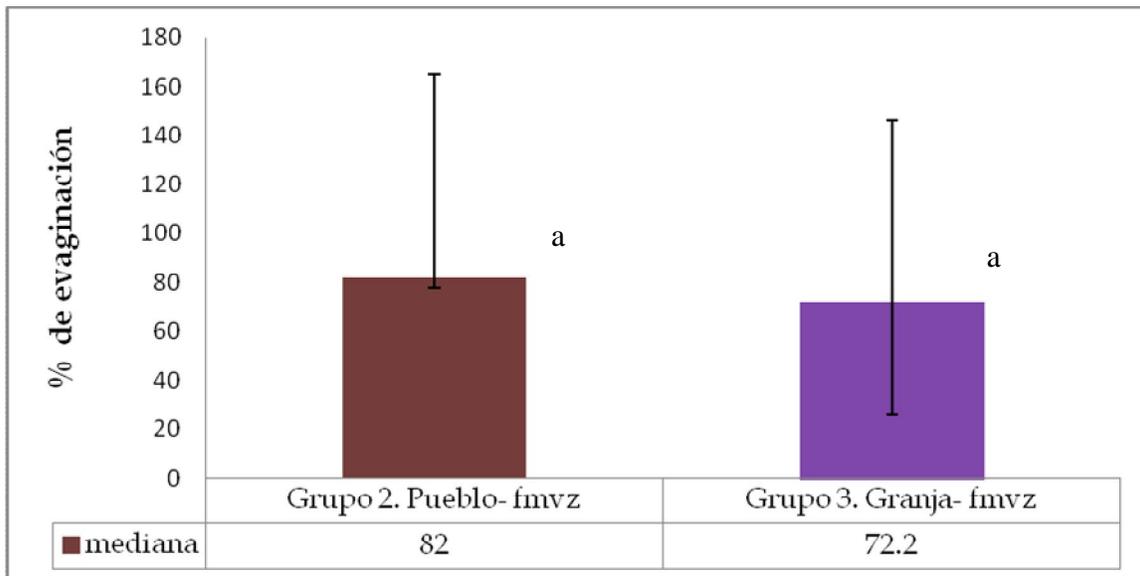
Gráfica 14. Resultados de los cisticercos recuperados en la necropsia en los tres grupos: Porcentaje de cisticercos calcificados y vesiculares. Literales distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$). Las diferencias fueron establecidas por medio de una prueba de Ji cuadrada.

La frecuencia de cisticercos implantados en los tres grupos, se observa en la gráfica 15. Se obtuvo una mayor frecuencia de cisticercos en el grupo 3, con una mediana de 53, aunque sin diferencia significativa ($p > 0,05$); seguido por el grupo 2 con una mediana de 36 y con menor frecuencia el grupo 1 presentando una mediana de 4.5 ($p < 0,05$).



Gráfica 15. Implantación de cisticercos en cerdos inoculados con proglótidos de *T. solium*. Superíndices diferentes en la mediana indican diferencia significativa Kruskal Wallis ($P < 0,05$).

En el porcentaje de evaginación los cisticercos tomados en la necropsia, el grupo 2 presenta 82% de evaginación con un máximo de 83% y un mínimo de 77.7% y el grupo 3 un porcentaje de evaginación del 72.2%, un mínimo de 26% y un máximo de 74.28%, no se observa diferencia significativa entre los dos grupos (gráfica 16). En la figura 10 se puede observar el proceso de evaginación a las 12 y 48 horas.



Grafica 16. Porcentaje de evaginación, mínimo y máximo de los dos grupos de cerdos sacrificados en la facultad. Las diferencias fueron establecidas por medio de una prueba de Ji cuadrada ($p < 0,05$).



Figura 10.- Prueba de evaginación. A.-Cisticercos lavados con solución salina fisiológica; B.- Cisticercos con solución salina fisiológica y 10% de bilis a las 12hrs a 37°C; C.- Cisticercos evaginados a las 48hrs a 37°C.

IX. DISCUSIÓN

Al estudiar, si los factores estresantes, influyen en el desarrollo y la destrucción de los metacéstodos de *T. solium* en el cerdo, se hicieron tres grupos de cerdos, se verificó que los animales no estuvieran infectados con el metacéstodo de *T. solium* por medio de la inspección de lengua, niveles de anticuerpos y examen de ultrasonido. Todos los estudios fueron negativos, sin embargo, en el caso de los anticuerpos, el grupo 3 presentó niveles más bajos con respecto a los dos grupos procedentes de la comunidad ($P < 0.05$). Es probable que los cerdos provenientes de la comunidad rural ya hayan estado en contacto con el parásito, hay que recordar que son cerdos de vida libre. Este resultado puede estar relacionado con la implantación ya que el grupo 3 presentó mayor implantación (mediana=53) y niveles de anticuerpos bajos ($P < 0.05$), en cambio los dos grupos de la comunidad mostraron mayores niveles de anticuerpos y menor implantación. Esta relación puede estar dada por un contacto previo de los cerdos con el parásito, que indujo la formación de anticuerpos que los protegía al momento de la inoculación (Sciutto et al., 1995). Sin embargo, la implantación depende de muchos factores más, como la raza, edad, sexo, estado de salud y estado nutricional (Akira et al., 2001). Peña et al., 2007 encontró que la infección es afectada de manera significativa por el estado hormonal, más que por la respuesta de anticuerpos. Se ha observado que la eficacia de la instalación del parásito después de la infección experimental varía considerablemente entre los animales que habían sido infectados con el mismo número de huevos y lo atribuyen a diferencias intrínsecas en los cerdos (Pathak et al, 1990). También hay que tomar en cuenta dos aspectos en esta investigación; la primera, que por cuestiones prácticas en la comunidad rural se tuvo que infectar con proglótidos grávidos y no con una cantidad exacta de huevos; y la segunda, que al momento de la inoculación son administrados con ayuda de alimento, lo cual sugiere que los huevos administrados puedan ser expulsados inmediatamente después de depositarlos en la boca, reduciendo de alguna manera la capacidad de los huevos de llegar al estomago para alcanzar el sistema circulatorio, y así reducir la implantación. En esta investigación se

vio afectada la implantación pero no la viabilidad, ya que no se observaron diferencias significativas entre los grupos analizados.

Con respecto a los niveles elevados de cortisol obtenidos en los dos grupos provenientes de la comunidad rural (grupo 1 y 2) respecto al grupo de la granja tecnificada (grupo 3), sugieren que los cerdos del grupo 1 estuvieron en contacto con diferentes factores que provocaron un estado de estrés, presentando niveles de cortisol altos en todos los meses y por consiguiente un estrés crónico, algunos estudios mencionan que los cerdos que han experimentado este tipo de estrés, han presentado mayor susceptibilidad al incremento de cortisol después de un desafío con ACTH (Janssens *et al.*, 1994), o bien después de someter a los cerdos a una nueva fuente de estrés (De Jonge *et al.*, 1996), lo que sugiere que para estos cerdos, el muestreo sanguíneo mensual era una nueva fuente de estrés, por lo que la respuesta se incrementa mediante un proceso conocido como sensibilización.

En el caso de los cerdos del grupo 2, que también eran animales de pueblo y que se mantuvieron en buenas condiciones de alimentación y cuidado, son cerdos que posiblemente ya tenían estrés crónico, por lo tanto ya estaban sensibilizados. El hecho de trasladarlos a la facultad, cambiarles a una buena alimentación, el cambio de temperatura, sacarlos a pasear y sobre todo mantenerlos confinados, contribuirían a que la respuesta al estrés se potencializara provocando los altos niveles de cortisol.

En contraste, los animales del grupo tres que presentó niveles de cortisol más bajos, posiblemente se debió a que los cerdos provienen de una granja tecnificada, los cuales fueron expuestos desde su nacimiento a fuentes de estrés que se repetían en forma continua (manejo) y que con el tiempo disminuían en magnitud hasta llegar a lo que se conoce como respuesta adaptativa al estrés. (Hernández, *et al.*, 2006).

Otros factores que pueden influir en estas diferencias entre grupos son el sexo, la edad y el estado reproductivo de un animal (Dufty y Belthoff, 1997; Washburn and Millspaugh, 2002 ;2004) ya que los cerdos que se compraron en el pueblo (grupo1 y 2) eran de entre 3 y 4 meses de edad, ya que era muy difícil encontrar cerdos de la misma edad en la comunidad y los cerdos de la granja tecnificada tenían 3 meses de

edad. Otro factor es la condición corporal (Heath y Dufty, 1998; Smith et al, 1994), los cerdos del grupo 3 tuvieron más peso y una condición corporal óptima (3), esto porque son cerdos de raza y la alimentación que recibieron desde el principio fue ideal, no así en los cerdos procedentes del pueblo los cuales desde pequeños comieron lo poco que le daban sus dueños y el alimento que encontraban. Aunque los dos grupos provenían del pueblo, los cerdos que se quedaron en el pueblo al final del experimento estaban más altos y más largos que los cerdos que se trasladaron a la facultad los cuales tenían una condición corporal de 4 y con mayor peso.

En los resultados de cortisol en heces como se esperaban, tuvieron un comportamiento similar a los resultados de suero, aunque en este último si se encontró diferencia significativa entre el grupo 2 y el 3. Esta ligera diferencia entre suero y heces puede tomarse a favor de lo obtenido en heces ya que este método es ventajoso sobre procedimientos invasivos tradicionales (por ejemplo, captura y recolección de sangre) porque las muestras se obtienen sin perturbar a los animales de estudio (Wasser et al., 1991, 2000; Washburn and Millspaugh, 2002), además de que el tiempo de tránsito intestinal desde el duodeno hasta el recto en los cerdos es de 48 h (Carlsson *et al.*, 2007), lo que ofrece mayor certeza en la determinación de cortisol basal. No obstante hay muchos factores que pueden confundir, como la dieta (Wasser et al., 1993); se sabe que la influencia de la ingesta de alimento puede ser considerado como una de las causas de la variación en las concentraciones de esteroides en heces (Mostl y Palme 2002) ya que la disponibilidad y el valor nutricional de recursos alimenticios cambia según la temporada y en el caso de carnívoros, sus niveles de glucocorticoides en heces puede ser alterado por el consumo directo de estos en sus presas (Millspaugh and Washburn, 2004). Entre otros factores se encuentran, la temperatura, humedad, y otras condiciones ambientales que favorecen la proliferación de bacterias contenidas en las heces, las cuales metabolizan esteroides por lo que pueden influir en las concentraciones de los glucocorticoides (Touma y Palme, 2005; Mostl et al 2005). Al parecer estos elementos no afectaron marcadamente los resultados en heces en la presente investigación ya

que fueron consistentes respecto a los de suero. El único inconveniente presentado con respecto a la medición, considerando que la cantidad de cortisol en heces de cerdos es 13 veces menor a lo que se excreta en orina (Mostl *et al.*, 2005), se tuvo que agregar otros puntos a la curva estándar del kit de cortisol menores a las establecidas, quedando la mayoría de los resultados en el margen inferior de la curva, por este motivo se recomienda utilizar un método más sensible como el Radioinmunoanálisis con tritio.

La relación de los niveles de cortisol tanto en heces como en suero, con las fases de destrucción de los cisticercos encontrados a la necropsia, indican que los cerdos con bajos niveles de cortisol (grupo 3) presentaron una reacción inflamatoria perilarvaria, destruyendo una mayor cantidad de cisticercos (15%) en comparación con los grupos que presentaron niveles elevados de cortisol; grupo 1 y 2 con 3% lo cual sugiere que entre más elevado sea el nivel de cortisol menor es la destrucción parasitaria, aunque no se puede descartar el factor nutricional y genético, teniendo este último una enorme variabilidad entre las especies, razas y los individuos en el funcionamiento básico de la adaptación, mecanismos y en sus respuestas a los desafíos ambientales (Mormede *et al.*, 2007).

Es bien sabido que los elevados niveles de glucocorticoides induce alteraciones en el sistema inmunológico como: disminución en la proliferación de linfocitos y disminución en la citotoxicidad de linfocitos NK (Venero *et al.*, 2001), suprime la expresión de la interleucina-1 beta, factor de necrosis tumoral-alfa, amiloide sintasa inducible A y óxido nítrico (Saeij *et al.*, 2003), disminución en el número de leucocitos circulantes y la migración de leucocitos a los tejidos, así como abatir la producción de moléculas antiinflamatorias como las prostaglandinas y leucotrienos (Granner, 2001 y Hiriart, 2005). Bajo estas circunstancias la respuesta de tipo TH1 puede verse afectada, basado en el hecho de que durante las primeras tres semanas de la infección se presenta una respuesta de tipo TH1 que es restrictiva al crecimiento del parásito (Toenjes *et al.*, 2003) lo cual concuerda con lo obtenido en el estudio.

Otro resultado que se puede destacar es la comparación realizada entre cerdos no

infectados (controles) e infectados en cuanto a los niveles de cortisol, donde no se reporto diferencia entre los grupos, lo cual sugiere que la presencia de metacéstodos no parece ser una condición de estrés para el huésped, esto concuerda con Peña et al., 2007.

X. CONCLUSIONES

- El manejo del muestreo sanguíneo no afectó la concentración de cortisol ya que la concentración de cortisol en suero fue directamente proporcional a la concentración de cortisol en heces.
- El manejo que recibieron los cerdos de granja tecnificada desde el nacimiento ayudo a realizar una respuesta adaptativa al estrés.
- El estrés ocasionado por la vida libre de la comunidad fue similar al estrés ocasionado por el confinamiento de cerdos acostumbrados a la vida libre.
- La infección no afecta los niveles de cortisol.
- Al parecer el estrés podría influir en la capacidad de destruir a los cisticercos ya que el grupo de cerdos con menor concentración de cortisol presento mayor destrucción de cisticercos.
- La técnica de radioinmunoanálisis utilizada no es muy sensible para medir cortisol en heces, debido a que la cantidad de cortisol en heces es poca, por lo cual se requiere la aplicación de una técnica que mida desde picomoles, como es radioinmunoanálisis con tritio.

Aunque el número de animales incluidos en este trabajo es reducido, los datos muestran en principio que una elevada concentración de cortisol, resultado de un alto grado de estrés, aparentemente inhibe la habilidad de los cerdos para destruir metacéstodos de *T. solium*, aunque no se puede dejar de lado el factor genético y nutricional.

XI. Bibliografía

1. Accorsi P, Carloni E, Valsecchi P, Viggiani R, Gamberoni M, Tamanini C, Seren E. (2008). Cortisol determination in hair and faeces from domestic cats and dogs. *General and Comparative Endocrinology* 155:398–402.
2. Akira S, Takeda K, Kaisho T. (2001). Toll-Like receptors: critical proteins linking innate and acquired immunity. *Nature Immunol.* 2:675-680.
3. Aluja AS de. Métodos de eutanasia. En Aluja AS de, Constantino CF. Técnicas de necropsia en animales domésticos. Manual Moderno. México. 2002: 3-11.
4. Aluja AS de, Villalobos MAN, Plancarte A, Rodarte LF, Hernández M, Zamora C and Sciutto E. (1999). *Taenia solium* cysticercosis: immunity in pigs induced by primary infection. *Vet. Parasitology.* 81:129-135.
5. Aluja AS de y Larralde C. Cisticercosis: Guía para profesionales de la Salud. Fondo de Cultura Económica. México. 2006: 41-86.
6. Aluja AS de, Vargas MG. (1988). The histopathology of porcine cysticercosis. *Veterinary Parasitology.* 28(1-2): 65-77.
7. Aldercreutz H, Martin F, Pulkkinen M, Dencker H, Rimer U, Sjöberg NO, Tikkanen MJ. (1976). Intestinal metabolism of estrogens. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 43: 497–505.
8. Basurto AF y Cobos ML. Respuesta inmune innata. En: Gutiérrez PJA. *Imunología veterinaria. Manual moderno.* México. 2010: 21-30.
9. Borell EH. (2001). The biology of stress and its application to livestock housing and transportation. *J Anim Sci* 79:E260-E267
10. Branko NH; Menacho LA, Rodríguez S, Bustos JA, Gilman RH. (2005). Taeniasis and Cysticercosis In Housemaids Working In Affluent Neighborhoods In Lima, Peru. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 73(3): 496–500.
11. Broom D.M. and Johnson K.G. Stress and animal welfare. Chapman and Hall 1993:58-65.
12. Brousset HJ, Galindo MF, Valdez PRA, Romano PM, Aluja SA De. (2005). Cortisol en saliva, orina y heces: evaluación no invasiva en mamíferos silvestres. *Vet. Mex.* 36 (3):325-337.
13. Bruce SE and Wingfield JC. (2003). The concept of allostasis in biology and biomedicine. *Hormones and Behavior* 43:2–15.

14. Brown JL, Wasser SK, Wildt DE, Graham LH. (1994). Comparative aspects of steroid hormone metabolism and ovarian activity in felids, measured noninvasively in feces. *Biology of Reproduction* 51: 776–78.
15. Carlsson HE, Lyberg K, Royo F, Hau J. (2007). Quantification of stress sensitive markers in single fecal samples do not accurately predict excretion of these in the pig. *Research in Veterinary Science* 82 423–428.
16. Castro GA. Helminths: Structure, Classification, Growth, and Development. In Medical microbiology. Baron S, editor. University of Texas Medical Branch at Galveston. 1996: 168-174.
17. Cavigelli S y Pereira M. (2000). Mating season aggression and fecal testosterone levels in male ring-tailed lemurs. *Hormones and Behavior* 37: 246–255.
18. Charmandaris E, Tsigos C & Chrousos GP. (2005). Neuroendocrinology of stress. *Ann. Rev. Physiol.* 67, 259–284.
19. Chrousos GP & Gold PW. (1992). The concepts of stress and stress system disorders: overview of physical and behavioral homeostasis. *JAMA* 267: 1244–1252.
20. Chrousos GP. (2000). The stress response and immune function: clinical implications. *Ann. NY Acad. Sci.* 917: 38–67.
21. Chrousos GP. (2009). Stress and disorders of the stress system. *Nat. Rev. Endocrinol.* 5: 374–381.
22. Constantine A. Stratakis and Chrousos P.G. (2007). Neuroendocrinology and Pathophysiology of the Stress System. *Annals New York Academy of Sciences.*
23. Copado BF, Aluja AS de, Mayagoitia L and Galindo F. (2004). The behaviour of free ranging pigs in the Mexican tropics and its relationship with human faeces consumption. *Applied Animal Behaviour Science.* 88:243-252.
24. Davenport MD, Tiefenbacher S, Lutz CK, Novak MA, Meyer JS. (2006). Analysis of endogenous cortisol concentrations in the hair of rhesus macaques. *General and Comparative Endocrinology* 147:255–261.
25. De Jonge F, Bokkers E, Schouten W, Helmond F. (1996). Rearing piglets in a poor environment: Developmental aspects of social stress in pigs. *Physiol Behav.* 60:389-396.
26. Del Brutto OH. (1999). Neurocisticercosis. *Rev Neurol;* 29: 456-466.

27. Dufty JAM, Belthoff JR. (1997). Corticosterone and the stress response in young western screech-owls: effects of captivity, gender, and activity period. *Physiological Zoology* 70: 143–149.
28. Flisser A, Vargas-Parada L, y Laclette JP. (2006). *Taenia solium*: un parásito cosmopolita. INVESTIGACIÓN Y CIENCIA.
29. Flores PFI. (2003). Efectos biológicos inducidos por la radiación gamma en el metacéstodo de *Taenia solium*. Tesis de doctorado. UNAM. México, D. F.
30. García HH, Gilman RH, Gonzáles AE, Verastegui M, Rodríguez S, Gavida C, Tsagan VCW. (2003). Hyperendemic Human And Porcine *Taenia Solium* Infection In Perú. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 68(3):268–275.
31. Granner KD. (2001). Hormonas de la corteza suprarrenal. En: "Bioquímica de harper". (Murray KR, Mayes AP, Granner KD, Rodwell WV). Editorial Manual moderno, México, pp. 657-671.
32. Hamilton GD, Weeks JHP. (1985). Cortisol and aldosterone comparisons of cottontail rabbits collected by shooting, trapping, and falconry. *Journal of Wildlife Diseases* 31:40–42.
33. Harper JM, Austad SN. (2000). Fecal glucocorticoids: a noninvasive method of measuring adrenal activity in wild and captive rodents. *Physiological and Biochemical Zoology* 73:12–22.
34. Heath JA, Dufty JAM. (1998). Body condition and the adrenal stress response in captive American kestrel juveniles. *Physiological Zoology* 71, 67–73.
35. Hendrix M. Diagnostico Parasitológico veterinario. Harcourt Brace. España. 1999:68-75.
36. Hernández C, Ángeles M, Zapata S, Montaña B, Gómez R. (2006). Efectos de la densidad por corral sobre la producción y las concentraciones sanguíneas de metabolitos y cortisol en cerdos en crecimiento y finalización. *Vet. Mex.* 37(1):132-145.
37. Herrera Garcia S, Schunemann de Aluja A, Méndez Aguilar RE. (2007). El uso de la ultrasonografía para el diagnostico de la cisticercosis porcina. *Vet Mex.* 38(1):125-133.
38. Hiriart M. Corteza suprarrenal. En: Drucker CR. Fisiología medica. Editorial Manual moderno. México. 2005:569-580.
39. Janssens C, Helmond F, Wiegant V. (1994). Increased cortisol response to exogenous adrenocorticotrophic hormone in cronicly stressed pigs: influence

- of housing conditions. *J. Anim. Sci.* 72: 1771-1777.
40. Jiménez-Marcial ME, Velásquez-Pérez L. (2004). Morbidity at the Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía Manuel Velasco Suarez, 1995-2001 *Gac. Med. Mex.* 140: 155-162.
 41. Kassai T. *Helmintología Veterinaria*. Acribia. Zaragoza, España. 1998:23-39.
 42. Kino T, Chrousos G. (2001). Glucocorticoid and mineralocorticoid resistance/hypersensitivity syndromes. *J. Endocrinol.* 169: 437-45
 43. Lapage G. (1968). *Parasitología Veterinaria*. México: Continental S.A.: 259-265.
 44. Levine N. (1978). *Tratado de Parasitología Veterinaria*. Zaragoza, España: Acribia: 69-71.
 45. López C, Martín A, Soto L. Glucocorticoides. Andrógenos Adrenales. En: Tresguerres J, Benítez E, Devesa J, Moreno B. *Tratado de Endocrinología Básica y Clínica. Síntesis*. México. 2006: 978-1001.
 46. Luhmann W, Bratke K, Küpper M, Myrtek D. (2009). *Inmunología: Manual de Técnicas de Investigación en el Laboratorio*: Zaragoza, España: Acribia: 69-71.
 47. Martínez MJJ, Aluja AS, Avila RG, Aguilar VL, Plancarte CA, Jaramillo AC. (2003). Teniosis y detección de anticuerpos anticisticerco en personas de una comunidad rural del estado de Guerrero. *Salud pública de México.* 45(2)
 48. Mazzotti L, Davalos A, Martínez-Maranon R. (1965). Infecciones experimentales por *Cysticercus cellulosae* en diferentes especies de mamíferos. *Revista del Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales* 25:151-162.
 49. Millspaugh JJ and Washburn BE. (2003). Within-sample variation of fecal glucocorticoid measurements. *General and Comparative Endocrinology* 132: 21-26.
 50. Millspaugh JJ and Washburn BE. (2004). Use of fecal glucocorticoid metabolite measures in conservation biology research: considerations for application and interpretation. *General and Comparative Endocrinology* 138:189-199.
 51. Moreno A. (2000). Céstodos. *Apuntes de Zoología*
<http://www.ucm.es/info/tropico/docencia/Textos/C5%20CÉSTODOS.pdf>.
 52. Mormède P, Andanson S, Aupérin B, Beerda B, Guémené D, Malmkvist J, Manteca X, Manteuffel G, Prunet P, Cornelis G, Richard S, Veissier I. (2007). Exploration of the hypothalamic-pituitary-adrenal function as a tool to

- evaluate animal welfare. *Physiology & Behavior* 92 317–339.
53. Mostl E, Rettenbacher S, Palme R. (2005). Measurement of Corticosterone Metabolites in Birds' Droppings: An Analytical Approach. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1046: 17–34 (2005).
 54. Möstl E and Palme R. (2002). Hormones as indicators of stress. *Domestic Animal Endocrinology* 23:67-74.
 55. Mucio R. (2007). La Neuroquímica del Estrés y el Papel de los Péptidos Opioides. *Revista Educación Bioquímica* 26(4):121-128.
 56. Nelson R, Demas G. (1996). Seasonal changes in immune function. *Q. Rev. Biol.* 71: 511–548.
 57. Palme R. (2005). Measuring Fecal Steroids: Guidelines for Practical Application. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1046:75-80.
 58. Paquete estadístico SPSS 16.0 (SPSS, Inc. 2007).
 59. Peña N, Morales J, Morales-Montor J, Vargas-Villavicencio A, Fleury A, et al. (2007). Impact of naturally acquired *Taenia solium* cysticercosis on the hormonal levels of free ranging boars. *Vet Parasitol* 149: 134-7.
 60. Quiroz RH. Céstodos. En: Sánchez A, Hernández S, Navarrete L, Diez B, Quiroz R, Cavarilto V. *Fisiología Veterinaria*. Mc Graw-Hill. México. 1999: 107-111.
 61. Romero LM, Remage-Healey L. (2000). Daily and seasonal variation in response to stress in captive starlings (*Sturnus vulgaris*): corticosterone. *General and Comparative Endocrinology* 119: 52–59.
 62. Saeij JP, Verburg-van Kemenade LB, van Muiswinkel WB, Wiegertjes GF (2003). Daily handling stress reduces resistance of carp to *Trypanoplasma borreli*: in vitro modulatory effects of cortisol on leukocyte function and apoptosis. *Dev Comp Immunol* 27: 233-45.
 63. Sands J, Creel S. (2004). Social dominance, aggression and faecal glucocorticoid levels in a wild population of wolves, *Canis lupus*. *Anim. Behav.* 67: 387–396.
 64. Santamaría E, Plancarte A and Aluja A.S. de (2002) The experimental infection of pigs with different numbers of *Taenia solium* eggs: immune response and efficiency of establishment. *J. Parasitol.* 88(1):69-73.

65. Schatz, S., Palme, R. (2001). Measurement of faecal cortisol metabolites in cats and dogs: a non-invasive method for evaluating adrenocortical function. *Vet. Res. Commun.* 25: 271–287.
66. Sciutto E, Aluja A, Fragoso G, Rodarte LF, Hernandez M, VillalobosMN, Padilla A, Keilbach N, Baca M, Govezensky T. (1995). Immunization of pigs against *Taenia solium* cysticercosis: factors related to effective protection. *Vet Parasitol* 60: 53–67.
67. Selye H. (1950). Stress. Acta Medical Publisher. Montreal, Quebec, Canada. In: Constantine A. Stratakis and Chrousos P.G. (2007). Neuroendocrinology and Pathophysiology of the Stress System. ANNALS NEW YORK ACADEMY OF SCIENCES.
68. Silverman PH. (1954). Studies on the biology of some tapeworms of the genus *Taenia*, II: The morphology and development of the Taeniid hexacanth embryo and its enclosing membranes, with some notes on the state of development and propagation of gravid segments. *Ibid* 48: 336.
69. Smith GT, Wingfield JC, Veit RR. (1994). Adrenocortical response to stress in the common diving petrel, *Pelecanoides urinatrix*. *Physiological Zoology* 67:526–537.
70. Smyth, J. (1969), *The Physiology of Cestodes*. En: Aluja AS de y Larralde C. (2006). Cisticercosis: Guía para profesionales de la Salud. Editorial Fondo de Cultura Económica, México, pp.21.
71. Sterling P y Eyer J. (1988). Allostasis: A new paradigm to explain arousal pathology. En: Fhiser Sm Reason J (eds), Handbook of Life Stress, Cognition and Health. Chichester, John Wiley, p 629-649.
72. Toenjes SA, Kuhn, RE. (2003). The initial immune response during experimental cisticercosis is of the mixed Th1/Th2 type. *Parasitology Research* 89, 407-413.
73. Touma Ch Y Palme R. (2005). Measuring Fecal Glucocorticoid Metabolites in Mammals and Birds: The Importance of Validation. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1046: 54–74.
74. Uribarren TB. (2011). Generalidades de los céstodos. Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, UNAM
www.facmed.unam.mx/.../céstodos.html
75. **Vázquez JT y Laclette JP. (2011).** Caracterización de la respuesta inmune hacia paramiosina en la cisticercosis humana y murina.

76. Venero C, Sandi C, Cordero MI. (2001). Estrés, memoria y transtornos asociados. Implicaciones en el daño cerebral y el envejecimiento. Editorial Ariel, Barcelona, pp. 9-65.
77. Verastegui M, Gilman R, Arana Y, Barber D, Velásquez J. (2007). *Taenia solium* Oncosphere Adhesion to Intestinal Epithelial and Chinese Hamster Ovary Cells In Vitro. *Infection And Immunity*. 75(11): 5158–5166
78. Von Borell EH. (2000). The biology of stress and its application to livestock housing and transportation assessment. *J. Anim. Sci.* 79(E. Suppl.):E260–E267.
79. Washburn BE and Millspaugh JJ. (2002). Effects of simulated environmental conditions on glucocorticoid metabolite measurements in white-tailed deer feces. *General and Comparative Endocrinology* 127: 217–222
80. Wasser SK, Monfort SL, Wildt DE. (1991). Rapid extraction of faecal steroids for measuring reproductive cyclicity and early pregnancy in free-ranging yellow baboons (*Papio cynocephalus cynocephalus*). *Journal of Reproduction and Fertility* 92: 415–423.
81. Wasser SK, Hunt KE, Brown JL, Cooper K, Crockett CM, Bechert U, Millspaugh JJ, Larson S, Monfort SL. (2000). A generalized fecal glucocorticoid assay for use in a diverse array of non-domestic mammalian and avian species. *General and Comparative Endocrinology* 120: 260–275.
82. Wasser SK, Thomas R, Lair PP, Guidry C, Southers J, Lucas J, Wildt DE, Monfort SL. (1993). Effects of dietary fibre on faecal steroid measurements in baboons (*Papio cynocephalus cynocephalus*). *Journal of Reproduction and Fertility* 97: 569–574.
83. Willms K., Caro J., Robert L. (2003). Ultrastructure of spermatogonia and spermatocyte lobules in experimental *Taenia solium* strobilae (*Cestoda, Cyclophyllidea, Taeniidae*) from golden hamsters. *Parasitology Research* 90(6):479-488.
84. Wingfield JC, Suydam R, Hunt K. (1994). The adrenocortical responses in snow buntings (*Plectrophenax nivalis*) and Lapland longspurs (*Calcarius lapponicus*) at Barrow, Alaska. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 108: 299–306.
85. Yates D, Ross T, Hallford D, Yates L, Wesley R. (2010). Technical note: Comparison of salivary and serum cortisol concentrations after adrenocorticotrophic hormone challenge in ewes. *J. Anim. Sci.* 88: 599-603.

86. Zambrano AF, Díaz SUV. (1996). Manual: El radioinmunoanálisis y su control de calidad. Centro nuclear de México Nabor Carrillo e Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares México.