



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

ESPECIALIZACIÓN EN BIOQUÍMICA CLÍNICA

“Efecto de cinco moléculas orgánicas en cisticercos de *Taenia solium*”

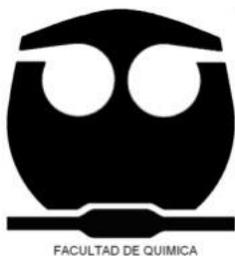
T E S I S A

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

ESPECIALISTA EN BIOQUÍMICA CLÍNICA

PRESENTA:

NARDA KARINA CASTRO NOLASCO



MEXICO, D.F.

2014



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.

JURADO ASIGNADO

Presidente: Dr. Luis Manuel Perea Mejía

Vocal: Dr. Abraham Landa Piedra

Secretario: Dr. José Pedraza Chaverrí

Primer suplente: Dr. Mario Adán Moreno Eutimio

Segundo Suplente: M en C. María de los Ángeles Granados Silvestre

Esta Tesina fue realizada en el Laboratorio de Biología Molecular del Departamento de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Medicina, UNAM, bajo la asesoría del Dr. Abraham Landa Piedra. El trabajo de investigación fue apoyado por la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA). Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) con el contrato IN219711, y por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología con el contrato CONACyT-176925.

Dr. Abraham Landa Piedra (Asesor del proyecto)

Q.F.B. Narda Karina Castro Nolasco (Sustentante)

INDICE

Abreviaturas	5
Resumen	6
I. Introducción	
I.1 Historia y clasificación taxonómica de <i>Taenia solium</i>	7
I.2 Aspectos anatómicos de <i>Taenia solium</i>	8
I.3 Ciclo biológico de <i>Taenia solium</i>	12
I.4 Distribución geográfica de <i>Taenia solium</i> y su importancia en el binomio teniasis-cisticercosis	14
I.5 Sintomatología, diagnóstico y tratamiento de la teniasis	16
I.6 Sintomatología, diagnóstico y tratamiento de la neurocisticercosis	19
I.7 Asociación <i>Taenia solium</i> (cisticercosis) con cáncer	22
I.8 Anticarcinógenos	26

II. Justificación	31
III. Hipótesis	32
IV. Objetivo general	32
IV.1 Objetivos particulares	32
V. Materiales y métodos	
V.1 Material biológico	33
V.2 Criterios de selección de los cisticercos	33
V.3 Pre cultivos	33
V.4 Determinación del efecto de los compuestos anticarcinogénicos con Zn en cisticercos de <i>Taenia crassiceps</i> cepa WFU	34
V.5 Determinación de la DL_{50}	34
VI. Resultados	36
VII. Discusión de Resultados	45
VIII. Conclusiones	48
IX. Bibliografía	49

ABREVIATURAS

%.....	Porcentaje
$\mu\text{mol/mL}$	Micromoles por mililitro
μL	Micro litros
ADN.....	Ácido desoxirribonucleico
ATP.....	Adenosin trifosfato
$^{\circ}\text{C}$	Grados Celsius
C19.....	Compuesto 19
C29.....	Compuesto 29
C30.....	Compuesto 30
C33.....	Compuesto 33
C34.....	Compuesto 34
CO_2	Dióxido de carbono
DL_{50}	Dosis letal 50
DMSO.....	Dimetil sulfóxido
GPx.....	Glutación peroxidasa
H.....	Horas
PBS.....	Amortiguador salino de fosfatos
PCR.....	Reacción en cadena de la polimerasa
RNA.....	Ácido ribonucleico
ROS.....	Especies reactivas de oxígeno
RPMI.....	Medio de cultivo Roswell Park Memorial Institute
SNC.....	Sistema nervioso central
<i>T. solium</i>	<i>Taenia solium</i>
<i>T. crassiceps</i>	<i>Taenia crassiceps</i>
TGTP1 y TGTP2.....	Transportadores de glucosa en <i>Taenia solium</i>
Zn.....	Zinc

RESUMEN

El cáncer es una de las principales causas de muerte en todo el mundo; en 2008 causó 7,6 millones de defunciones y se estima que las muertes por cáncer aumenten y alcancen la cifra de 13,1 millones en 2030.

Organismos como virus, bacterias y parásitos contribuyen con un 13 a 20% en el desarrollo de cáncer humano y *Taenia solium* no es la excepción, este parásito es el causante de dos patologías la teniasis y la cisticercosis, asociándose esta última con el desarrollo de enfermedades hematológicas malignas que producen cáncer. Se han propuesto dos mecanismos por los cuales *Taenia solium* en su fase larvaria podría generar cáncer 1) Inflamación crónica, 2) producción de compuestos tóxicos que interactúan con el ADN generando mutaciones, concluyendo en cáncer. Es importante mencionar que el tratamiento de elección para la neurocisticercosis es un antihelmíntico de amplio espectro el albendazol, al cual el parásito ya comienza a desarrollar resistencia. En este estudio se probaron cinco compuestos con zinc (anticarcinogénicos), como una estrategia alternativa para la destrucción de los cisticercos. Los ensayos se realizaron exponiendo cisticercos de *Taenia crassiceps* a diferentes concentraciones de los compuestos anticarcinogénicos y se determinó el daño que les provocan. De cinco compuestos probados, el compuesto (C19) potenció el crecimiento y los compuestos (C29 y C34) destruyeron a los cisticercos en tiempos cortos con dosis del orden de 150 a 400 $\mu\text{mol}/\mu\text{L}$, respectivamente. Los efectos observados fueron parálisis, daño morfológico y la inhibición de la evaginación de los cisticercos. El compuesto C34 fue más potente que el compuesto C29 y el albendazol. Este trabajo describe por primera vez el efecto que compuestos anticarcinogénicos presentan sobre los cisticercos, lo que revela una nueva estrategia terapéutica contra esta parasitosis y prevención del cáncer.

I. INTRODUCCIÓN

I.1 Historia y Clasificación taxonómica de *Taenia solium*

Los humanos pueden infectarse por diferentes tipos de organismos tales como bacterias, virus, hongos y parásitos, dentro de este último grupo se encuentran los helmintos de la clase cestoda que comprenden a las tenias, cuyas especies de importancia humana son: *Taenia saginata*, *Taenia solium*, *Diphyllobotrium latum*, *Hymenolepis diminuta*, *Hymenolepis nana* y *Dipylidium caninum* (Koneman et al., 2006). Desde la época de Hipócrates, y posiblemente desde los tiempos de Moisés, se sabe que *Taenia solium* parasita al hombre y en estudios posteriores realizados por Edward Tyson se logró el aislamiento de *Taenia* en humanos, perros y otros animales. Tyson fue la primera persona en aislar el escólex de este helminto, sin embargo fue hasta el año de 1558 cuando Gessner y Ramler informaron del estado larvario en el hombre, en 1782 Tyson y Goeze lograron diferenciar a *Taenia solium* de *Taenia saginata* y en 1855 Kuchenmeister y Leuckart investigaron el ciclo biológico y descubrieron el estadio infectante para el hombre (COX, 2002). Este parásito es conocido comúnmente con el término de “solitaria”. El nombre de *solium* no corresponde al concepto de sola o solitaria, si no que deriva de la palabra árabe “soltz” que significa cadena y que alude a la que forman los proglótidos del estróbilo, estructura que mencionaremos en el siguiente capítulo (Flisser et al., 2006).

Hoy en día *Taenia solium* se encuentra clasificada taxonómicamente de la siguiente Forma (Koneman et al., 2006):

Reino: Animalia, Phylum: Platyhelminths, Clase: Cestoda, Orden: Cyclophyllidea, Familia: Taeniidae, Género: *Taenia* y Especie: *solium*.

I.2. Aspectos anatómicos de *Taenia solium*.

En cuanto a su anatomía *Taenia solium* también es conocida como *Taenia* armada por presentar una doble corona de ganchos (de 22 a 32, los cuales miden de 110 a 180 micras) en el escólex o cabeza, que mide aproximadamente 1 mm de diámetro y posee con cuatro ventosas que junto con los ganchos, se fija a la pared intestino delgado del humano (Koneman et al., 2006).



Fig. 1. *Taenia solium*

Después del escólex podemos localizar el cuello un sitio corto de aproximadamente la mitad del grosor del escólex, en esta región se encuentran células pluripotenciales, también conocidas como células “madre” que son las responsables de la formación de nuevos proglótidos. (Flisser et al, 2006).

Los proglótidos forman el estróbilo o cuerpo de *T. solium*, este es largo y aplanado, razón por la cual se encuentra formando parte del phylum de los platyhelminos su longitud puede ir de 2 a 4 m aunque se han reportado ejemplares que llegan a medir de 6 a 10 m de largo.

Habita en el intestino delgado del hombre, carece de tubo digestivo y en compensación presenta un tegumento o epitelio que le permite la absorción de nutrientes y la excreción de desechos, este está formado por micro vellosidades llamadas micróticas las cuales se encuentran cubiertas por una membrana con glicocálix que potencia la permeabilidad de cationes, sales biliares,

nutrientes, y posee actividad de amilasas, tripsina, quimiotripsina y lipasa pancreática (Torres., 2004). El estróbilo del parásito está compuesto de proglótidos, de los cuales podemos encontrar desde 800 hasta 1,000, estos se dividen de la siguiente forma (Tay., 2003):

- Inmaduros o indiferenciados (más cercanos al cuello y no presentan órganos sexuales).
- Maduros (presentes en la parte media del cuerpo y hermafroditas), presentan una estructura rectangular y miden de 5 a 7 mm de longitud.
- Grávidos, estos proglótidos se pueden encontrar en las heces o en el medio ambiente y contienen los huevos de *Taenia solium*, ubicándose en la parte distal del gusano. Miden de 10 a 15 mm de largo y de 6 a 7 mm de ancho (Tay., 2003). Su útero es característico pues presenta de 7 a 13 ramas uterinas usualmente (9 a 10) gruesas las cuales encierran de 30 mil a 50 mil huevos cada una (Tay., 2003).



Fig.2. Anatomía del adulto de *Taenia solium* (Flisser et al., 2006)

Los huevos de *T. solium* miden aproximadamente 30 a 40 μm de diámetro, son de paredes gruesas y radiadas, y no se pueden diferenciar de los huevos de *Taenia saginata* ni de *Taenia asiática* (Flisser et al., 2006). En su interior contienen una oncósfera o embrión con seis ganchos (embrión hexacanto), siendo estos la forma infectante para adquirir la cisticercosis en el hombre y cerdo. Este huevo está protegido por el embrióforo formado por bloques de una proteína similar a la queratina, se caracteriza por ser impermeable y muy resistente.

Las mismas enzimas digestivas y sales biliares del huésped activan a las oncósferas, estas atraviesan la pared intestinal y entran en el torrente sanguíneo, hasta alcanzar el tejido subcutáneo, músculo esquelético, sistema nervioso central y ojos, y desarrollarse en la forma larvaria o cisticerco.



Fig. 3. Huevo de *Taenia sp.*

El cisticerco de *T. solium* es una vesícula ovalada y translúcida, llena de líquido, de 0.5 a 2.0 centímetros de diámetro que presenta un escólex invaginado, al igual que el parásito en su forma adulta el escólex presenta cuatro ventosas y una doble corona de ganchos, también el cisticerco carece de tracto digestivo y adquiere sus nutrientes y secreta sus desechos a través del tegumento de su pared vesicular (Flisser et al., 2006). Los cisticercos utilizan tanto rutas metabólicas

aeróbicas como anaeróbicas dependiendo de la disponibilidad de oxígeno en el medio. Es un gran consumidor de glucosa y se han identificado dos transportadores de la misma (TGTP1 y TGTP2), el segundo se localiza en la superficie tegumentaria del cisticerco, mientras que el primero es abundante en estructuras de la pared vesicular en el cisticerco, así como en el parásito adulto (Rodríguez-Contreras et al., 1998).

Además se han identificado cinco glicoproteínas en la superficie tegumentaria de la pared vesicular de los cisticercos, incluyendo inmunoglobulinas del huésped (Landa et al; 1994). La superficie externa de los helmintos es dinámica porque responde a diferentes estímulos como el cambio de ambiente y ataque inmunológico del huésped (Sciutto et al., 2007).

El desarrollo del cisticerco hacia su forma adulta capaz de producir huevos toma un tiempo aproximado de 2 meses, razón por la cual es de suma importancia conocer el ciclo biológico de este helminto (Villalobos-Perozo., 2003).



Fig. 4. *Taenia solium* (cisticerco).

I.3. Ciclo biológico de *Taenia solium*.

Este parásito alterna entre el ser humano como huésped definitivo y el cerdo como huésped intermediario (Flisser et al., 1997; Flisser et al., 2006; Tay., 2003; García et al., 2003).

En su estado adulto, el platelminto habita en el intestino delgado del ser humano. Su presencia ocasiona la teniasis. En la que la *Taenia* o solitaria, produce miles de huevos, que se expulsan con las heces. El cerdo al ser un animal coprófago se infecta al ingerir heces donde hay huevos o proglótidos del parásito adulto. Cada huevo puede convertirse en un cisticerco ocasionándole la cisticercosis, ya que al ingerir los huevos, sus oncósferas por acción de enzimas digestivas como la tripsina y las sales biliares atraviesan la pared intestinal y son transportadas por torrente sanguíneo hasta músculo y otros órganos como ojo, tejido subcutáneo y sistema nervioso central donde se convierten en cisticerco (Flisser et al., 2006 y Koneman et al., 2006).

El ciclo culmina cuando el hombre consume carne de cerdo infectada con cisticercos mal cocida, lo que permite la supervivencia del estadio larvario. El escólex contenido en el cisticerco se fija en las paredes del intestino humano donde se desarrollan hasta convertirse en el gusano adulto.

La falta de higiene y la convivencia con un teniásico pueden ocasionar la ingesta de huevos de una forma accidental, desarrollándose la cisticercosis humana (Sarti et al., 1997).

Es importante mencionar que aunque el cerdo es el principal huésped intermediario de *Taenia solium*, algunos otros animales, incluyendo al hombre, también pueden accidentalmente alojar cisticercos. Se ha descrito la presencia del parásito en su estadio larvario con róstelo armado, que presumiblemente pertenecen a la especie *Taenia solium*, ha sido reportada en varios mamíferos como: perros, gatos, camellos, conejos, liebres, osos pardos, zorros, coatíes, ratas y ratones (Mazzotti et al., 1965).

CICLO BIOLÓGICO DE *TAENIA SOLIUM*

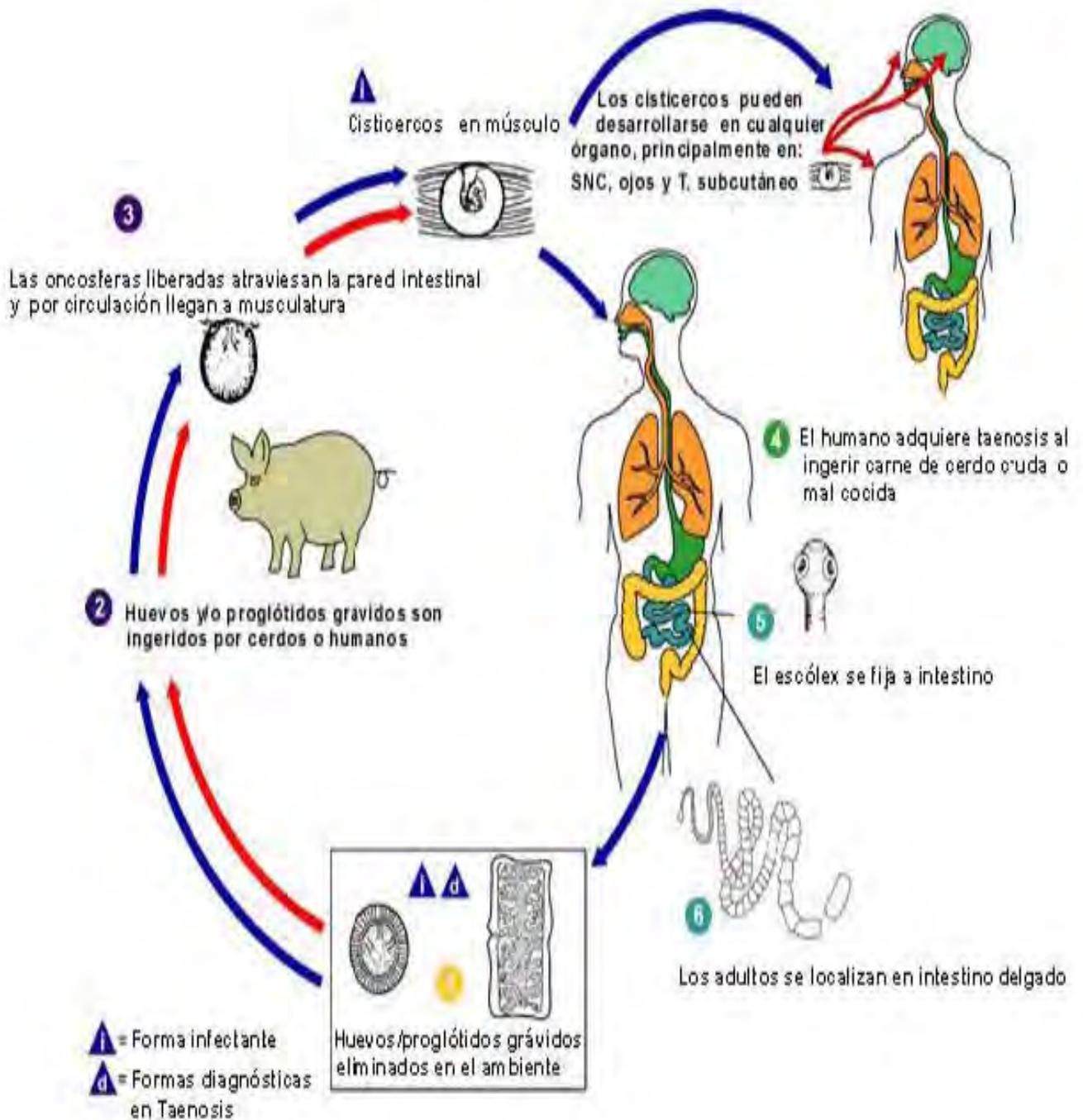


Fig. 5. Ciclo biológico de *Taenia solium* (CDC, Center for disease control and prevention)

1.4 Distribución geográfica de *Taenia solium* y su importancia en el binomio teniasis-cisticercosis

Este parásito es endémico de regiones como Brasil, Colombia, Ecuador, Guatemala, México, Perú, India, África del Sur, África Occidental, EUA entre otros países siendo los movimientos migratorios en este último la principal causa de aparición de la enfermedad (Flisser et al., 2006).

La relevancia de este parásito se encuentra asociada a dos enfermedades la teniasis y la neurocisticercosis siendo esta última en el hombre la más peligrosa.

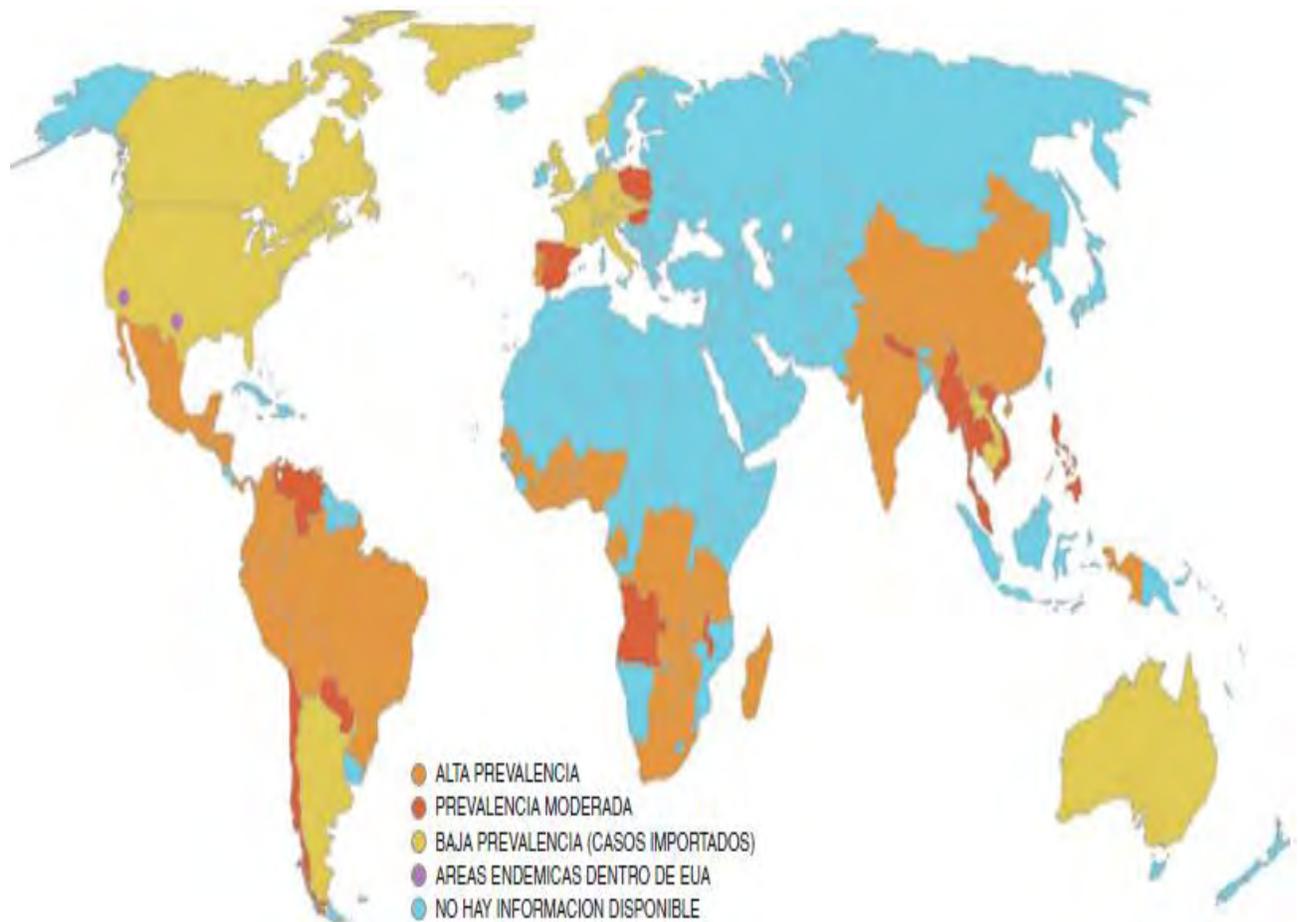


Fig. 6. Distribución geográfica del binomio teniasis/cisticercosis con su nivel de prevalencia. (Flisser et al., 2006).

Estudios realizados en el Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía de la Ciudad de México y el Hospital General de México indican que la cisticercosis cerebral es un padecimiento de gran importancia en nuestro país (Del Brutto et al., 2000). En México, como en muchos otros países, los primeros estudios para conocer la frecuencia de la neurocisticercosis se realizaron en hospitales y en series de necropsias, reportando hasta 8.6 % en pacientes hospitalizados y alrededor de 2 % en necropsias de adultos. En un estudio realizado durante el período 1995-2001 se detectaron un total de 386 casos, estimando un promedio de 55 casos por año (Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica., 2007).

En el caso de la teniasis los 11 estados de la República Mexicana más afectados son: Yucatán, Baja California Sur, Chiapas, Tamaulipas, Michoacán, Coahuila, Campeche, Sinaloa, Jalisco, Querétaro y Chihuahua, mientras que para la cisticercosis las 13 Entidades Federativas en las cuales existe una incidencia nacional mayor son: Jalisco, Hidalgo, Sinaloa, Colima, Zacatecas, Chiapas, Nuevo León, Durango, Baja California, Coahuila, Michoacán, Distrito Federal y Guanajuato (Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica., 2007).

Los estudios epidemiológicos informan que el parásito adulto se presenta en todas las edades y que alcanza su pico más alto en grupos de 16 a 45 años (edad económicamente productiva) no tiene predilección de edad o sexo y afecta a cualquier clase social (Larralde et al., 1992, Larralde, Aluja., 2007). La aparición de esta enfermedad en seres humanos es la falta de higiene, la deficiente inspección sanitaria de la carne y la falta de programas de salud e infraestructura de la misma para la población.

En diversos artículos se ha hecho hincapié en que las condiciones sociales, económicas y culturales están intrínsecamente vinculadas con esta zoonosis, ya que en cada uno de los momentos del ciclo de vida del parásito existen actividades humanas involucradas en su

reproducción. En primer lugar, puesto que la teniasis es una enfermedad exclusiva del humano, éste es el responsable de la dispersión de los huevos del parásito; así la defecación al aire libre y/o la inadecuada eliminación de excretas es la primera práctica de riesgo.

En segundo lugar, una crianza de los cerdos que promueva el contacto de éstos con las heces humanas permite la infección del cerdo. En tercer lugar la falta de control sanitario de la carne de cerdo, su manejo y los hábitos de alimentación que incluyen el consumo de esta carne en forma poco cocida o cruda, también son prácticas que contribuyen a la infección (Larralde et al., Aluja et al., et al., 2007).

Por último la falta de higiene personal especialmente los hábitos relacionados con el lavado de manos antes de comer y después de ir al baño, el consumo de agua sin hervir y de alimentos sin lavar y desinfectar, así como su exposición a agentes que dispersan los huevos, son prácticas que posibilitan la ingestión de éstos por el humano (Larralde et al., Aluja A et al., 2007).

I.5. Sintomatología, diagnóstico y tratamiento de la teniasis.

La infección por el gusano adulto de *T. solium* produce el cuadro clínico denominado teniasis intestinal. Los síntomas pueden ser causados por la producción de sustancias tóxicas por parte del cestodo, inflamación leve en el sitio de implantación y anemia por síndrome de mala absorción intestinal. En general, la mayoría de las infecciones por este parásito presentan una sintomatología moderada, ya que la persona puede cursar con malestar abdominal o dolor epigástrico, meteorismo, plenitud intestinal, sensación de hambre, náuseas, diarrea y una pérdida mínima de peso. Es bastante frecuente detectar una eosinofilia moderada en sangre periférica, mayor del 13% (Álvarez et al., 2004).

Diagnóstico de las teniasis intestinales: Historia clínica: Información sobre la eliminación de proglótidos de forma espontánea o junto con las heces, si el paciente suele comer carne de cerdo cruda o mal cocida y especialmente, si proviene o ha realizado un viaje a una zona endémica.

Características morfométricas: A partir del material parasitario eliminado por el paciente, podemos observar huevos mediante un estudio microscópico directo de éstos, y sólo informaremos el género, ya que ninguna de las tres especies (*Taenia solium*, *Taenia saginata* y *Taenia asiática*) puede diferenciarse mediante estos. Además se pueden aislar proglótidos grávidos, estas estructuras se emplean para el diagnóstico de la enfermedad, y se diferencian entre especies (*Taenia solium* y *Taenia saginata*) por el número de ramas uterinas, *Taenia solium*, presenta de 9 a 13 ramas uterinas y *Taenia saginata* más de 13, en cuanto a tamaño y forma, estos pueden ser diferenciables empleando tinciones especiales. Finalmente el róstelo se obtiene empleando la técnica de tamizaje lo cual permite hacer una identificación aún más completa por especie.

Detección de antígenos en heces: Se realiza mediante un ensayo inmunoenzimático que utiliza anticuerpos contra el parásito, que sólo permite un diagnóstico de género, pero que ayuda a confirmar una parasitosis actual, incluso sin la emisión de huevos o proglótidos (Flisser et al., 2006).

Detección por la técnica de PCR en heces: nos permite la diferenciación de las tres especies, siempre y cuando exista ADN del parásito.

Tratamiento: En cuanto al tratamiento que se emplea para la teniasis intestinal, además de administrar fármacos dirigidos contra el parásito (que dañan directamente su estructura y bloquean rutas metabólicas que este emplea para sobrevivir) se aconseja la administración de un

laxante salino suave 1 o 2 h, después de haber ingerido el fármaco correspondiente. De esta forma se evita que el parásito se desintegre (Robles., 1997).

Los fármacos más empleados en esta parasitosis, son los mismos para todas las especies del género *Taenia*, se recomienda la utilización de praziquantel, albendazol o niclosamida.

El fármaco de elección es el praziquantel, este es un derivado pirazinoisoquinolínico descubierto en 1972, aumenta la permeabilidad al calcio del parásito, lo que produce una contracción generalizada de éste, inhibe además la captación de glucosa del cestodo, forzándolo a consumir sus propias reservas del glucógeno, después de 5 minutos de contacto del praziquantel con los parásitos, se observa al microscopio electrónico degeneración del tegumento (Robles., 1997 y Sciutto et al., 2010), además causa parálisis muscular del parásito, desalojamiento de las venas mesentéricas y pélvicas y muerte subsecuente por reacción de tejido del huésped activo, es importante mencionar que el *levo* isómero de esta molécula es el que presenta la mayor actividad antihelmíntica.

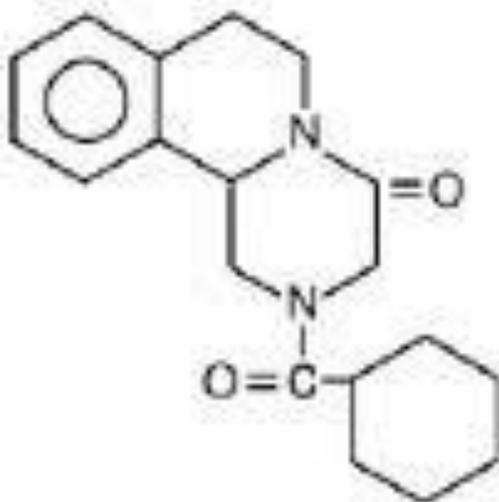


Fig. 7. Estructura molecular del praziquantel (Bayer Health Care., 2010).

La niclosamida es un derivado salicilanilida halogenado, descubierto en 1960, era el fármaco considerado de segunda elección luego del praziquantel para el tratamiento de casi todos los cestodos (Laurence et al., 2006)

Como mecanismo de acción este fármaco inhibe la fosforilación oxidativa mitocondrial en los cestodos, reduce la captación de glucosa disminuyendo la generación anaerobia del trifosfato de adenosina necesario para la función celular. Desafortunadamente este fármaco ya no se produce.

I.6. Sintomatología, diagnóstico y tratamiento de la neurocisticercosis

La sintomatología de la cisticercosis cerebral depende de la localización del cisticerco y la lesión que causan. Pacientes con lesiones parenquimatosas suelen presentar crisis epilépticas, cefaleas, vómito en proyectil e incluso con síntomas focales debidos a un efecto de masa (Robles., 1997).

La inflamación que los rodea puede ser causa de infartos cerebrales al ocluir pequeñas arterias. Las lesiones extra parenquimatosas pueden causar hidrocefalia, por obstrucción mecánica del sistema ventricular. En muchos casos, los síntomas aparecen años después de la invasión del Sistema Nervioso Central (SNC) por la inflamación crónica presente, el efecto de masa o por calcificaciones residuales. De hecho, cuando los cisticercos están ya muertos o han degenerado, habitualmente calcifican e incluso forman una inflamación granulomatosa a su alrededor que puede ser igualmente la causa de muchos de los síntomas de los pacientes. Una manifestación grave pero poco frecuente es la encefalitis.

El diagnóstico se basa en estudios de neuroimagen (Tomografía Axial Computarizada, Resonancia Magnética Nuclear) datos clínicos, y sobre todo datos epidemiológicos. En los análisis rutinarios (Biometría Hemática) ocasionalmente podemos encontrar eosinofilia (Robles., 1997).

En cuanto al tratamiento indicado para esta enfermedad se recomienda la administración de fármacos antiparasitarios como el albendazol y el praziquantel. El fármaco de elección para esta patología es el albendazol, este es un antihelmíntico de amplio espectro, que constituye un tratamiento efectivo para la neurocisticercosis en humanos y la cisticercosis porcina (Laurence et al., 2006) su nombre químico es metil-5-(propiltio)-2-bencimidazol carbamato y su mecanismo de acción está dirigido a dañar de forma selectiva los microtúbulos citoplasmáticos del parásito, ocasionando así la ruptura de las células y la pérdida de funcionalidad. En consecuencia, se produce una acumulación de sustancias secretoras en el aparato de Golgi del parásito, disminuyendo la captación de glucosa y depleción de los depósitos de glucógeno.

Como muchas de las sustancias secretoras presentes en el aparato de Golgi son enzimas proteolíticas que se liberan intracelularmente, la consecuencia final es la autólisis de la célula intestinal y, finalmente, la muerte del gusano (Robles., 1997; Cárdenas., 2010). Otras de las acciones farmacológicas del albendazol son el desacoplamiento de la fosforilación oxidativa así como la inhibición de la fumarato reductasa y de la superóxido dismutasa (Castellanos, et al., 2002), enzimas que participan activamente en la síntesis de ATP, fuente de energía indispensable y en la dismutación del radical superóxido, respectivamente para que la célula pueda llevar a cabo sus múltiples funciones. La supresión de estos mecanismos bioquímicos explica el efecto letal, no sólo en los parásitos adultos sino también para las larvas en sus diferentes estadios y oncósferas.

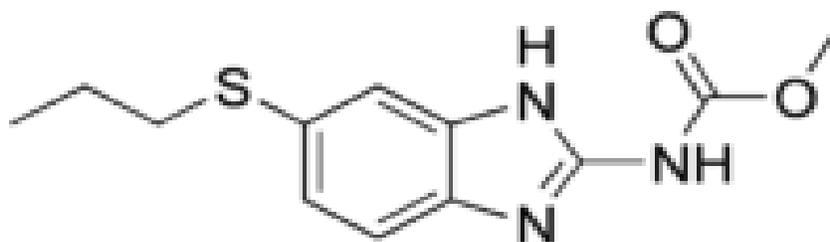


Fig. 8. Estructura molecular del albendazol (Palomares et al., 2006).

La dexametasona se incluye dentro de los extractos adenocorticoides activos, los cuales se prepararon por primera vez en 1930, los adenocorticoides son clasificados por su actividad en dos grupos, los mineralocorticoides y los glucocorticoides, la dexametasona estimula la síntesis de las enzimas necesarias para disminuir la respuesta inflamatoria. Causa supresión del sistema inmunitario reduciendo la actividad y el volumen del sistema linfático, produciendo linfocitopenia. Este fármaco es un corticoesteroide sintético de acción prolongada, con potente actividad anti inflamatoria y mínimas propiedades mineralocorticoides, se usa con frecuencia en casos de edema cerebral (Goodman y Gilman; 2006). También es importante la administración de un anticonvulsivo para el cuadro epiléptico que se presenta en la cisticercosis.

Es importante mencionar que hoy en día el problema de la resistencia a fármacos juega un papel importante a considerar en la terapéutica contra diferentes infecciones, incluidas las de los helmintos. Desde que el praziquantel se introdujo por primera vez como un antihelmíntico de amplio espectro en 1975, se consideró un tratamiento de elección contra este tipo de infecciones teniendo como objetivo enfermedades como la esquistosomiasis, clonorquiasis, opistorquiasis, paragonimiasis, heterophyidiasis, echinostomiasis, fasciolopsiasis, neodiplostomiasis, gymnophalloidiasis, teniasis, difilobotriasis, himenolepiasis y cisticercosis. Sin embargo se han realizado estudios en los cuales se ha identificado que *Fasciola hepática*, *Fasciola gigantica* y *Schistosoma mansoni* son ya refractarios a praziquantel, para estos es necesario el triclabendazol, un medicamento alternativo. Además, las infecciones por cestodos larvarios, particularmente

enfermedad hidatídica y esparganosis, no son tratados con éxito por praziquantel. También hay problemas emergentes con el tratamiento con praziquantel, que incluyen la aparición de las reacciones alérgicas o de hipersensibilidad (Chong et al., 1991; Jong., 2013, Leathwick., 2013).

I.7. Asociación *Taenia solium* (cisticercosis) con cáncer

El cáncer es el nombre dado a las enfermedades en las que hay células anormales que se multiplican sin control y pueden invadir los tejidos cercanos. Las células de cáncer también se pueden diseminar hasta otras partes del cuerpo a través del torrente sanguíneo y el sistema linfático (Instituto Nacional del Cáncer EUA 2013).

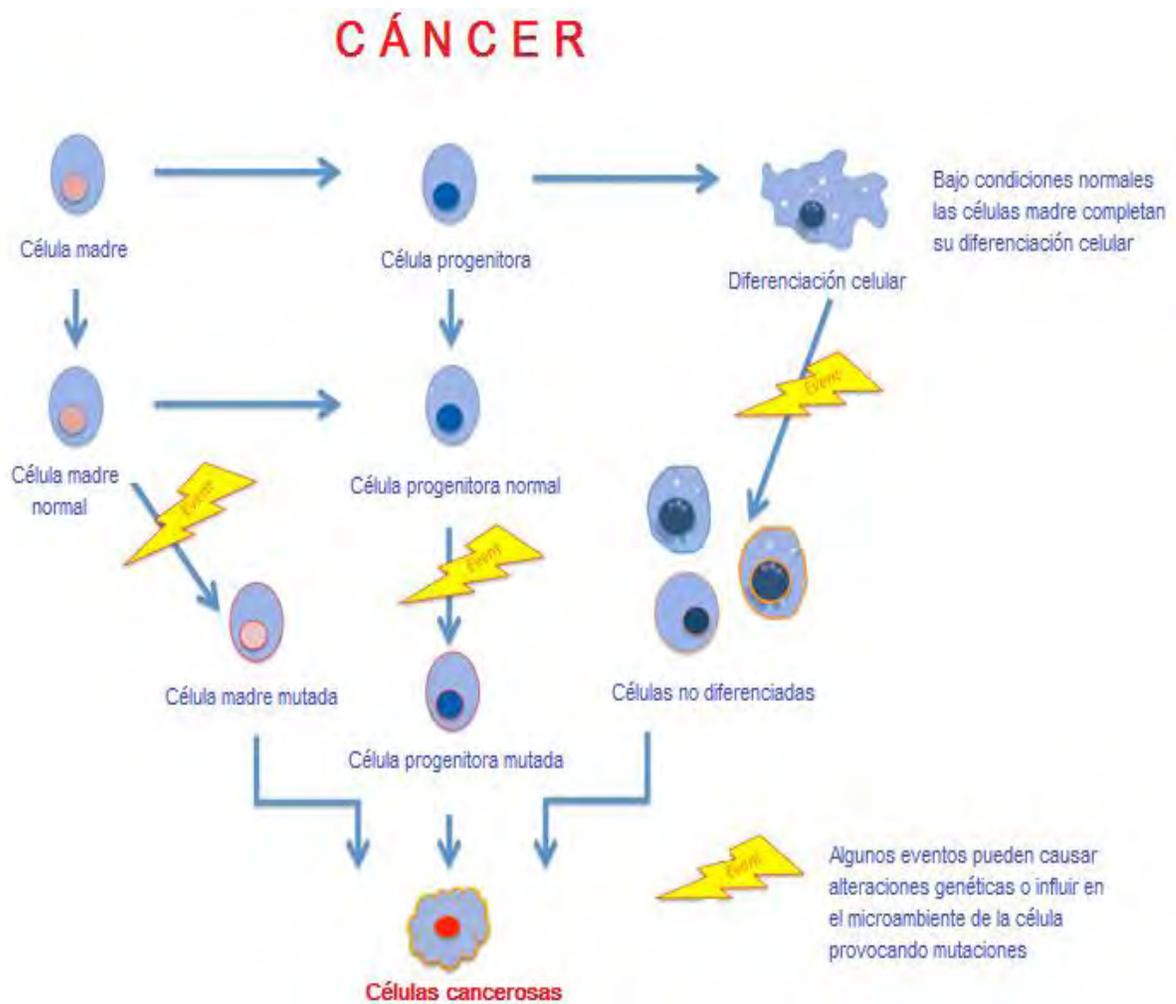


Fig. 9. Producción de células cancerosas (Instituto Europeo de investigación en células madre cancerosas 2013)

De acuerdo con datos proporcionados por la Organización Mundial de la Salud (OMS 2013) el cáncer es una de las principales causas de muerte en todo el mundo; en 2008 causó 7,6 millones de defunciones y se prevé que las muertes por cáncer sigan aumentando y alcancen la cifra de 13,1 millones en 2030.

Diferentes organismos como virus, bacterias e incluso parásitos contribuyen con un 13 a 20% en el desarrollo de cáncer humano en todo el mundo (Herrera, Ostrosky., 2001), como es el caso de *Toxoplasma gondii* causante de meningioma, *Paragonimus westermani* causante de rabdomiosarcoma cerebral, *Plasmodium sp* relacionado con linfoma de Burkitt, *Opisthorchis viverrini* y *Clonorchis sinensis* agentes causales de colangiocarcinoma, *Schistosoma mansoni* asociado con cáncer de colon, *Schistosoma haematobium* y *Schistosoma japonicum* implicados en la aparición de neoplasias malignas en tracto urinario, hígado y tractos biliares (Del Brutto., 2000, Fried et al., 2011). En el caso de *Taenia solium* en su estadio larvario (cisticerco) se ha asociado con la aparición de tumores malignos en particular glioblastoma múltiple y se relaciona con enfermedades hematológicas las cuales se describen más adelante en este capítulo.

Si bien no se conoce la causa exacta por la cual los parásitos en especial los helmintos (*Taenia solium*) se asocian con la aparición de cáncer, se propone que al ser los causantes de enfermedades de tipo crónicas activan mecanismos bioquímicos, como es la peroxidación lipídica (Rodríguez et al, 2008) e inmunológicos en el huésped, llevando a la producción de sustancias tóxicas para las células como las especies reactivas de oxígeno (ROS), nitrógeno, radicales libres (radical hidroxilo, anión superóxido, radical peróxido); los cuales al acumularse ocasionan daño al DNA y son un factor de riesgo alto en el desarrollo de cáncer.

Las células inflamatorias participan en la activación de procarcinógenos, como aflatoxinas e hidrocarburos policíclicos aromáticos y en la formación de carcinogénicos de nitrosinamina

(Herrera et al.,2000). Sin embargo no solo las células del huésped son las productoras de estos compuestos tóxicos sino que también existen informes en los cuales se menciona que los helmintos producen sustancias que juegan un papel importante en la modulación y aparición del cáncer, tal como es el caso de *Taenia taeniaeformis* (cisticerco fasciolaris) el cual secreta y excreta productos que pudieran ser causa de hiperplasia de estómago y fibrosarcoma en ratas; estas sustancias inhiben la comunicación célula-célula jugando un papel importante en la expansión clonal y el inicio de tumores. Así como causar inmunosupresión como es el caso de *Taenia solium* (cisticerco) por dos vías, en la primera por transferencia de material genético entre el parásito y el huésped o bien por respuesta inflamatoria, la primera vía no se ha confirmado completamente, sin embargo se ha demostrado que existe un factor soluble que secreta *Taenia solium* el cual inhibe la incorporación de (³H) timidina en los linfocitos humanos este factor puede ser un oligonucleótido de ARN, ya que contiene ribosa y es sensible a la digestión con ARNasa. Se ha propuesto que este factor podría ser un virus de ARN que participa en la transferencia de material genético entre parásito y huésped. Algunos estudios han demostrado la presencia de virus como partículas en la membrana de los cisticercos, así como en otros parásitos. Las moléculas de ARN del virus podrían localizarse de forma aberrante en el genoma de las células del huésped y permanecer latentes en algunos pacientes con cisticercosis, además de transcribir ADN alterado del huésped induciendo anormalidad en el crecimiento y proliferación maligna subsiguiente de las células gliales (Del Brutto et al.,2000).

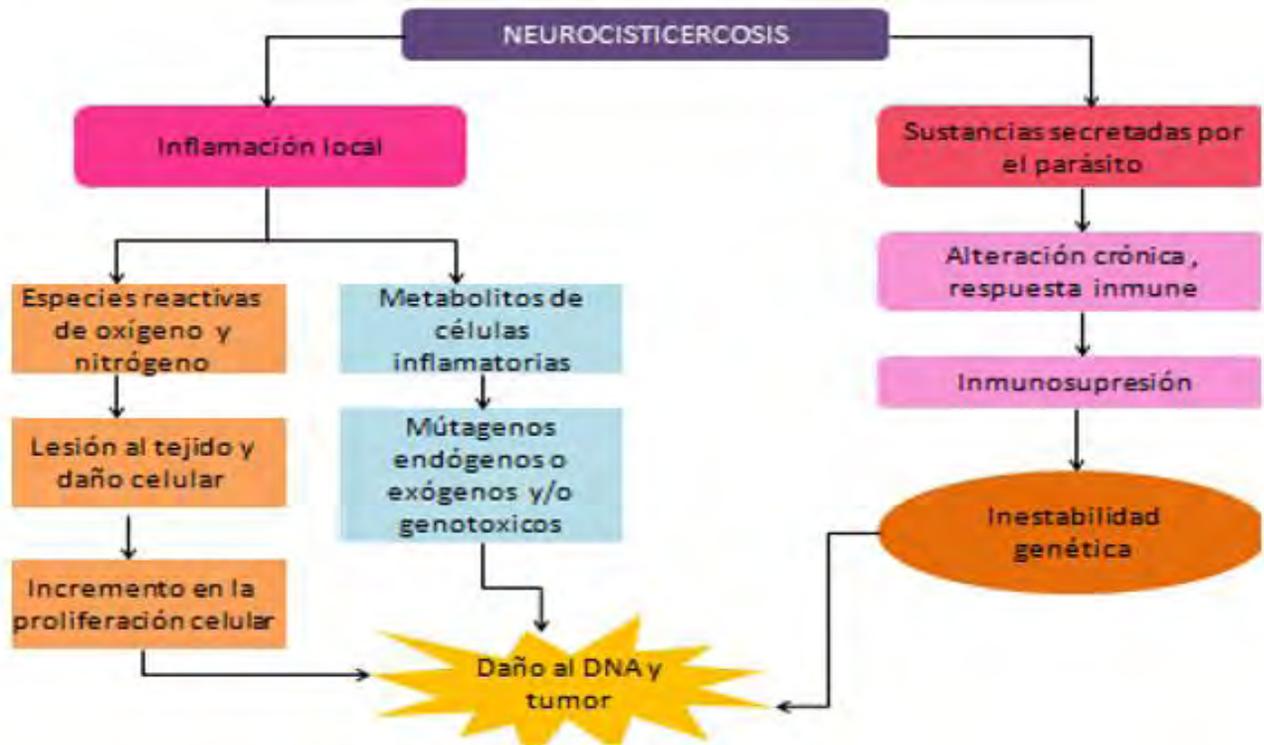


Fig.10 Mecanismos propuestos en la neurocisticercosis y la aparición de tumores (Herrera et al., 2000).

Algunos estudios realizados en nuestro país indican que aproximadamente el 21% de los pacientes con neurocisticercosis presentan neoplasias malignas desarrollando astrocitomas y oligodendrogliomas (Del Brutto et al 2000). Además se relaciona la presencia de *Taenia solium* (cisticercos) con la aparición de diferentes enfermedades hematológicas malignas tales como linfomas y leucemias, lo cual podría deberse a la inmunosupresión que induce la neurocisticercosis y posterior desenlace en cáncer o bien se propone nuevamente la asociación entre la inflamación crónica que la parasitosis produce con el desarrollo de tumores, ya que los cisticercos que en estos estudios se encontraron en las autopsias estaban calcificados o hialinizados en su mayoría (Herrera et al,2000) lo cual confirma los casos de infecciones de tipo crónicas en las cuales el ADN sufre daño por la interacción directa con sustancias como ROS y mediadores de la respuesta inflamatoria, las principales enfermedades hematológicas y cánceres

que se presentaron en estos casos fueron el linfoma de Hodking y leucemias de tipo mieloide y linfoide como se describen en la siguiente tabla.

Tabla1. Características de siete mujeres que presentaron cisticercosis y la causa de muerte fueron enfermedades hematológicas malignas (Herrera et al 1999)

<i>Caso</i>	<i>Sexo</i>	<i>Edad</i>	<i>Enfermedad hematológica maligna</i>	<i>Tipo de cisticercosis y localización</i>
1	F	36	Mieloma múltiple	Cisticercosis en subaracnoides y espacio ventricular con cambios degenerativos, reacción granulomatosa y edema crónico
2	F	58	Enfermedad de Hodking	Cisticercosis en subaracnoides, con intensa eosinofilia y moderada infiltración moderada
3	F	75	Linfoma no Hodking	Cisticercosis calcificado en núcleo caudado
4	F	14	Leucemia linfoblástica aguda	Cisticercosis calcificado en putamen
5	F	64	Linfoma no Hodking	Cisticercosis calcificado en lóbulo parietal superior
6	F	28	Leucemia mieloblástica aguda	Cisticercosis calcificado en espacio subaracnoideo
7	F	72	Linfoma no Hodking	Cisticercosis calcificado en Fisura de Sylvian

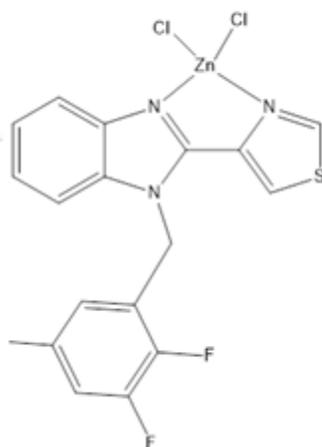
I.8. Anticarcinógenos

Los anticarcinógenos se definen como compuestos involucrados en la prevención o el retraso en la evolución del cáncer (Instituto Nacional del Cáncer EUA; 2013) estos compuestos pueden contener en sus estructura moléculas inorgánicas como metales. En este proyecto se estudiaron cinco compuestos nuevos clasificados como anti carcinogénicos, los cuales fueron sintetizados en el Instituto de Química, estos presentan en su estructura Zn. Los compuestos fueron

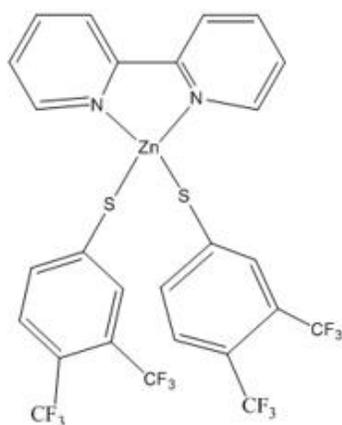
nombrados C19, C29, C30, C33 y C34, en donde la C corresponde a compuesto y el número indica el orden en el cual fueron sintetizados.

Compuesto	Formula desarrollada	Nombre
C19	MRC _m xF ₃ Zn	Dicloruro[1-(2,3,5-trifluorofenil)metil]-2-(4-tiazolil)-1H-benzimidazol] de Zinc(II)
C29	C ₂₆ H ₁₄ F ₁₂ N ₂ S ₂ Zn	2,2'-bipiridin-bis((3,5-ditriofluorometil)bencentiolato))-zinc (II)
C30	C ₂₂ H ₁₀ F ₈ N ₂ S ₂ Zn	2,2'- Bipiridin-bis(2,3,5,6-tetrafluorobencentiolato)-zinc(II)
C33	C ₃₀ H ₂₄ F ₁₀ N ₂ S ₂ Zn	4,4-Di-ter-butil-2,2'-bipiridin-bis(pentafluorobencentiolato)-zinc(II)
C34	C ₃₀ H ₃₀ F ₄ N ₂ S ₂ Zn	4,4-Di-ter-butil-2,2' bipiridin-bis(2,4 difluorobencentiolato)-zinc(II)

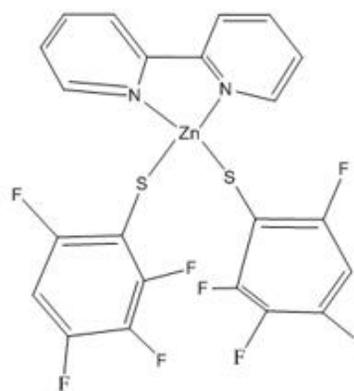
COMPUESTO 19



COMPUESTO 29



COMPUESTO 30



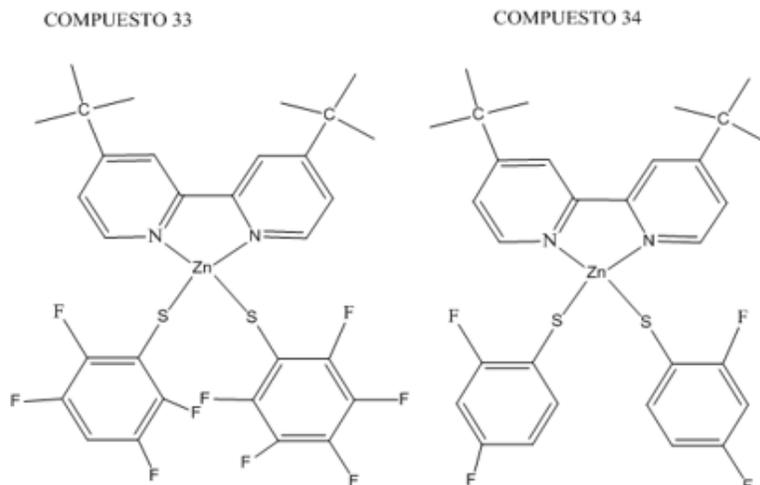


Fig.11. Moléculas anticarcinógenas con Zn

De forma general estas moléculas presentan estructuras similares, ya que están conformados de moléculas cíclicas, su estructura la podemos dividir en dos partes: la parte superior encontramos dos moléculas heterocíclicas de 6 miembros que corresponden a dos piridinas y en algunos casos como el C34 presenta un grupo alcano como radical.

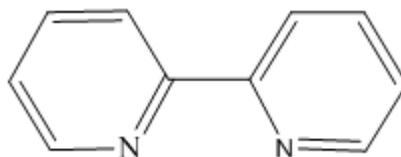


Fig.12. 2,2'bipiridina

En la parte inferior se localizan dos estructuras conocidas como tiofenil de Zn, las cuales en todas las moléculas se encuentran sustituidas por flúor y en cada uno de los compuestos varia la localización de estos, además en algunos casos la molécula de Zn puede estar sustituida por cloro como es el caso del C19.

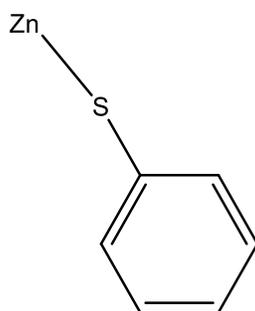


Fig.14. Tiofenil-Zn

Existen informes en la literatura sobre el efecto farmacológico de las piridinas de las cuales se ha descrito más que del grupo tiofenil-Zn y mencionan que estos compuestos sirven como antiinflamatorios, analgésicos, anticonvulsivos, anti-parkinsonianos (Mohamed et al., 2010) aunque también son una alternativa contra enfermedades infecciosas, como es el caso de la tripanosomiasis por *Trypanosoma cruzi* (Hargrove et al.,2013)).

Tabla 2. Peso molecular de las moléculas anticarcinogénicas con Zn

Compuesto	Pesos moleculares (g/mol)
19	481.66
29	711.9
30	583.84
33	732.03
34	624.09

Es importante mencionar que el Zn es un elemento que pertenece al grupo 12, aunque se encuentra al final de la serie de los metales de transición, se comporta como metal de los grupos representativos; de hecho, se parece mucho a los del grupo 2. Dentro de la importancia biológica que presenta este metal, se han identificado más de 200 enzimas que utilizan este elemento, en los organismos (Rayner-Canham., 2000).

Algunos estudios demuestran que el Zn además de presentar un papel antioxidante también funge como un anticarcinógeno en tumores de pulmón en ratones, ya que disminuye los niveles

de monoaldehído y lipofuscina aumentando la actividad de la enzima glutatión peroxidasa (GPx)
(Yan, Chang., 2012).

II. JUSTIFICACIÓN

Debido a la importancia de *Taenia solium* y su relación con la aparición de cáncer, este proyecto describe el efecto que cinco moléculas orgánicas con Zn tienen sobre los cisticercos de *Taenia crassiceps*.

A pesar de que se han relacionado casos entre la cisticercosis y el cáncer, la terapéutica en estos pacientes no ha sido modificada.

El desarrollo de compuestos anticarcinogénicos con actividad antiparasitaria podrían prevenir el cáncer humano, lo que evitaría gastos en salud pública.

III. HIPOTESIS

Las moléculas anticarcinogénicos con Zn pueden destruir a los cisticercos.

IV. OBJETIVO GENERAL

Conocer los efectos de cinco moléculas orgánicas con Zn sobre cisticercos de *Taenia crassiceps*.

IV.1 OBJETIVOS PARTICULARES

- Determinar el efecto que causan los compuestos sobre el cisticerco evaluando viabilidad (movilidad, daño morfológico y evaginación).
- Determinar la dosis letal 50 (DL₅₀) de las moléculas que tengan efecto sobre los cisticercos.

V. MATERIALES Y METODOS

Para determinar el efecto que producen los compuestos orgánicos (anticarcinogénicos con Zn) sobre la viabilidad de los cisticercos. Se evaluaron las siguientes variables: daño morfológico, movilidad y evaginación.

V.1 Material biológico

Se utilizaron ratones hembra de la cepa Balb/c infectados con cisticercos de *Taenia crassiceps* de la cepa WFU, el tiempo de infección de este parásito tardó 5 meses, después de este tiempo los ratones fueron sacrificados por dislocación cervical y posteriormente se realizó un corte en cavidad peritoneal para extraer los cisticercos, estos se lavaron con PBS, pH 7.4 y se colocaron en una caja Petri grande con esta misma solución.

V.2 Criterios de selección de los cisticercos

Se escogieron cisticercos de 2 a 3 mm sin gemas, ovalados, translúcidos, no calcificados, sin daño en la membrana, con movimiento de 4+ (el cual consiste en la expansión y contracción de la pared vesicular, técnica que ya ha sido empleada en estudios previos en el laboratorio Castro., 2011) y sin evaginar (es decir que no hayan pasado del estadio larvario al estadio adulto).

V.3 Pre cultivos

Los cisticercos que cumplieron con los criterios mencionados anteriormente se incubaron en una placa de 24 pozos tipo ELISA a 37°C con atmósfera de 5% CO₂ durante 4 hrs, se colocaron 10 parásitos en cada pozo con 1mL de medio RPMI suplementado con antibióticos (estreptomina 0.1% y penicilina 0.1%), piruvato y aminoácidos no esenciales.

V.4 Determinación del efecto de los compuestos anticarcinogénicos con Zn en cisticercos de *Taenia crassiceps* cepa WFU

Posteriormente, se realizaron experimentos para evaluar el efecto que presentaban los compuestos anticarcinogénicos en función del tiempo sobre los cisticercos. Después del pre cultivo se colocaron los diferentes compuestos a diferentes concentraciones [150, 300, 600 y 900 $\mu\text{mol}/\mu\text{L}$] en un volumen total de 1mL con medio RPMI y se dejaron actuando durante 1, 3, 6, y 12 h a 37°C con atmósfera de 5% CO_2 . Se evaluó en los cisticercos el movimiento y daño morfológico. Transcurridas las 24 h, se removió el medio con el compuesto y se agregaron 200 μL de bilis de cerdo al 30%, se incubó por 1 h y se evaluó la evaginación del parásito. Los efectos de los compuestos sobre los cisticercos fueron observados y fotografiados en un microscopio invertido (marca Motic, modelo DM-52) y se describen más adelante de la tabla 1 a la 4. Como control positivo se utilizaron cisticercos cultivados con albendazol a 300 $\mu\text{mol}/\mu\text{L}$, disuelto en el RPMI y dimetil sulfóxido (DMSO) 0.5%, en este disolvente también se solubilizaron los compuestos y como controles negativos se utilizaron cisticercos cultivados en RPMI y RPMI con DMSO 0.5%. La determinación de la viabilidad se determinó como ya se mencionó antes.

V.5 Determinación de la DL_{50}

De los compuestos que mostraron un efecto más dañino sobre los cisticercos se prosiguió a determinar la Dosis letal 50 (DL_{50}), para lo cual se probaron diferentes concentraciones [25, 50, 100, 200, 400, 600 y 900 $\mu\text{mol}/\mu\text{L}$], incubándolos a 37°C, 5% de CO_2 durante 24 hrs con los cisticercos. Es importante mencionar que todos los experimentos se realizaron por triplicado y cada una de las concentraciones se colocaron por triplicado en cada una de las repeticiones.

VI. RESULTADOS

Efecto de los compuestos anticarcinogénicos con Zn en cisticercos de Taenia crassiceps cepa WFU

Los efectos causados por los cinco compuestos anticarcinogénicos con Zn en los cisticercos cultivados con diferentes concentraciones y tiempos de exposición, se describen en las tablas 1 a la 4, únicamente se presentan las imágenes de los daños morfológicos de los C19, C29, C30 y C34 a diferentes tiempos y concentraciones, así como de los controles empleados (Fig. 1).

Como controles usamos cisticercos cultivados en medio RPMI y DMSO al 0.5%. Los cisticercos controles no presentan ningún daño y se observan como vesículas ovaladas translúcidas con una superficie lisa en la pared vesicular llenos de líquido con un tamaño aproximado de 0.5 cm, un escólex invaginado y su movimiento es del 100% (Fig. 1.a). Mientras que para los cisticercos tratados con el albendazol (Control positivo de daño), no se observa daño morfológico, ya que los cisticercos siguen presentando una estructura similar a la de los cisticercos controles en RPMI y DMSO, y el movimiento se afecta hasta las 24 h (Fig.1.b. 1), es de comentar que para el albendazol se observó que el compuesto precipito en el medio de cultivo, sin embargo estos agregados no afectaron la morfología de los cisticercos, estos precipitados tienen una coloración negra y a diferencia de los precipitados formados por otros compuestos no se observan en forma cristalina.

En contraste los efectos que provocaron los compuestos de Zn sobre los cisticercos al tiempo de 1 hora se presentan en la Tabla 1. Los cisticercos expuestos a los compuestos anticarcinogénicos C19, C30 y C33, se observan como los cisticercos controles, no presentaron daño morfológico y su movilidad es del 100%. Para el C29 no se observó daño morfológico alguno en los cisticercos a concentraciones bajas, sin embargo a una concentración de 900 $\mu\text{mol}/\mu\text{L}$ el movimiento se redujo al 25%. En contraste, los cisticercos expuestos al C34 disminuyeron su movimiento hasta un 75% desde una concentración de 150 $\mu\text{mol}/\mu\text{L}$ y el movimiento de los cisticercos llego a ser nulo a la concentración de 600 $\mu\text{mol}/\mu\text{L}$, este fue el único compuesto en el cual los cisticercos presentaron un daño morfológico, ya que estos disminuyeron su tamaño y comenzaban a cambiar su estructura ovalada a la concentración más alta. Una observación importante a este tiempo para todos los compuestos fue la formación de precipitados en él medio de cultivo, estos precipitados no afectan la pared vesicular del cisticerco ya que esta mantienen la misma morfología que los cisticercos controles con RPMI y DMSO.

Tabla1. Efecto de los compuestos anticarcinogénicos con Zn sobre cisticercos de *Taenia crassiceps* cepa WFU a 1h de exposición en cultivo.

TIEMPO 1h						
RPMI	DMSO [0.5%]	ABZ [300µmol/µL]	C19 [150µmol/µL]	C19 [300µmol/µL]	C19 [600µmol/µL]	C19 [900µmol/µL]
Mov +++++ Daño -	Mov+++++ Daño -	Mov+++++ Daño -	Mov+++++ Daño -	Mov+++++ Daño -	Mov +++++ Daño -	Mov +++++ Daño -
OBSERVACIONES: Movimiento (Mov): +++++: 100%, +++: 75%, ++: 50% +: 25%, -: 0% Daño morfológico (Daño): -- sin daño, + daño interno, ++: Daño externo +++: daño interno y externo Formación de precipitados en el medio de cultivo para todos los compuestos			C29 [150µmol/µL]	C29 [300µmol/µL]	C29 [600µmol/µL]	C29 [900µmol/µL]
			Mov+++++ Daño -	Mov +++++ Daño -	Mov +++++ Daño -	Mov + Daño -
			C30 [150µmol/µL]	C30 [300µmol/µL]	C30 [600µmol/µL]	C30 [900µmol/µL]
			Mov +++++ Daño -	Mov +++++ Daño -	Mov +++++ Daño -	Mov +++++ Daño -
			C33 [150µmol/µL]	C33 [300µmol/µL]	C33 [600µmol/µL]	C33 [900µmol/µL]
			Mov +++++ Daño -	Mov +++++ Daño -	Mov +++++ Daño -	Mov +++++ Daño -
			C34 [150µmol/µL]	C34 [300µmol/µL]	C34 [600µmol/µL]	C34 [900µmol/µL]
			Mov +++ Daño -	Mov +++ Daño -	Mov -- Daño -	Mov --- Daño +++

Después de haber transcurrido tres horas del experimento Tabla 2; para el C19 no se modificaron los resultados puesto que los cisticercos mantienen su morfología igual a la de los controles expuestos al RPMI y DMSO al 0.5% (Fig.1.c.1y2). Se observó también la formación de precipitados en el medio que no tienen un efecto sobre los cisticercos.

Para el C29 aparecieron efectos importantes a este tiempo, ya que los cisticercos dejaron de moverse desde una concentración de 150 $\mu\text{mol}/\mu\text{L}$ y algunos presentaron daño interno descrito como formación de precipitados (cristales oscuros) en el fluido vesicular del cisticerco, en algunos de ellos la pared vesicular presentaba estrías, además hubo cambios en su estructura ya que estos cisticercos ya no se observaban ovalados si no en forma de botella (Fig.1.d.1).

Para el C30, hubo una disminución en cuanto al movimiento que fue del 75% para la concentración más alta (Fig.1.e.1), en cuanto al daño morfológico observado logramos apreciar que a una concentración de 900 $\mu\text{mol}/\mu\text{L}$ los precipitados formados por el compuesto se concentraron en la parte del escólex de los cisticercos y presentaban una coloración negra.

Para el C33 no hubo ningún cambio significativo en la morfología y movimiento de los cisticercos al tiempo de 1 hora, mientras que para el C34 se observó la aparición de los cristales negros en el interior del cisticerco a la concentración de 300 $\mu\text{mol}/\mu\text{L}$, la morfología del cisticerco no se modifica, sin embargo a concentraciones mayores de 600 y 900 se observa fisuras y estrías, los cisticercos redujeron su tamaño mostrándose transparentes y esféricos, el movimiento también fue afectado al 100% desde la mínima concentración en la cual la movilidad fue nula (Fig.1.f.1).

Tabla 2. Efecto de los compuestos anticarcinogénicos con Zn sobre cisticercos de *Taenia crassiceps* cepa WFU a 3h de exposición en cultivo.

TIEMPO 3						
RPMI	DMSO [0.5%]	ABZ [300 $\mu\text{mol}/\mu\text{L}$]	C19 [150 $\mu\text{mol}/\mu\text{L}$]	C19 [300 $\mu\text{mol}/\mu\text{L}$]	C19 [600 $\mu\text{mol}/\mu\text{L}$]	C19 [900 $\mu\text{mol}/\mu\text{L}$]
Mov +++++ Daño -	Mov+++++ Daño -	Mov+++++ Daño -	Mov+++++ Daño -	Mov+++++ Daño -	Mov +++++ Daño -	Mov +++++ Daño -
			C29 [150 $\mu\text{mol}/\mu\text{L}$]	C29 [300 $\mu\text{mol}/\mu\text{L}$]	C29 [600 $\mu\text{mol}/\mu\text{L}$]	C29 [900 $\mu\text{mol}/\mu\text{L}$]
			Mov --- Daño +++	Mov ---- Daño: +++	Mov ----- Daño: +++	Mov --- Daño: +++

<p>OBSERVACIONES:</p> <p>Movimiento (Mov): ++++: 100%, +++: 75%, ++: 50%, +: 25%, -: 0%</p> <p>Daño morfológico (Daño): -- sin daño, +: daño interno, ++: Daño externo +++: daño interno y externo.</p> <p>Para todos los compuestos se observa la formación de precipitados en el medio de cultivo</p>	<p>C30</p> <p>[150µmol/µL]</p>	<p>C30</p> <p>[300µmol/µL]</p>	<p>C30</p> <p>[600µmol/µL]</p>	<p>C30</p> <p>[900µmol/µL]</p>
	<p>Mov ++++</p> <p>Daño -</p>	<p>Mov ++++</p> <p>Daño -</p>	<p>Mov ++++</p> <p>Daño -</p>	<p>Mov +++</p> <p>Daño +</p>
	<p>C33</p> <p>[150µmol/µL]</p>	<p>C33</p> <p>[300µmol/µL]</p>	<p>C33</p> <p>[600µmol/µL]</p>	<p>C33</p> <p>[900µmol/µL]</p>
	<p>Mov ++++</p> <p>Daño -</p>			
	<p>C34</p> <p>[150µmol/µL]</p>	<p>C34</p> <p>[300µmol/µL]</p>	<p>C34</p> <p>[600µmol/µL]</p>	<p>C34</p> <p>[900µmol/µL]</p>
	<p>Mov ----</p> <p>Daño +++</p>	<p>Mov ---</p> <p>Daño +++</p>	<p>Mov --</p> <p>Daño +++</p>	<p>Mov ---</p> <p>Daño: +++</p>

Al tiempo de 6 h los controles se mantienen sin daño morfológico y con un movimiento del 100%, tampoco se modifican las observaciones hechas para los cisticercos tratados con el compuesto C34 (Fig1.f.2); para el C19 comenzó a observarse una peculiaridad y es que en este tiempo los cisticercos comenzaban a evaginar, observándose la cabeza, el cuello del parásito adulto fuera de la vesícula. Para el C29 es importante agregar que a este tiempo se observó en algunos cisticercos la disminución de su tamaño, además la pared vesicular ya no se observaba definida (borrosa), la parte del escólex incremento su tamaño sin embargo la parte inferior se redujo (Fig.1.d.2); para el C30 se pudo apreciar una disminución importante en el tamaño de los cisticercos, sin embargo no se observaron daños como fisuras o estrías en la pared vesicular, la formación de precipitados al interior del cisticerco aumentó ya que en esta ocasión no solo se observó daño a nivel del escólex si no también la parte de la vesícula tornándose de color negro en algunos casos (Fig1.d.2). En el C33 los cisticercos incrementaron la formación de los cristales en el interior del cisticerco, los cuales se observaron en forma de puntos en la parte vesicular, sin embargo no se afecta su morfología ni se observan lesiones en la pared del cisticerco a la concentración de 300 µmol/µL. Estas mismas observaciones descritas para las 6 horas de los compuestos C19, C30, C34 y C33, fueron las mismas al tiempo de las 12 h, por lo que las observaciones descritas anteriormente se encuentran en la Tabla 3 y hace referencia a ambos tiempos.

Tabla 3. Efecto de los compuestos anticarcinogénicos con Zn sobre cisticercos de *Taenia crassiceps* cepa WFU a 6h de exposición en cultivo

TIEMPO 6 y 12 horas						
RPMI	DMSO [0.5%]	ABZ [300µmol/µL]	C19 [150µmol/µL]	C19 [300µmol/µL]	C19 [600µmol/µL]	C19 [900µmol/µL]
Mov ++++	Mov++++	Mov++++	Mov++++	Mov++++	Mov ++++	Mov ++++
Daño -	Daño -	Daño -	Daño -	Daño -	Daño -	Daño -
<p>OBSERVACIONES:</p> <p>Movimiento (Mov): ++++: 100%, +++: 75%, ++: 50%, +: 25%, -: 0%</p> <p>Daño morfológico (Daño): -- sin daño, +: daño interno, ++: Daño externo +++: daño interno y externo</p> <p>En el C19 se aprecia la evaginación de los cisticercos, además para todos los compuestos se observa la formación de precipitados en el medio de cultivo.</p>			C29 [150µmol/µL]	C29 [300µmol/µL]	C29 [600µmol/µL]	C29 [900µmol/µL]
			Mov --- Daño +++	Mov --- Daño: +++	Mov ---- Daño: +++	Mov --- Daño +++
			C30 [150µmol/µL]	C30 [300µmol/µL]	C30 [600µmol/µL]	C30 [900µmol/µL]
			Mov ++++	Mov ++++	Mov ++++	Mov ++++
			Daño ++	Daño ++	Daño ++	Daño ++
			C33 [150µmol/µL]	C33 [300µmol/µL]	C33 [600µmol/µL]	C33 [900µmol/µL]
			Mov ++++	Mov ++++	Mov ++++	Mov ++++
Daño +	Daño +	Daño +	Daño +			
C34 [150µmol/µL]	C34 [300µmol/µL]	C34 [600µmol/µL]	C34 [900µmol/µL]			
Mov --- Daño +++	Mov --- Daño +++	Mov -- Daño +++	Mov --- Daño +++			

Al tiempo de 24 h, el daño morfológico causado por el albendazol fue nulo, puesto que no se observó daño sobre la pared vesicular y tampoco se afectó la movilidad en los cisticercos. El único parámetro afectado fue la evaginación puesto que solo 7 de 10 cisticercos evaginaron, en

contraste a la evaginación del 100% que se informó para los controles cultivados en RPMI y 0.5% de DMSO.

El C19 presentó los mismos cambios mencionados para los cisticercos de las 12 h, sin embargo se puede apreciar que el 80% de los parásitos evaginan en todas las concentraciones usadas del compuesto, sin observarse daño morfológico en los cisticercos (Fig.1.c.1 y 2). Por otra parte, el C29 a este tiempo causó un incremento en los depósitos de los cristales, estos presentaron una coloración negra y de apariencia fina en el medio de cultivo y en el interior del cisticerco, estos se localizaron en toda la parte vesicular del cisticerco, además se pueden apreciar un aumento del volumen del cisticerco presentándose transparentes a la luz, modificando su estructura ovoide, sin embargo es importante mencionar que ya no se aprecia la forma de botella que presentaba en los tiempos anteriores, en cuanto a la evaginación se presenta un efecto gradual y directamente proporcional con respecto a la concentración del compuesto, ya que a una concentración de 150 $\mu\text{mol}/\mu\text{L}$ se tiene un 90% de cisticercos evaginados, sin embargo a la concentración de 900 $\mu\text{mol}/\mu\text{L}$ ningún cisticerco evagina (Fig.1.d.3).

Para el C30 el daño morfológico que se logró observar fue una acumulación de los precipitados formados por el compuesto en la parte del escólex de los cisticercos, sin embargo es importante mencionar que los cisticercos se recuperan del daño a la concentración más alta ya que su tamaño se recupera y no se observan lesiones en la pared vesicular, el movimiento disminuye totalmente (movimiento nulo) a una concentración 300 y 600 $\mu\text{mol}/\mu\text{L}$. A la concentración de 900 $\mu\text{mol}/\mu\text{L}$ la evaginación disminuye en un 60 a 40% (Fig.1.e.3)

En cuanto al C33 el daño morfológico que se apreció fue de dos cruces lo cual corresponde a un daño al interior y en algunos cisticercos un daño al exterior del cisticerco, en el primer caso solamente se observan pocos precipitados al interior del cisticerco de color negro, mientras que el daño externo se observa una disminución en su tamaño, algunas de las larvas se alargaron y en la pared vesicular presentaron estrías gruesas, además se observa que la evaginación es del 10% en todas las concentraciones y el movimiento sigue siendo del 100%.

Finalmente para este tiempo el C34 se observó daño en los cisticercos desde la concentración mínima, este daño consiste en la aparición de cristales negros en el interior del cisticerco, estos en algunos casos formaban agregados localizados en la parte vesicular y no en el escólex, además se observó un adelgazamiento de la pared vesicular, un cambio en la morfología de

ovalados a esféricos, fisuras y/o estrías sobre la pared vesicular del cisticerco, además de disminuir su tamaño, asimismo el movimiento continua siendo nulo a esta concentración del C34 (Fig.1.f.3), finalmente el movimiento fue nulo y no evaginó ninguno de los cisticercos.

Tabla 4. Efecto de los compuestos anticarcinogénicos con Zn sobre cisticercos de *Taenia crassiceps* cepa WFU a 24h de exposición en cultivo

TIEMPO 24 h						
RPMI	DMSO [0.5%]	ABZ [300µmol/µL]	C19 [150µmol/µL]	C19 [300µmol/µL]	C19 [600µmol/µL]	C19 [900µmol/µL]
Mov ++++ Daño - Ev 10/10	Mov++++ Daño - Ev 10/10	Mov++++ Daño - Ev 7/10	Mov++++ Daño - Ev 8/10	Mov++++ Daño - Ev 8/10	Mov +++ Daño - Ev 8/10	Mov +++ Daño - Ev 8/10
<p>OBSERVACIONES:</p> <p>Evaginación (Eva): Esta variable depende de cuantos cisticercos hayan evaginado y se cuantifica del 1 al 10</p> <p>Movimiento (Mov): ++++: 100%, +++: 75%, ++: 50%, +: 25%, -: 0%</p> <p>Daño morfológico (Daño): -- sin daño+: Daño interno, ++: Daño externo +++: Daño interno y externo</p> <p>Para todos los compuestos se observa la formación de precipitados en el medio de cultivo</p>			C29 [150µmol/µL]	C29 [300µmol/µL]	C29 [600µmol/µL]	C29 [900µmol/µL]
			Mov --- Daño +++ Ev 9/10	Mov ---- Daño: +++ Ev 7/10	Mov ---- Daño: +++ Ev 4/10	Mov --- Daño +++ Ev 0/10
			C30 [150µmol/µL]	C30 [300µmol/µL]	C30 [600µmol/µL]	C30 [900µmol/µL]
			Mov ++++ Daño ++ Ev 8/10	Mov ----- Daño ++ Ev 6/10	Mov ---- Daño ++ Ev 6/10	Mov ---- Daño + EV 4/10
			C33 [150µmol/µL]	C33 [300µmol/µL]	C33 [600µmol/µL]	C33 [900µmol/µL]
			Mov ++++ Daño ++ Ev1/10	Mov ++++ Daño ++ Ev 1/10	Mov ++++ Daño ++ Ev 1/10	Mov ++++ Daño ++ Ev 1/10
			C34 [150µmol/µL]	C34 [300µmol/µL]	C34 [600µmol/µL]	C34 [900µmol/µL]
			Mov ---- Daño +++ Ev 0/10	Mov --- Daño +++ Ev 0/10	Mov -- Daño, +++ Ev 0 /10	Mov --- Daño +++ Ev 0/10

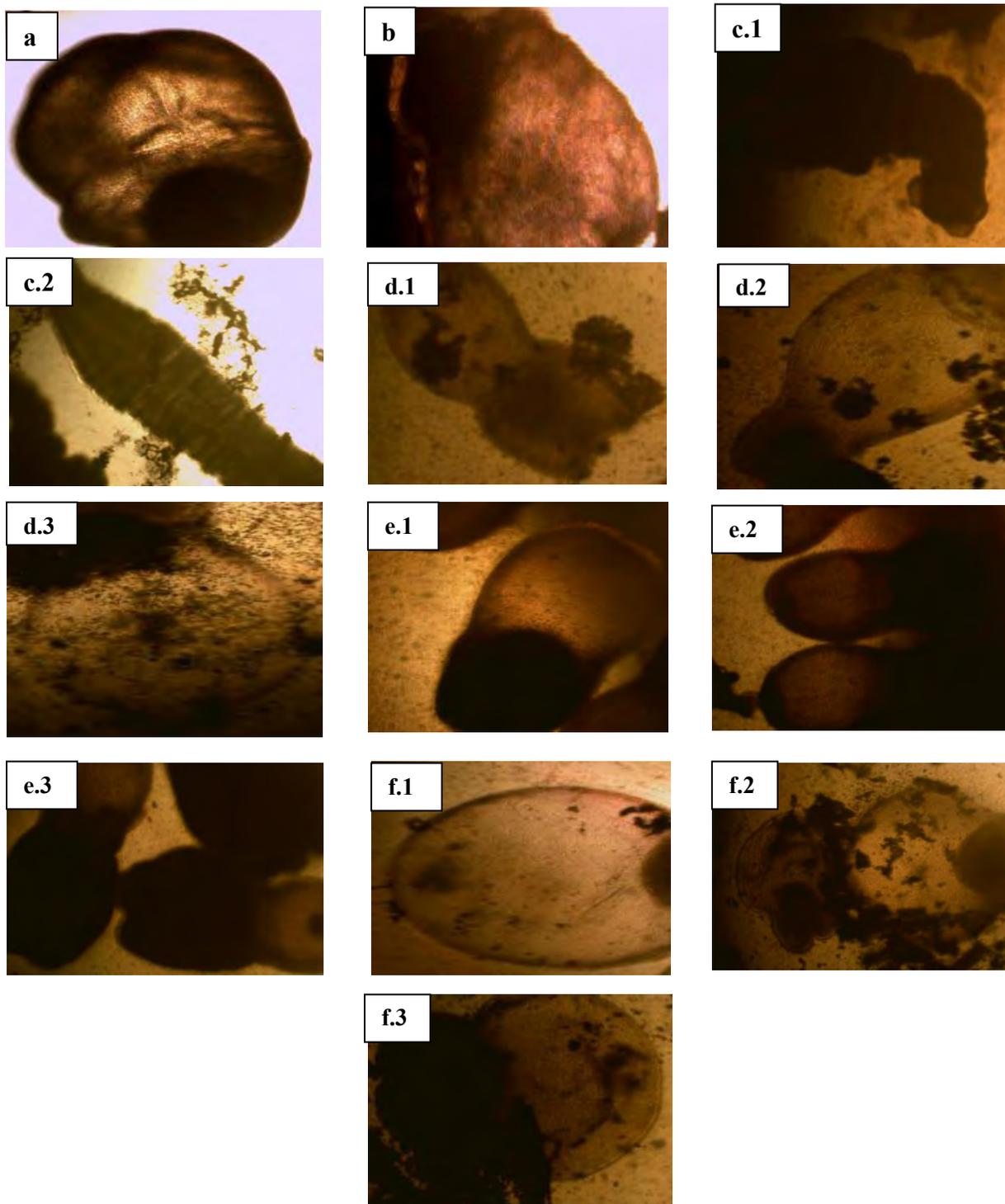


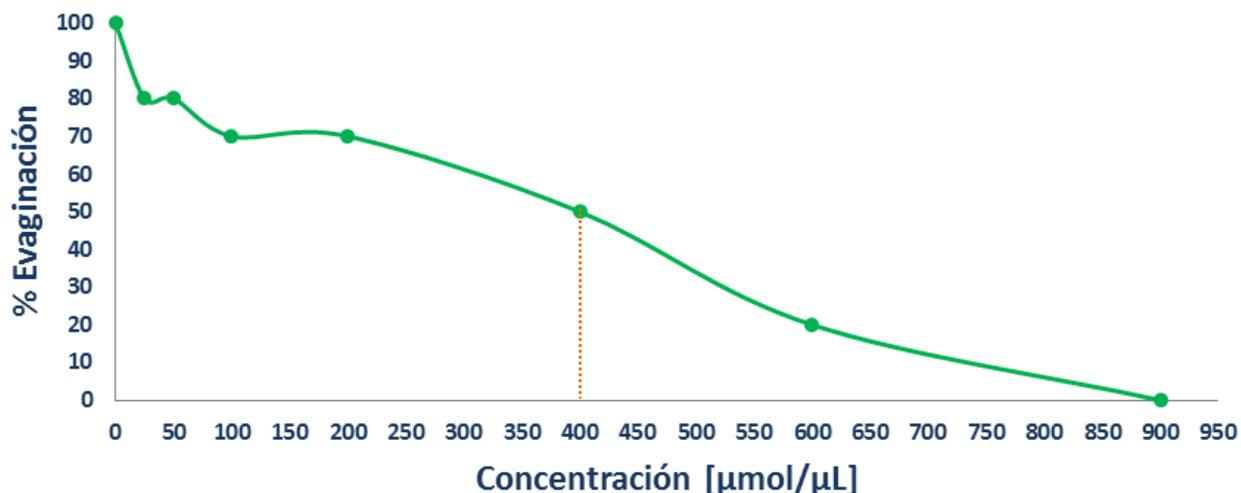
Fig. 1 Daño morfológico representativo en cisticercos de *Taenia crassiceps* WFU causado por los diferentes compuestos anticarcinogénicos con Zinc a diferentes tiempos de exposición. Cisticercos incubados con: a) RPMI y DMSO 0.5% (controles negativos de daño), b) albendazol (control positivo de daño), c.1) y c.2) el C19, d.1) C29 a 3h, d.2) el C29 a 6h y d.3) el C29 a 24 h, e.1) el C30 a 3hrs, e.2) el C30 a 6h y e.3) el C30 a 24 h, f.1) el C34 a 3h, f.2) el C34 a 6h y f.3) el C34 a 24 h.

DETERMINACIÓN DE LA DL₅₀ PARA EL C29 Y C34

De acuerdo a los resultados obtenidos, los compuestos C29 y C34 produjeron los mayores daños al cisticerco comparados con el albendazol, desde tiempos tempranos afectaron la movilidad y dañaron al parásito, así como la evaginación del mismo a las 24 h. A estos compuestos se les determinó la DL₅₀ (Rispiñ A, et al; 2002) al tiempo de 24 h, con las concentraciones desde 25 μmol/μL hasta 900 μmol/μL. Las dosis letales para cada compuesto fueron: 400 μmol/μL para el C29 y de 50 μmol/μL para el C34 (Tabla 7 y 8).

Tabla 7. Dosis letal 50 (DL₅₀) del C29 sobre cisticercos de *Taenia crassiceps* cepa WFU a 24 hrs.

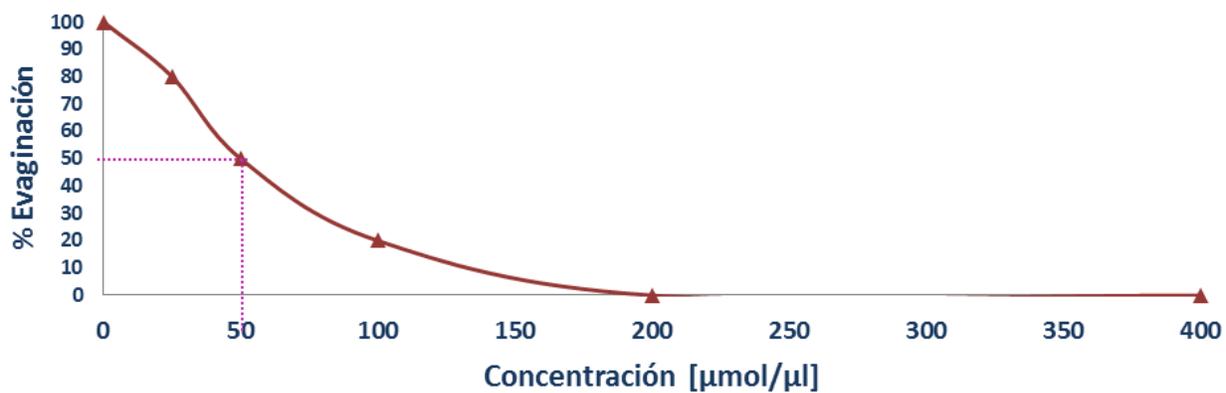
RPMI	DMSO [0.5%]	C29 [25 μmol/μL]	C29 [50 μmol/μL]	C29 [100 μmol/μL]	C29 [200 μmol/μL]	C29 [400 μmol/μL]	C29 [600 μmol/μL]	C29 [900 μmol/μL]
Mov ++++ Daño – Ev 10/10	Mov ++++ Daño – Ev 10/10	Mov ++++ Daño – Ev 8/10	Mov ++++ Daño – Ev 8/10	Mov -- Daño + Ev 7/10	Mov -- Daño ++ Ev 7/10	Mov -- Daño +++ Ev 5 /10	Mov --- Daño +++ Ev 2/10	Mov --- Daño +++ Ev 0/10



Gráfica 1. Determinación de la DL₅₀ del C29 para los cisticercos de *Taenia crassiceps* WFU, al tiempo de 24 h.

Tabla 8. Dosis letal 50 (DL₅₀) del C34 sobre cisticercos de *Taenia crassiceps* cepa WFU a 24 hrs

RPMI	DMSO [0.5%]	C34 [25μmol/μL]	C34 [50μmol/μL]	C34 [100μmol/μL]	C34 [200μmol/μL]	C34 [400μmol/μL]
Mov ++++	Mov ++++	Mov ++	Mov --	Mov --	Mov --	Mov --
Daño -	Daño -	Daño -	Daño ++++	Daño ++++	Daño ++++	Daño ++++
Ev 10	Ev 10	Ev 8	Ev 5	Ev 2	Ev 0	Ev 0



Gráfica 2. Determinación de la DL₅₀ del C34 para los cisticercos de *Taenia crassiceps* WFU, a las 24 hrs.

VII. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Desde el año de 1998 Herrera y colaboradores han puesto de manifiesto la importancia de *Taenia solium* y su relación en la aparición de cáncer, a pesar de esto no se ha modificado la terapéutica para estos pacientes, siendo aun en la actualidad el albendazol el fármaco de elección para la neurocisticercosis sólo o en combinación con praziquantel, (Palomares et al; 2006), con corticoesteroides y antiepilépticos, sin embargo es importante mencionar que estos fármacos no destruyen al parásito, por lo que se ha observado que pacientes con esta parasitosis en estados más avanzados tienden a presentar enfermedades relacionadas con la aparición de cáncer, por lo cual una de las alternativas a probar podría ser el uso de anticarcinógenos.

En este proyecto se describe el efecto que cinco anticarcinogénicos con Zn tienen sobre los cisticercos de *Taenia crassiceps* obtenidos de ratón. Se ha demostrado que los cisticercos de este modelo (*Taenia crassiceps*-ratón) son útiles tanto *in vivo* como *in vitro* para probar fármacos dirigidas contra cestodos (Palomares et al; 2006, Mahanty et al; 2011). Por otro lado, estos cisticercos se reproducen por gemación lo que podría asemejarse a un crecimiento descontrolado como el cáncer. Por lo anterior decidimos probar el efecto de estos cinco anticarcinogénicos con Zn en cultivo sobre los cisticercos de *Taenia crassiceps* WFU.

Se realizó una cinética de los 5 compuestos C19, C29, C30, C33 y C34 a diferentes concentraciones y en diferentes tiempos con la finalidad de conocer cuál de estos presentaba el mejor efecto sobre los cisticercos en cultivo, para lo cual se empleo como controles negativos cisticercos cultivados en medio RPMI suplementado y con DMSO al 0.5% en medio RPMI, este disolvente se empleo para solubilizar los compuestos antes mencionados y como control positivo usamos albendazol. Para este fármaco se ha informado en la literatura que en ensayos *in vitro* después de 2 días de exposición a los cisticercos, estos disminuyen su tamaño y después de 4 días la evaginación disminuye en un 30% y el daño morfológico se observa a los 3 día, en cisticercos de *Taenia crassiceps* ORF.

Todos los compuestos probados presentaron diferentes efectos, en cuanto a movilidad, daño morfológico e inhibición de la evaginación, en todos los casos los compuestos formaron

precipitados con el medio de cultivo, los cuales al tiempo de 1 h no afectaron la estructura de los cisticercos excepto en el C34, es importante mencionar conforme avanzo el tiempo estos precipitados presentaron diversas características y se localizaron en diferentes partes del cisticerco (escólex o en el fluido vesicular del cisticerco) por lo cual inferimos que el mecanismo de acción de cada una de las moléculas es diferente y es importante poder evaluarlo en experimentos posteriores.

De los cinco compuestos probados solo el C29 y el C34 presentaron un efecto dañino sobre los cisticercos, siendo el C34 mucho más efectivo que el compuesto 29 y el albendazol, ya que este compuesto a dosis bajas y tiempos cortos, causa un daño interno y externo sobre los cisticercos, el cual incrementa con el tiempo y la dosis de exposición.

Por otra parte el C19 presentó un efecto interesante, promovió la evaginación de los cisticercos. Hasta la fecha no se conoce bien el mecanismo molecular de la evaginación en estos parásitos, por lo que este compuesto podría utilizarse para realizar estudios para dilucidar su mecanismo.

Tomando esto en cuenta el efecto dañino de los compuestos (C29 y C34), se les determinó su DL_{50} , que fue de $400 \mu\text{mol}/\mu\text{L}$ para C29 y de $50 \mu\text{mol}/\mu\text{L}$ para C34, por lo que se deduce que ambos compuestos, en especial C34 es mucho más eficiente que el albendazol, esto podría deberse a dos variantes en la molécula, en primer lugar debido a los sustituyentes en la parte superior de las piridinas, tal como se observa en la siguiente imagen:

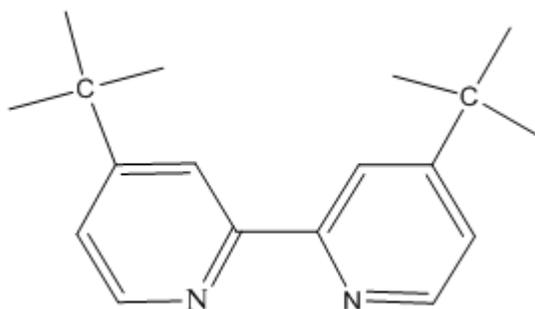


Fig. 24. Formula del 4, 4'-di-tert-butil-2, 2'-bipiridina

O bien que en la parte inferior por la localización y cantidad de los fluoruros que presenta, como se observa en la siguiente imagen:

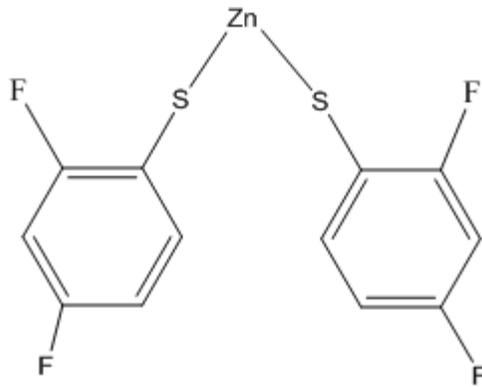


Fig. 25. Formula del Bis (2,4 difluorofenil) tio zinc

Por lo anterior esta molécula podría ser empleada como una alternativa terapéutica en los pacientes en los cuales padecen esta enfermedad, sin embargo cabe mencionar que para lograr esto es importante realizar ensayos de toxicidad, proteómica, genómica, microscopia electrónica, viabilidad del parásito dentro del huésped, así como conocer el mecanismo de acción de este compuesto.

VIII. CONCLUSIONES

- Los compuestos anticarcinógenos con zinc presentan diferentes efectos in vitro sobre los cisticercos.
- El compuesto 19 presentó un efecto inductor de la evaginación en los cisticercos.
- Los compuestos 29 y 34 podrían ser moléculas líderes para desarrollar cestocidas
- El compuesto 34 presenta mejores efectos dañinos al cisticerco que el albendazol (Dosis menores y tiempos cortos).
- La DL_{50} para los compuestos que presentaron un daño mayor sobre los cisticercos fue de $400 \mu\text{mol}/\mu\text{L}$ para el compuesto 29 y de $50 \mu\text{mol}/\mu\text{L}$ para el compuesto 34.

IX. BIBLIOGRAFIA

- 1) Álvarez E, Torres GR (2004), “Neurocisticercosis: recomendaciones de tratamiento a propósito de tres casos”, *Parasitology*, 21: 382-386.
- 2) Ambrosio J, Landa A, Merchant MT, Laclette JP (1994) “Protein uptake by cysticerci of *Taenia crassiceps*” *Arch Med Autumn*;25(3):325-30.
- 3) Cárdenas G, Carrillo-Mezo R, Jung H, Sciutto E, Soto Hernández JL, Fleury A (2010), “Subarachnoidal neurocysticercosis non-responsive to cysticidal drugs: a case series”, *BMC Neurology*, 10:1-5.
- 4) Castellanos A, Jiménez L, Landa A (2002), “Cloning, production and characterisation of superoxide dismutase from *Taenia solium* a recombinant Cu/Zn”, *International Journal for Parasitology*, 32: 1175–1182.
- 5) Chong MS, Hawkins CP, Cook GC, Hawkes CH, Kocan RS (1991) “A resistant case of neurocysticercosis” *Postgrad Med* 67(788):577-8.
- 6) Cox F.E.G (2002) “History of Human Parasitology” Department of Infectious and Tropical Diseases, London School of Hygiene and Tropical Medicine 15(4):595–612.
- 7) Del Brutto H, Dolezal M, Castillo P, García H (2000) “Neurocysticercosis and Oncogenesis” *Archives of Medical Research* 31: 151–155.
- 8) Flisser A, Madrazo I, Delgado H (1997), “Cisticercosis humana”, 2ª, El Manual Moderno, México.
- 9) Flisser A, Vargas PL, Laclette JP (2006), “*Taenia solium*: Un parásito cosmopolita”, *Investigación y Ciencia*, 356: 24-33.

- 10) Fleury A, Moreno García J, Valdez Aguerrebere P, de Sayve Durán M, Becerril Rodríguez P, Larralde C, Sciutto E (2010) “Neurocysticercosis, a persisting health problem in Mexico”, *PLoS Negl Trop Dis*, 24(4):1-8.
- 11) Fried B, Reddy A, Mayer D (2011), “Helminths in human carcinogenesis”, *Cancer letters* 305:239-249.
- 12) García H, González A, Evans C, Gilman R (2003), “*Taenia solium* cysticercosis”, *The Lancet*, 361(8): 547-556.
- 13) Hargrove T, Wawrzak Z (2013), “For pathogen selectivity Chagas Disease: Structural basis Pyridine-based Drug Candidates for -Demethylase (CYP51) with Two α Sterol 14Trypanosoma cruzi Complexes of structural basis for pathogen selectivity, *J. Biol. Chem*, 288:31602-3161.
- 14) Herrera L, Bordes B, Sotelo J, Chávez L, Olvera J, Rascón A, López M, Ostrosky P (1999), “Possible Relationship Between Neurocysticercosis and Hematological Malignancies” *Archives of Medical Research* 30:154–158.
- 15) Herrera L, Ramirez T , Rodriguez U, Corona T, Sotelo J, Lorenzo M, Ramos F, Verdorfer I, Ostrosky P (2000), “Possible association between *Taenia solium* cysticercosis and cancer: increased frequency of DNA damage in peripheral lymphocytes from neurocysticercosis patients” *Transactions of the royal society of tropical medicine and hygiene* 94:61-65.
- 16) Herrera L, Ostrosky P (2001) “Do helminths play a role in carcinogenesis?”, *Parasitology*, 17(4): 172-175.
- 17) Jong-Yil Chai (2013), “Praziquantel Treatment in Trematode and Cestode Infections: An Update”, *Infect Chemother*, 45(1):32-43.

- 18) Landa A, Merchant MT, Willms K, Laclette JP (1994) "Purification and ultrastructural localization of surface glycoproteins of *Taenia solium* (Cestoda) cysticerci", *Int J Parasitology* 24(2):265-9.
- 19) Larralde C, Padilla A, Hernández M, Govezensky T, Scuitto E, Gutierrez G, Salvatierra B, Sepulveda (1992) "Seroepidemiología de la cisticercosis en México" *Salud Pública Méx* 34(2):197-210.
- 20) Larralde C, Aluja A (2007) "Cisticercosis guía para profesionales de la salud" 1ª Ed. Biblioteca de la salud. Fondo de Cultura Económica, México.
- 21) Laurence L. Brunton, John S. Lazo, Keith L. Parker (2006), "Goodman y Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica", 11ª, Mc Graw Hill, México.
- 22) Leathwick DM (2013), "Managing anthelmintic resistance--parasite fitness, drug use strategy and the potential for reversion towards susceptibility", *Parasitology*. 2013 198(1-2):145-53.
- 23) Mahanty S, Paredes A, Marzal M, Gonzalez E, Rodriguez S, Dorny P, Guerra-Giraldez C, Garcia HH, Nash T (2011) "Sensitive in vitro system to assess morphological and biochemical effects of praziquantel and albendazole on *Taenia solium* cysts" *Antimicrob Agents Chemother*. 55(1):211-7.
- 24) Mayta H, Gilman RH, Prendergast E, Castillo JP, Tinoco YO, Garcia HH, Gonzalez AE, Sterling C (2008), "Nested PCR for specific diagnosis of *Taenia solium* taeniasis", *Journal of Clinical Microbiology*, 46: 286-289.

- 25) Mazzotti, L., A. Dávalos y R. Martínez-Marañón (1965), “Infecciones experimentales por *Cysticercus cellulosae* en diferentes especies de mamíferos”, *Revista del Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales* 25:151-162.
- 26) Mohamed A, Abd E, Rashad A (2010), “Anti-inflammatory, Analgesic, Anticonvulsant and Antiparkinsonian Activities of Some Pyridine Derivatives Using 2, 6-Disubstituted Isonicotinic Acid Hydrazides”, *Pharm. Chem. Life Sci*, 10: 648–656.
- 27) Nash TE, Mahanty S, García H (2011) “Corticosteroid use in neurocysticercosis” *Expert Rev Neurother* 11(8):1175-83.
- 28) Palomares F, Palencia G, Ambrosio J.R, Ortiz A, Jung-Cook H (2006), “Evaluation of the efficacy of albendazole sulphoxide and praziquantel in combination on *Taenia crassiceps* cysts: in vitro studies”, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 57: 482–488.
- 29) Rayner-Canham, Geoff (2000), “Química inorgánica descriptiva”, 2ª, Prentice Hall, México.
- 30) Rispin A, Farrar D, Margosches E, Gupta K, Stitzel K, Carr G, Greene M, Meyer W, McCall D (2002) Alternative methods for the median lethal dose (LD(50)) test: the up-and-down procedure for acute oral toxicity, *ILAR J*.43(4):233-43.
- 31) Robles Clemente (1997), “Tratamiento de la neurocysticercosis”, 2ª, Facultad de Medicina, UNAM.
- 32) Rodríguez-Contreras, D., P. J. Skelly, A. Landa, C. B. Shoemaker y J. P. Laclette (1998), “Molecular and functional characterization and tissue localization of 2 glucose transporter homologues (TGTP1 and TGTP2) from the tape-worm *Taenia solium*”, *Parasitology* 117(6):579-588.

- 33) Rodríguez U, Rios C, Corona T, Talayero B, Ostrosky P, Herrera L (2008), “Lipid peroxidation in the cerebrospinal fluid of patients with neurocysticercosis” *Transactions of the royal society of tropical medicine and hygiene*, 102: 1025-1031.
- 34) Sáenz B, Fragoso G, Sciutto E, Fleury A (2008), “Human and porcine neurocysticercosis: differences in the distribution and developmental stages of cysticerci” *Tropical Medicine & International Health*, 13: 697-702.
- 35) Sarti E (1997), “La teniasis y cisticercos por *Taenia solium*”, *Salud Pública de México*, 39: 67-82.
- 36) Sciutto E, Chavarria A, Fragoso G, Fleury A, Larralde C (2007) “The immune response in *Taenia solium* cysticercosis: protection and injury”. *Parasite Immunology* 29(12): 621–3.
- 37) Sciutto E, Kendjo E, Fragoso G, Paris L, Bouteille B, Fleury A (2010) “Human neurocysticercosis: comparison of different diagnostic tests using cerebrospinal fluid” *Journal Clinical Microbiology*.49(1):195-200.
- 38) Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica, Sistema único de información (2007), “Aspectos relevantes del Binomio Teniasis/Cisticercosis” *Vigilancia Epidemiológica* 24: 1-5.
- 39) Sorvillo F, Wilkins P, Shafir S y Eberhard M (2010), “Public health implications of cysticercosis acquired in the United States”, *Emerging Infectious Diseases*, 17: 1-5.
- 40) Sotelo J, Del Brutto O (2000), “Brain Cysticercosis” *Archives of Medical Research* 31:3–14.
- 41) Tay-Zavala J, “Microbiología y Parasitología Medicas”, 3ª, Méndez Editores, México, 2003.

42) Villalobos Perozo R (2003), “Clinical manifestations in the presentation of neurocysticercosis”, *Kasmera*, 31(2): 80-85.

43) Yan H, Chang H (2012), “Antioxidant and Antitumor Activities of Selenium- and Zinc-Enriched Oyster Mushroom in Mice”, *Biology Trace Elements Res*, 150:236–241.

TESIS

44) Castro Nolasco Narda Karina (2011), “Aislamiento del ADNc que codifica para la Glioxalasa I (GLO-I) de *Taenia solium*”, Tesis de licenciatura de la carrera de Química Farmacéutico Biológica Facultad de Química UNAM.

45) Torres Rivera Anayetzin (2004), “Aislamiento y caracterización del ADNc que codifica para la isoforma de la Glutación S-transferasa de 26.5 kDa de *Taenia solium*”, Tesis de licenciatura de la carrera de Química Farmacéutico Biológica Facultad de Química UNAM.

REFERENCIAS ELECTRONICAS

46) Instituto Nacional del Cáncer EUA 2013: <http://www.cancer.gov>

47) OMS Organización Mundial de la Salud 2013: <http://www.who.int/es>