



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

"Efectos de la inmunización sobre cerdos inmuno-  
deprimidos naturalmente parasitados con cisticercos  
de Taenia solium".

T E S I S

Que para obtener el Título de:

BIOLOGA

Presenta:

María del Rosario Rolón Jiménez



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## I N D I C E .

INTRODUCCION	2
MATERIALES Y METODOS	10
RESULTADOS	17
DISCUSION	31
CONCLUSIONES	34
BIBLIOGRAFIA	35

## INTRODUCCION:

La observación de que en muchas enfermedades se altera la respuesta inmune, ha conducido a investigaciones sobre los mecanismos responsables. Se conoce desde hace muchos años que los pacientes que sufren de algunas enfermedades son más susceptibles a otros agentes infecciosos. Los trastornos que producen las células inmunocompetentes como linfoma (Twomey y Cols. 1975), mieloma múltiple (Waldman y Cols. 1976) y leucemia (Proffitt y Cols. 1975); al igual que las enfermedades infecciosas crónicas como sífilis (Wicher y Wicher, 1977), tuberculosis (Olds y Col. 1981) y lepra (Bullock y Fasal 1971) pueden inducir la depresión de la respuesta inmune. Esta inmunosupresión resulta de la acción recíproca del sistema inmune del huésped y el agente infeccioso, (Clinton y Col. 1969).

En enfermedades parasitarias tales como Malaria, Leishmaniasis, Tripanosomiasis, Esquistosomiasis y en la Cisticercosis experimental, se ha reportado inmunosupresión a antígenos no relacionados durante el curso de la enfermedad. Así, en las infecciones causadas por Plasmodium berghei yoelli (Weinbaum y Cols. 1978), las reacciones de inmunidad celular parecen normales, sin embargo las respuestas que requieren una función de células T cooperadoras tales como las respuestas a los eritrocitos de carnero, a gamaglobulina de humano o al toxoide tetánico, están marcadamente desacopladas ó las células no tienen la capacidad funcional para dar una respuesta. Warren y Weidanz (1976) reportaron que en la inmunosupre-

si3n observada en la Malaria murina, las c3lulas adherentes de bazo, probablemente macr3fagos, eran defectuosas como c3lulas accesorias en la respuesta a eritrocitos de caballo. Cox y Hayes (1985) reportaron que el suero de ratas infectadas con Plasmodium chabaudi suprimía la producci3n de anticuerpos por linfocitos de bazo y las respuestas a la estimulaci3n con mit3genos, esta actividad supresora parece no haber sido influenciada por la inactivaci3n del complemento, por lo que se pens3 que esta supresi3n era en parte inducida por complejos antígeno-anticuerpo en la sangre de los animales con malaria.

En infecciones con Tripanosoma, Cunningham y Cols. (1978) reportaron una inmunosupresi3n de las respuestas humorales durante infecciones de ratones con Trypanosoma cruzi, que aumentaba concomitante con el per3odo de infecci3n pero que no correlacionaba con los cambios en el n3mero de c3lulas de bazo y encontraron una sustancia supresora en el suero de ratones infectados con este protozoario intracelular. Por otro lado, Rowland y Kuhn (1978) encontraron en ratones infectados con Trypanosoma cruzi una supresi3n de las respuestas blastog3nicas tanto a la fitohemaglutinina como a los ant3genos relacionados.

Arredondo y P3rez (1979) reportaron que los ratones BALB/c infectados cr3nicamente con Leishmania tropica manifestaban supresi3n de las respuestas humoral y celular contra ant3genos de Leishmania. En 1981, Scott y Farrell encontraron en la misma cepa de ratones infectados con Leishmania tropica una inmunosupresi3n no específica a

concanavalina A, fitohemaglutinina y lipopolisacáridos. Además, Carvalho y Cols. (1981), reportaron inmunosupresión específica reversible durante la infección aguda en pacientes con leishmaniasis visceral (L. donovani chagasi), pero no la pudieron atribuir a células T, ni al efecto inhibitorio del suero ni a monocitos. Liew y Cols. (1982) caracterizaron en ratones BALB/c infectados con Leishmania tropica células T supresoras específicas que inhiben la inducción y expresión de la hipersensibilidad de tipo retardado.

En investigaciones sobre esquistosomiasis se ha encontrado inmunosupresión específica y no específica. Dessaint y Cols. (1977) reportaron la inhibición de proliferación de linfocitos normales medida por síntesis de DNA, con factores liberados por el parásito en el sobrenadante libre de células de un cultivo in vitro y presentes también en el suero de animales infectados. Ramahlo-Pinto y Cols. (1976) mostraron evidencias para una respuesta específica dependiente de células T cooperadoras, ya que estas se incrementaron durante las dos primeras semanas después de la infección y subsecuentemente disminuyeron; sugiriendo que ésta disminución podría parcialmente representar una supresión específica de la función de células T cooperadoras. Por otro lado, Pelley y Cols. (1976) observaron una profunda alteración de la respuesta a mitógenos como concanavalina A y fitohemaglutinina dependiente de la dosis, al usar células de nódulos linfáticos y de bazo de ratones con esquistosomiasis crónica producida por S. mansoni. Tales hallazgos son

consistentes con la existencia de células T supresoras en esquistosomiasis crónica. Más aún, Colley y Cols. (1978) mostraron que en linfocitos de sangre periférica de casi todos los pacientes con esquistosomiasis crónica (S. mansoni), la concanavalina A indujo la proliferación de células supresoras (88%); mientras que antígenos solubles de huevos o del parásito adulto produjeron actividad supresora sólo en el 40% de los pacientes. La inducción de células supresoras por los antígenos esquistosomales, se incrementó grandemente si el medio era adicionado con suero de pacientes crónicos más que con suero normal de humano. Attallah y Cols. (1979) encontraron que en esquistosomiasis murina aguda, la capacidad funcional de los linfocitos T y B para responder a estímulos mitógenicos y la respuesta humoral a antígenos dependientes e independientes del timo estaban profundamente deprimidas, sugiriendo que tanto las células supresoras como los complejos inmunes contribuían a esta inmunosupresión. Posteriormente, Cottrell y Cols. (1980) encontraron en el suero de mandriles infectados con S. mansoni, factores inmunosupresores que aparecieron después de la infección, los cuales pudieron ser complejos inmunes debido a que eran estables al calor, no dializables y de alto peso molecular. Aunque, Chensue y Boros (1979) caracterizaron una subpoblación de linfocitos T en ratones infectados con S. mansoni involucrados en la modulación local de la respuesta granulomatosa a huevos de este parásito. De tal forma, que en parasitosis como ésta, la

modulación de la respuesta inmune por el parásito parece ser tanto mediante factores solubles ( Complejos inmunes ) como por células ( T supresoras).

En lo que se refiere a Cisticercosis, Good y Miller (1976) encontraron que la infección intraperitoneal de ratones con larvas de Taenia crassiceps indujo una disminución en la respuesta primaria y secundaria de anticuerpos hacia eritrocitos de carnero in vivo y que la respuesta secundaria in vitro estaba constantemente deprimida en células de nódulos linfáticos, pero no siempre en células de bazo. Sin embargo, Willms y Merchant (1980) reportaron que cisticercos de T. solium implantados en la cavidad peritoneal de ratones indujeron en las células de bazo una supresión de la respuesta a Concanavalina A.

La capacidad del huésped para eliminar al cisticerco de sus tejidos se ha estudiado por muchos años, ya que estos parásitos son capaces de sobrevivir por largos períodos en el huésped, ( Slaiss 1968). Así, Hernández-Jaúregui y Cols. (1973) encontraron en cortes de cerebro de cerdos parasitados, un exudado inflamatorio crónico rodeando a las larvas; Willms y Cols. (1980) describieron una reacción inflamatoria con características generales de granuloma crónico rodeando a las larvas de T. solium en músculos de cerdos parasitados. Estos exudados inflamatorios no destruyen al parásito ya que sus estructuras se observaron intactas con su tegumento normal. Por otro lado, Molinari y Cols. (1987) observaron la disminución de células T (particularmente T cooperadoras) en

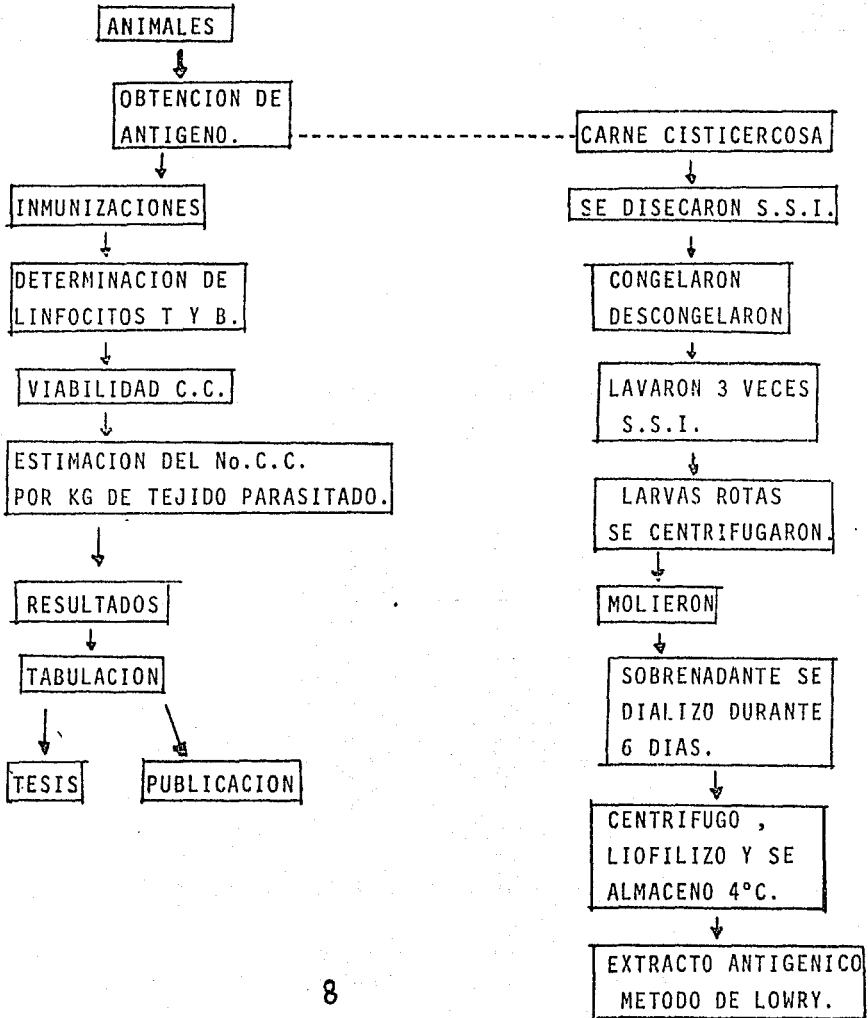


cerdos no inmunizados e infectados con huevecillos de T. solium, el número de cisticercos implantados en cerdos normales fué mayor que en los cerdos inmunes, sugiriendo que se requiere de un determinado número de larvas implantadas para inducir inmunodepresión de linfocitos T.

El análisis de estos antecedentes hace pensar que en la cisticercosis porcina deben encontrarse procesos de inmunosupresión como los que ocurren en otras enfermedades infecciosas y parasitarias. En consecuencia, el propósito del presente trabajo fué contrastar experimentalmente esta hipótesis, para la cual se decidió estudiar el estado inmunológico de cerdos naturalmente parasitados con larvas de T. solium midiendo sus poblaciones de linfocitos B y T, y estudiar si este estado se modificaba por la inmunización con antígenos obtenidos de estas larvas.

ORGANIGRAMA .

OBTENCION DE ANTIGENO DE LARVAS DE Taenia solium.



## MATERIALES Y METODOS.

### ANIMALES.

Se adquirieron 3 cerdos parasitados naturalmente con cisticercos de T. solium en Paso Morelos, Guerrero, México y se trajeron a las instalaciones de la sección correspondiente de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM, donde se mantuvieron con alimento y agua ad-libitum.

### OBTENCION DEL ANTIGENO.

Para obtener antígenos de los cisticercos de Taenia solium se siguió el método de Tato y Cols. (1979) con ligeras modificaciones (Molinari y Cols. 1983 a). A partir de carne cisticercosa de cerdo obtenida del rastro de Xochimilco, México, se disecaron 4,000 cisticercos, los cuales se lavaron con una solución 0.15 M de Cloruro de Sodio, se congelaron y descongelaron una vez y se lavaron 3 veces más con solución salina isotónica estéril por centrifugación a 1,500 x g durante 10 min en una centrifuga Sorvall RC-2B

refrigerada y luego se homogenizaron por 3 seg en un Omni-Mixer Servall. Las larvas rotas se centrifugaron a 1,500 x g por 10 min, se resuspendieron en amortiguador de fosfatos de sodio 0.02 M, pH 7.4 que contenía 0.4 % de desoxicolato de sodio (Merck) y 20 ug/ml de desoxirribonucleasa I de páncreas (Merck) y se molieron con polvo de vidrio en un mortero durante 20 min a temperatura ambiente. El sobrenadante se decantó cuidadosamente y se centrifugó a 30,000 x g durante 20 min en una centrifuga Spinco. El sobrenadante se dializó contra varios cambios de amortiguador de fosfatos de sodio 0.02 M pH 7.0 durante 6 días. Después, el material se centrifugó a 30,000 x g durante 20 min para eliminar el material desnaturalizado y el sobrenadante se liofilizó y almacenó a 4°C.

El extracto antigénico liofilizado se resuspendió en agua desionizada estéril y se determinó la concentración de proteína por el método de Lowry y Cols. (1951), que brevemente consiste en : resuspender las muestras por duplicado en un volumen de 0.4 ml de agua desionizada y agregar 2 ml por tubo de una mezcla que contenía: 1 ml de tartrato de sodio y potasio al 2%, 1 ml de sulfato de cobre al 1% y 98 ml de una solución al 2% de carbonato de sodio en hidróxido de sodio 0.1 N. Los tubos se agitaron e incubaron 10 min a temperatura ambiente, después se les agregaron 0.2 ml de una dilución 1:1 del reactivo de fenol (Folin-Ciocalteu), se volvieron a agitar vigorosamente y se incubaron a temperatura ambiente durante 30 min. La coloración se midió

por absorbancia a 500 nm en un espectrofotómetro y se determinó la concentración de proteínas a partir de una curva patrón de albúmina de bovino (sigma).

#### INMUNIZACIONES.

Los cerdos se inmunizaron por vía subcutánea en la base de una oreja con 250 ug de proteína del experimento antigénico de larvas de I. solium resuspendidos en 0.1 ml de solución salina isotónica estéril. Al cerdo No. 1 se le inoculó por primera vez al inicio del experimento y después a los 14 días. Se le sacrificó 3 meses después de la primera inmunización. Los cerdos 2 y 3 se inocularon en las mismas condiciones al mes de iniciado el experimento y después cada 2 semanas durante 4 y 7 meses respectivamente y 15 días después de la última inmunización se sacrificaron.

#### DETERMINACION DE POBLACIONES DE LINFOCITOS T Y B.

Para medir las poblaciones de linfocitos T y B, se extrajeron 10 ml de sangre periférica de la vena yugular de cada cerdo con una jeringa heparinizada y se centrifugaron a 400 x g durante 5 min en una centrifuga clínica

(Sol-bat Modelo J-12). El plasma se deshechó y las células blancas se resuspendieron en un volumen de 10 ml de solución salina isotónica estéril y se depositaron cuidadosamente sobre 5 ml de una solución de Ficoll-Diatrizoato de sodio (densidad= 1.077 gr/lt) en un tubo cónico y se centrifugaron nuevamente a 400 x g durante 45 min, las células de la interfase se colectaron, se lavaron dos veces con solución salina isotónica estéril y una vez más con medio de cultivo TC-199 (Difco). El sobrenadante del último lavado se retiró y las células se resuspendieron en 0.9 ml de medio de cultivo TC-199 que contenía 1 gr de estreptomina y 800, 000 UI de penicilina por litro. Las células se contaron en una cámara de Neubauer, se midió la viabilidad por exclusión de azul de Tripano y la suspensión se ajustó a  $1.5 \times 10^7$  células por ml.

Los linfocitos T de diversas especies tienen la propiedad de unirse a eritrocitos de carnero que no han recibido tratamiento alguno (Mendes y Cols. 1973). Los individuos normales tienen en circulación de 50 a 80% de linfocitos formadores de rosetas directas. Para la determinación de linfocitos T, se utilizó el método directo de rosetas de eritrocitos, descrito por Jondal y Cols. (1972). En un tubo de centrifuga clínica se depositaron 0.25 ml de una suspensión de eritrocitos de carnero al 0.5% y 0.1 ml de la suspensión de linfocitos ( $1.5 \times 10^7$  células / ml), se mezclaron por agitación manual, se incubaron a 37°C durante

30 min y se centrifugaron a 2,000 x g durante 5 min a 4°C. Inmediatamente después, sin alterar el paquete celular, se incubaron a 4°C durante 30 min más. Posteriormente, se añadió una gota de azul de Toluidina al 0.3% y las células sedimentadas se resuspendieron cuidadosamente y se depositaron en un portaobjetos observándose al microscopio para cuantificar las rosetas. Se contaron 100 linfocitos y se tomaron como rosetas todas aquellas células que tuvieran 3 o más eritrocitos adheridos a su superficie. Los resultados se expresaron como por ciento de linfocitos formadores de rosetas.

Los eritrocitos de carnero recubiertos con anticuerpos específicos de la clase Ig M y con C3b, se adhieren a la membrana de linfocitos B de humano, debido a que estos poseen receptores para C3b. Con base de esto, se cuantificaron los linfocitos B siguiendo el método indirecto de rosetas de eritrocitos de carnero descrito también por Jondal y Cols. (1972). Para este método se utilizó una dosis subaglutinante de anticuerpos antieritrocitos, empleando suero humano fresco como fuente de complemento y una preparación de linfocitos purificados por Ficoll-Diatrizoato de sodio, debido a que los monocitos también son capaces de formar rosetas con los eritrocitos sensibilizados, (Hudson y Hay, 1979). Para sensibilizar a los eritrocitos de carnero se lavaron 3 veces con solución de Hanks por centrifugación a 400 x g durante 10 min cada vez, se preparó una suspensión de eritrocitos al 5%, se le agregó 1 ml de una dilución

1:40 de Hemolisina ( anticuerpos antieritrocitos de carnero) y se incubaron a 37°C durante 1 hr agitando ocasionalmente. Después se lavaron los eritrocitos 3 veces con solución de Hanks por centrifugación a 400 x g durante 10 min y se resuspendieron en un volumen adecuado de solución de Hanks para tener una suspensión al 2%.

Para determinar la concentración de células B en la sangre de los cerdos se mezclaron 0.25 ml de la suspensión de eritrocitos de carnero al 2% con 0.1 ml de la suspensión de linfocitos ( $1.5 \times 10^7$  células/ml), se incubaron toda la noche a 4°C y se cuantificaron siguiendo el mismo procedimiento descrito para las rosetas directas. Se incluyeron como controles muestras de sangre de cerdos normales para estimar los valores de T y B en cerdos no parasitados.

#### VIABILIDAD DE LOS CISTICERCOS DE Taenia solium.

La viabilidad en las larvas de T. solium se determinó por el método de Cañedo y Cols. (1982) con algunas modificaciones. Cien cisticercos obtenidos de cerdos parasitados e inmunizados se mantuvieron a 37°C en cajas de Petri que contenían medio de cultivo TC-199 suplementado con 4 mg/ml de glucosa y 0.1 de tripsina (P/V). Las larvas se



cortaron en el extremo opuesto al escólex invaginado con el fin de asegurar el acceso de macromoléculas al interior. Doce horas después, los cisticercos evaginados se observaron y se contaron con la ayuda de un microscopio estereoscópico. Como control, se estimó la viabilidad de 600 larvas de T. solium obtenidas de 6 cerdos naturalmente parasitados.

#### ESTIMACION DEL NUMERO DE CISTICERCOS POR KG DE TEJIDO PARASITADO.

Para determinar el número de cisticercos por Kg de tejido parasitado, se pesó 1 Kg de carne parasitada, se diseccionaron todas las larvas que contenía y se contaron.

## RESULTADOS.

Se determinaron las poblaciones de linfocitos B y T, de los cerdos naturalmente parasitados con cisticercos de Taenia solium, 24 hrs después de haber ubicado a los cerdos en las instalaciones correspondientes (día cero) y antes de que cualquier manipulación o inoculación fuera iniciada. Estos resultados fueron comparados con análisis realizados en sangre de cerdos sanos usados como controles, los cuales mostraron una media de 56% (intervalo de 50 a 60%) de células T y 35% de células B (intervalo de 32 a 38%). Se encontró que las poblaciones de linfocitos B de todos los cerdos naturalmente parasitados estuvieron dentro de un intervalo normal al inicio del experimento (32 a 38%) mientras que las poblaciones de linfocitos T se encontraban muy disminuidos en todos los animales (27 a 34%) como se puede observar en las Figuras 1, 2 y 3.

Un mes después se determinaron nuevamente las poblaciones de linfocitos. Se observó un ligero aumento de linfocitos T en el 100% de los animales aunque no alcanzaron los niveles normales. Este incremento del 9 al 13% se contrastó con los niveles de linfocitos B, que disminuyeron notablemente (11 a 18%) en los 3 cerdos (Figs. 1, 2 y 3 ).

Al momento del sacrificio, se volvieron a determinar las poblaciones de linfocitos y se observó que

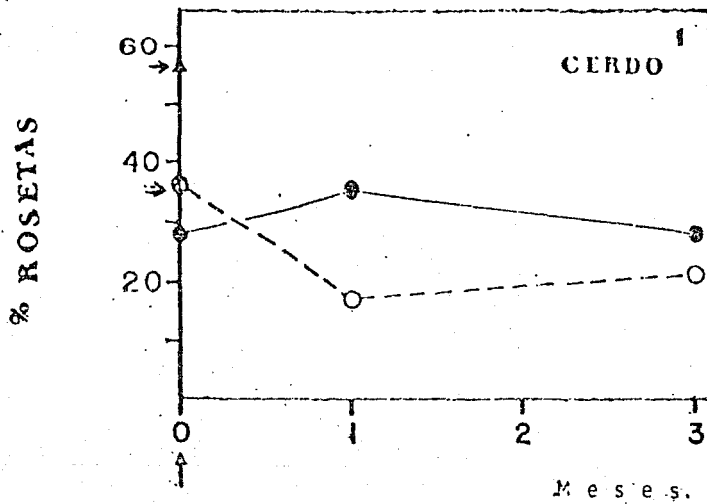


FIGURA 1.- Determinación de las poblaciones de linfocitos T y B del cerdo No. 1 parasitado naturalmente e inmunizado con antígenos obtenidos de larvas de Taenia solium. ↑ Primera inmunización; ● Linfocitos T; ○ Linfocitos B.  
 →▲ % Linfocitos T de 6 cerdos normales.  
 ▷△ % Linfocitos B de 6 cerdos normales.

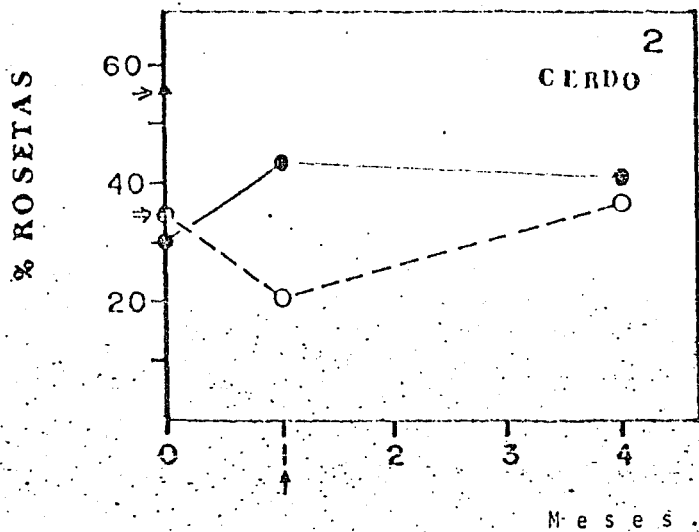


FIGURA 2.- Determinación de las poblaciones de linfocitos T y B del cerdo No. 2 parasitado naturalmente e inmunizado con antígenos obtenidos de larvas de *Taenia solium*. ↑ Primera inmunización; ● Linfocitos T; ○ Linfocitos B.  
 →▲ % Linfocitos T de 6 cerdos normales.  
 ⇒△ % Linfocitos B de 6 cerdos normales.

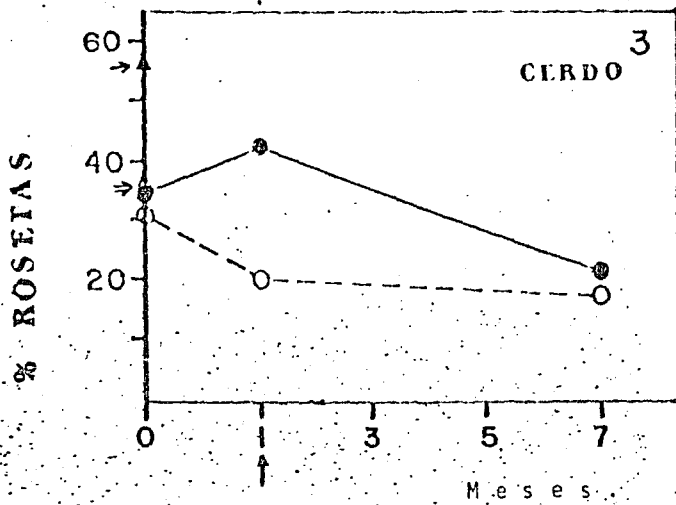


FIGURA 3.- Determinación de las poblaciones de linfocitos T y B del cerdo No. 3 parasitado naturalmente e inmunizado con antígenos obtenidos de larvas de Taenia solium. ↑ Primera inmunización; ● Linfocitos T; ○ linfocitos B.  
 → ▲ ≈ Linfocitos T de 6 cerdos normales.  
 → △ ≈ Linfocitos B de 6 cerdos normales.

(3.5%) (Fig. 1), en el cerdo No. 2 alcanzaron niveles normales, (Fig. 2) y en el cerdo No. 3 las poblaciones de linfocitos B siguieron disminuyendo hasta el séptimo mes (Fig. 3). En lo que se refiere a las poblaciones de linfocitos T, se observó que éstas volvieron a disminuir en todos los animales, siendo esta disminución (21%) más pronunciada en el cerdo No. 3 (Fig. 3) después de 7 meses de observación, mientras que el cerdo No. 1 la disminución fue de un 8% y en el cerdo No. 2 sólo de un 2% ( Fig. 1 y 2 ).

Con los resultados de las estimaciones de linfocitos T y B formadores de rosetas de los cerdos naturalmente parasitados, se hicieron gráficas para observar en diferentes tiempos el comportamiento que tuvieron los linfocitos T y B en cerdos naturalmente parasitados y en cerdos normales tomando una media aritmética de las células T (56%) y B (35%). El cerdo No. 1 se sacrificó a los tres meses y se observó que hubo un aumento de linfocitos T (1%) y una disminución de linfocitos B (15%) con relación al tiempo cero, este incremento puede ser debido a la cantidad de parásitos que tenía éste cerdo (2,100 larvas/Kg de tejido). El cerdo No. 2 se sacrificó al cuarto mes y se observó un incremento de linfocitos T del 13% y de linfocitos B del 3% con relación al tiempo cero y alcanzó niveles normales. El cerdo No. 3 se sacrificó al séptimo mes y se observó que los linfocitos T disminuyeron un 17% y los linfocitos B un 11% con relación al tiempo cero lo que indica que este cerdo estaba inmunode-

mido. (Figs. 4,5 y 6).

Los resultados de la prueba de viabilidad de las larvas de los cerdos controles y experimentales, así como el número de larvas por Kilogramo de tejido parasitado se muestran en el Cuadro I. Respecto a la viabilidad de los cisticercos, se observó que los animales naturalmente parasitados con cisticercos de I. solium y no inmunizados (Control b) tuvieron un 93% de viabilidad, las larvas evaginaron completamente y se mostraron muy activas. En los cerdos naturalmente parasitados e inmunizados se observaron diferencias en la viabilidad y evaginación de las larvas, así los cisticercos del cerdo No. 3 se comportaron como las larvas de los cerdos controles tanto en el porcentaje de viabilidad (93%) como en las características de la evaginación, mientras que sólo el 34% de las larvas del cerdo No. 1 mostraron viabilidad evaginando algunas lentamente y con poca movilidad y muchas otras parcialmente. Finalmente, ninguna larva del cerdo No. 2 evaginó (Fig. 7).

Cuando los niveles de linfocitos T de la primera estimación fueron graficados contra el número de cisticercos por Kilogramo de carne, se encontró una estrecha correlación entre dos parámetros, se observó que a mayor cantidad de cisticercos menor porcentaje de linfocitos T (Fig. 8).

Cuando se hizo la correlación entre el número de linfocitos T y B formadores de rosetas y el

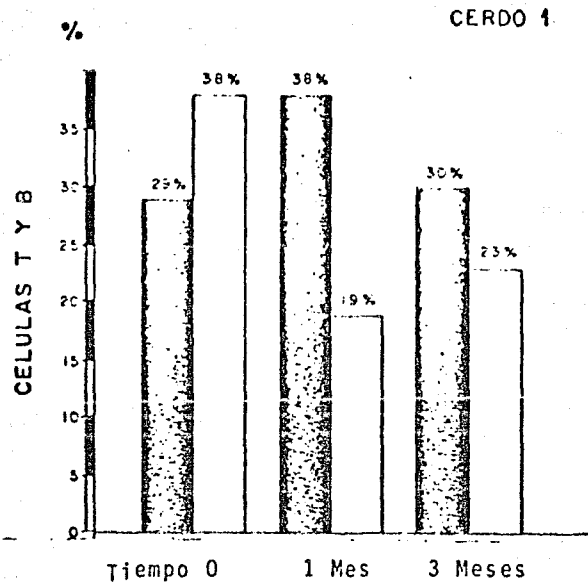


FIGURA 4.- Porcentaje de linfocitos T y B formadores de rosetas del cerdo No. 1, determinados en diferentes tiempos. ■ Linfocitos T; □ Linfocitos B.



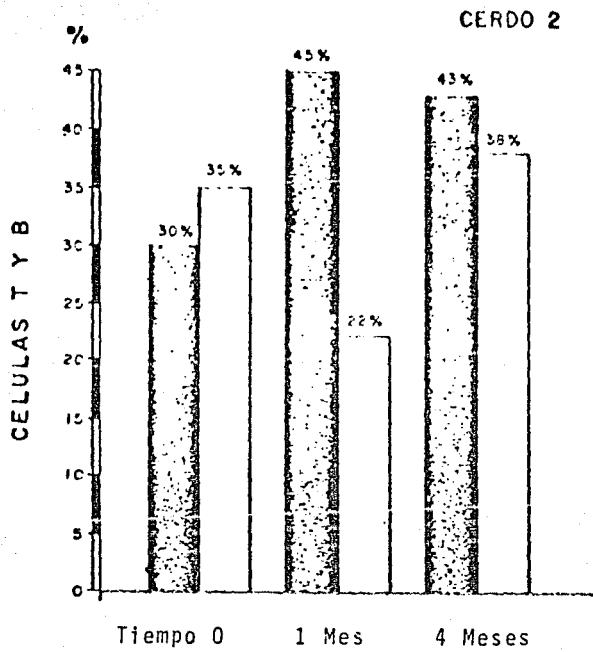


FIGURA 5.- Porcentaje de linfocitos T y B formadores de rosetas del cerdo No. 2, determinados en diferentes tiempos. ■ Linfocitos T; □ Linfocitos B.

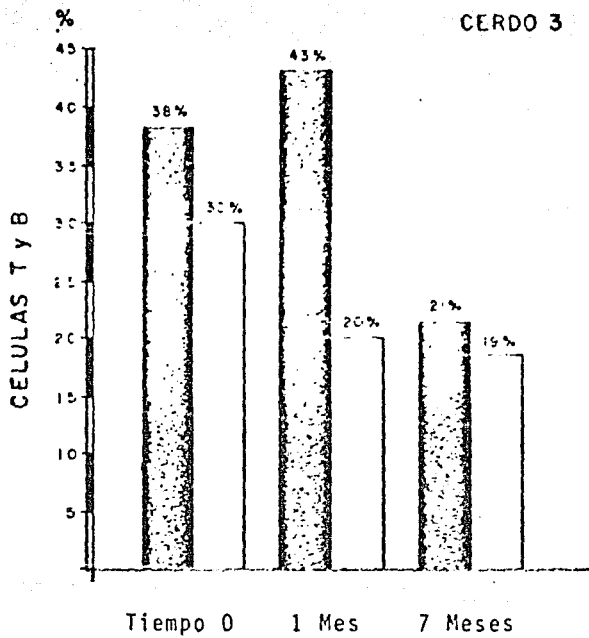


FIGURA 6.- Porcentaje de linfocitos T y B formadores de rosetas del cerdo No. 3, determinados en diferentes tiempos. ■ Linfocitos T; □ Linfocitos B.

C U A D R O I.

Porciento de cisticercos viables obtenidos de cerdos parasitados naturalmente e inmunizados y el número de larvas por Kg de tejido parasitado comparado con la estimación de linfocitos T y B antes del sacrificio.

No. Cerdo	*Linfocitos (%)		No.de larvas X Kg de Teji do parasitado	Viabilidad (%)
	T	B		
1	27	20.5	2100	34
2	41	36	700	0
3	21	17	300	93
Control a	( $\bar{x}$ ) 56	35	-	-
Control b	-	-	( $\bar{x}$ ) 860	93

a) Media de los valores de linfocitos T y B de 6 cerdos normales.

b) Media de los valores de número de larvas X Kg. de - Tejido parasitado y viabilidad de Cisticercos de 6 cerdos naturalmente parasitados con larvas de Taenia solium.

\* Determinación de poblaciones de linfocitos B y T al momento del sacrificio.

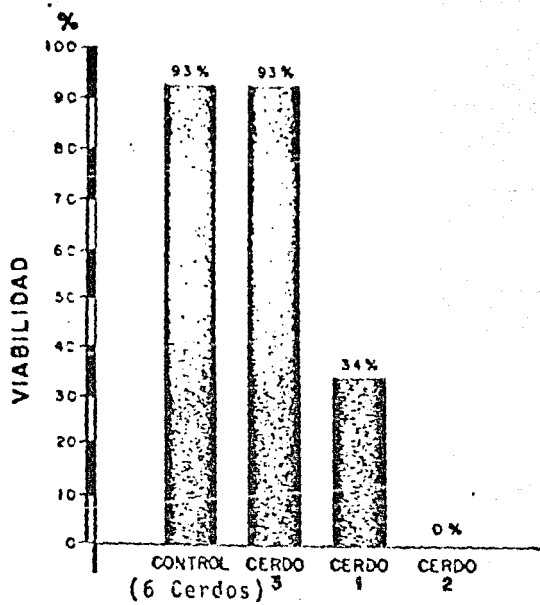


FIGURA 7- Porcentaje de Viabilidad de larvas de Taenia solium de cerdos naturalmente parasitados e inmunizados con antígenos cisticerciales. Se incluyen como controles la viabilidad de cisticercos obtenidos de cerdos parasitados naturalmente y no inmunizados.

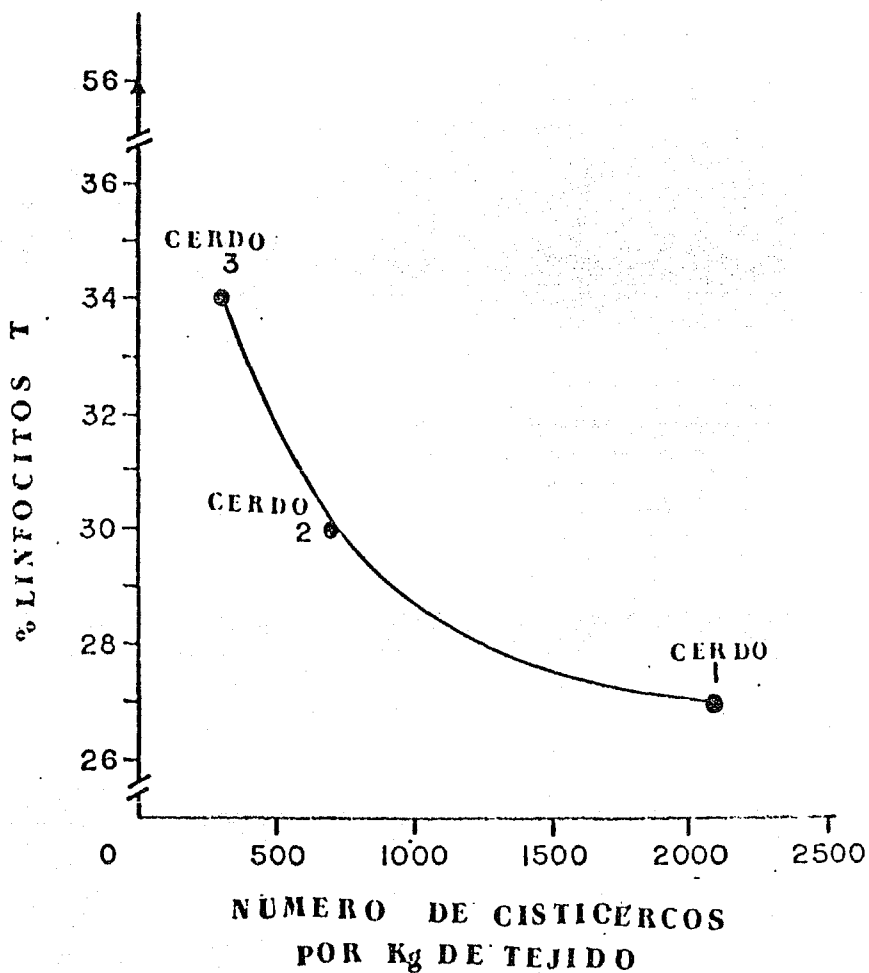


FIGURA 8- Correlación de la primera estimación de las poblaciones de linfocitos T (●) de los 3 cerdos naturalmente parasitados y el número de cisticercos por Kg de tejido.

▲ % de Linfocitos T de cerdos normales.

porcentaje de larvas no viables de los cerdos naturalmente parasitados e inmunizados se observó que a mayor número de linfocitos B y T mayor mortalidad de cisticercos (Fig. 9).

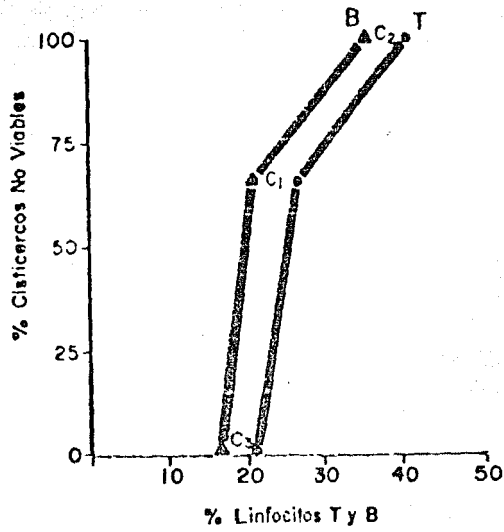


FIGURA 9- Correlación entre el porcentaje de Linfocitos T (●) y B (▲) formadores de rosetas y el porcentaje de larvas No Viables de cerdos naturalmente parasitados con Cisticercos de I. solium e inmunizados con antígenos de estas larvas.

## D I S C U S I O N .

La primera determinación de linfocitos formadores de rosetas T y B de cerdos naturalmente parasitados con cisticercos de Taenia solium mostró niveles muy bajos de células T en estos animales. Los linfocitos B, sin embargo estaban dentro de valores normales. Aunque los antecedentes de infección son desconocidos, fue muy evidente la inmunodepresión inducida por la parasitosis hasta cierto tiempo la que tuvo su efecto más importante sobre los linfocitos T; esta depresión fue proporcional al número de cisticercos implantados. La segunda estimación mostró disminución de los linfocitos B en los tres cerdos estudiados. Este efecto podría ser una consecuencia de la depresión y probablemente una disfunción también de los linfocitos T, los cuales se incrementaron ligeramente quizás como resultado de una adecuada alimentación, ya que estos animales fueron conseguidos en rancherías del estado de Guerrero, donde probablemente por sus condiciones de subalimentación sufrían algún grado de desnutrición.

La inmunización con antígenos de cisticercos de Taenia solium parece haber modificado los niveles deprimidos de linfocitos T y B en dos de los cerdos estudiados. El retorno hacia valores normales y la viabilidad baja (en un cerdo y nula en otro) de las larvas podrían estar estrechamente relacionadas, lo que sugiere que la inmunidad



inducida al ir destruyendo los cisticercos, inclina el fiel de la relación huésped-parásito a su favor.

En experimentos anteriores, la inmunización de cerdos con antígenos cisticercos indujo un nivel alto de inmunidad contra los cisticercos, los que fueron encontrados en diversos estados de degeneración o completamente destruidos, todas esas larvas estaban rodeadas por una intensa reacción granulomatosa donde el eosinófilo fue la célula predominante y la que infiltró y destruyó los cisticercos (Molinari y Cols. 1983 a). También Molinari y Cols. (1983 b) reportaron que en cerdos naturalmente parasitados se puede inducir inmunidad predominante mediada por células contra los cisticercos de Taenia solium.

La inmunodepresión de linfocitos T y B descrita en este reporte, debe haber sido modulada por el parásito. Si los cisticercos permanecen vivos, la inmunodepresión puede llegar a niveles críticos como se observó en el cerdo 3. Por otro lado, si se supone que muchos de los cisticercos de los cerdos 1 y 2 estaban destruidos y muchos otros en diversos estados de degeneración, entonces la modulación inducida por el parásito debe de haber cesado, lo que permitió que la regulación inmune se normalizara (Tato y Cols. 1987 ).

Estos resultados indican que los cisticercos implantados en los cerdos están involucrados en la modulación de la respuesta inmune del huésped contra ellos

( inmunodepresión), y qué esta inmunodepresión puede romperse mediante la presentación de los antígenos del parásito por otra vía. Aunque no se sabe como regula el cisticerco la respuesta inmune del huésped, existen algunas evidencias que sugieren que el parásito puede liberar sustancias en los tejidos del huésped que modulen la respuesta. Así, Sealey y Cols. (1981) demostraron actividad mitógena en un extracto crudo de cisticercos que habían sido exhaustivamente dializados contra amortiguador de fosfatos salino. Más recientemente, Molinari y Cols. (1987) encontraron que el cisticerco elimina sustancias de bajo peso molecular (menos de 3,000 daltones) posiblemente oligonúcleotidos los cuales son capaces de producir una incorporación aditiva de timidina tritida en cultivos de linfocitos de humano estimulados con fitohemaglutinina. Estas evidencias sugieren que el parásito tiene más de un mecanismo para modular la respuesta inmune.

Finalmente, los resultados hacen pensar que el estado nutricional del huésped tiene importancia en el curso de la parasitosis, ya que después de un mes de estarse alimentando adecuadamente, los linfocitos T aumentaron en todos los cerdos.

## CONCLUSIONES .

De los resultados obtenidos en este trabajo, se puede concluir que los cerdos naturalmente parasitados con larvas de Taenia solium presentan una disminución del número de linfocitos T circulantes (27 a 34%) en comparación con cerdos no parasitados (50 a 60%); y que existe una estrecha correlación entre la depresión de linfocitos T y el número de larvas implantadas en el huésped, de tal forma que a mayor número de larvas menor número de linfocitos T.

También se puede concluir que la presentación de los antígenos del parásito al huésped por otra vía (inmunización subcutánea) puede alterar este estado de inmunosupresión.

Y finalmente, que el estado nutricional del huésped tiene influencia en la relación huésped parásito, ya que los animales al empezar a alimentarse bien mejoraron sus niveles de linfocitos T.

## BIBLIOGRAFIA.

- Arredondo B., y Pérez H. 1979. Alterations of The Immune Response Associated with Chronic Experimental Leishmaniasis. *Infec. Immun.* 25;16-22.
- Attallah A. M., Smith A. H., Murrey K. D., Fleischer T., Woody J., Vannier W. E., Scher I., Ahmed A., y Sell K. W. 1979. Characterization of the Immunosuppressive State During Schistosoma mansoni Infection. *J. Immunol.* 122; 4, 1413-1420.
- Bullock W. E. y Fasal P. 1971. Studies of Immune Mechanism in Leprosy. II.- The role of cellular and Humoral factors in the impairment of the in vitro immune response. *J. Immunol.* 106; 888.
- Cañedo L., Laclette J. P., Morales E., 1982. Evagination of the Metacestode of Taenia solium in cysticercosis, present State of Knowledge and perspectives. Edited by Flisser A., Willians K., Laclette P., Larralde C., Ridaaurar, Beltrán F. Academic Press. New York. 363-373.
- Carvalho E. M., Teixeira R. S., y Johnson W. D. Jr. 1981. Cell- Mediated Immunity in American Visceral Leishmaniasis; Reversible Immunosuppression During Acute Infection. *Infec. Immun.* 33;2, 498-502.

- Colley D. G., Lewis F. A., y Goodgame R. W. 1978. IV.-  
Induction of Suppressor cell activity by Schistosome  
Antigen preparations and Concanavalin A. J. Immunol.  
120:4, 1225-1232.
- Cottrell B. J., Sturrock R. F., y Vanhoegaerdm J. M. 1980.  
An Immunosuppressive factor in the serum of baboons  
(Papio anubis) infected with Schistosoma mansoni.  
Immunol. 39; 589-598.
- Cox H. W. y Hayes M. M. 1985. Reversal of Immunosuppression  
induced with plasma of Malarious Rats by supplemented  
Complement. J. Parasitol. 71;1,50-55.
- Cunningham D. S., Kuhn R. E., y Rowland E. C. 1978. Suppression  
of Humoral responses during Trypanosoma cruzi  
Infections in Mice. Infec. Immun. 122, 1; 155-160.
- Chensue S. W. y Boros D. 1979. Modulation of Granulomatous  
Hypersensitivity. I. Characterization of T Lymphocytes.  
Involved in the Adoptive Suppression of Granuloma  
formation in Schistosoma mansoni. Infected Mice.  
J. Immunol. 123;3, 1409-1414.
- Clinton B. A., Stauber L. A., y Palezuk N. C. 1969.  
Leishmania donovani; Antibody Response To Chicken  
Ovalbumin by Infected Golden Hamsters. Exp. Parasitol.  
25, 171-180.

- Dessaint J. P., Camus D., Fischer E., y Capron A. 1977. Inhibition of Lymphocyte proliferation by factor(s) produced by Schistosoma mansoni. Eur. Immunol. 7;
- Good A. H. y Miller K. L. 1976. Depression of the Immune Response to sheep Erythrocytes in Mice Infected With Taenia crassiceps Larvae. Infec. and Immun. 14; 449-456.
- Hernández-Jaúregui, P. A., Márquez Mounter, H., y Sastré Ortíz, S. 1973. Cysticercosis of Central Nervous System in Hogs. American Journal of Veterinary Research. 34,451-453.
- Hudson L., y Hay F. C. 1979. Inmunología Práctica. Editorial Jims. Barcelona.
- Jondal M., Holm G. y Wigsell, H. 1972. Surface Markers on Human T y B Lymphocytes I. A. Large population of Lymphocytes forming non-immune Rosettes with sheep blood cells. J. Exp. Med. 136,205-215.
- Liew F. Y., Christine y Howard J. G. 1982. Immunology Regulation of Experimental cutaneous Leishmaniasis. V. Characterization of effector and Specific Suppressor T cells. J. Immunol. 128,4; 1917-1922.
- Lowry O. H., Rosebrough J. J., Farr A. L. y Randall R. J. 1951. Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent. J. Biol. Chem. 193; 265-275.
- Molinari J. L., Meza R., Suárez B., Palacios S., y Tato P. y Retana A. 1983 (a). Taenia solium; Immunity in Hogs to the Cysticercus. Exp. Parasitol. 55;340-357.

- Molinari J. L., Meza R., y Tato P. 1983 (b). Taenia solium: Cell Reactions to the larva (Cysticercus cellulosae) in Naturally parasitized. Immunized Hogs. Exp. Parasitol. 56.
- Molinari J. L., Tato P. y Valles Y. 1987. Inmunodepresión de Linfocitos T en cerdos, modulada por Cysticercus cellulosae. Rev. Lat-amer. Microbiol. 29:293-300.
- Molinari J. L., Peña T., Tato P. y León-Cázares J.M. 1987. Taenia solium; Mitogenic Effect of RNA oligonucleotides from Cysticercus cellulosae on Human Lymphocytes stimulated with Phytohemagglutinin. Exp. Parasitol. (en prensa).
- Mendes N. F. Toluai M. C. A., Silviera N. P. A. Gilbertson, y Metzgar, R.S. 1973. Determination of Lymphocytes T. J. Immunol. III, 860-864.
- Olds G. R., Ellner J. E., Elkholy, A. y Maltmoud A.A.F. 1981. Monocyte-Mediated Killing of Schistosomula of Schistosoma mansoni; Alterations in Human Schistosomiasis mansoni and Tuberculosis. J. Immunol. 127, 1538.
- Pelley R. P., Ruffier J.J. y Warren K.S. 1976. Suppressive Effect of a Chronic Helminth Infection, Schistosoma mansoni, on the in vivo Responses of spleen and Lymph Node Cells to the T Cell Mitogens Phytohemagglutinin and Concanavalin A. Infec. Immun. 13; 1176-1183.

- Proffitt M. R., Hirsch M.S., Mckenzie I.F.C., Gheridian B., y Black P.H. 1975. Immunological Mechanisms in the Pathogenesis of Virus-Induced murice Leukemia. II. Characterization of autoreactive Thymocytes. International Journal Cancer. 15;230-240.
- Ramalho-Pinto F.J., De Souza J.B., y Playfair J.H.L. 1976. Stimulation and suppression of response of mouse T cells to the Schistosomules of Schistosoma mansoni during Infection. Nature. 259;603-604.
- Rowlan E. C. y Kuhn R. 1978. Suppression of cellular Responses in Mice During Trypanosoma cruzi Infections. Infec. Immun. 20;2, 393-397.
- Slais J. 1967. Die Morphologie und Histologische D'agnostik des Parasiten bei der Gehirncysticerkose. Acta Neuropathologica. 10, 295-307.
- Sealey, M., Ramos C., Willms K. y Ortiz C. 1981. Taenia solium : Mitogenic effect of larval extract on murine B. Lymphocytes. Parasite Immunol. 3,299-307.
- Scott P.A., y Farrell J.P. 1981. I. Nonspecific Immunodepression in BALB/c mice Infected with Leishmania tropica. J. Immunol. 127:6,2395-2400.
- Tato P., Flisser A., Gavilanes M. y Molinari J.L. 1979. Immunogenic Complexes Obtained from Salmonella thyphimurium and Salmonella typhi T y 2 by the Bacterial Acetona Powder Method. Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur) 130 A:47.



- Tato P., Valles Y., Rolón R. y Molinari J.L. 1987. Efecto de la inmunización en cerdos inmunodeprimidos, naturalmente parasitados con Cysticercus cellulosae. Rev. Lat-amer. Microbiol. 29: 67-71.
- Twomey J.J., A. H., Larrow S. y Douglass C.C. 1975. Hodgkins disease. An Immunodepleting and Immunosuppressive disorder. J. Clinical Investigation. 56:467.
- Warren H. S. Y Weidanz W. P. 1976. Malarial Immunodepression in vitro: adherent spleen cells are functionally defective as accessory cells in the response to horse erythrocytes. Eur. J. Immunol. 6:816-819.
- Waldmann, T.A., Broder S. Krakaver R. Mac Dermott, Drum, Goldman C., y Meade B. 1976. The role of suppressor cells in the pathogenesis of common variable Hypogammaglobulinemia and the immunodeficiency associated with Myeloma. Federation Process. 35;2067.
- Weinbaum F.I., Weintraub J. Nkrumah F.K., Evans B., Tigelaar E. y Rosenberg J. 1978. Immunity to Plasmodium berghei yoelli in mice. II. Specific and Nonspecific cellular and Humoral Responses during the course, of Infection. J. Immunol. 121:2.
- Wicher V. y Wicher K. 1977. In vivo cell response of Treponema pallidum Infected rabbits. Clinical and Experimental Immunol. 29,487.
- Willms K. y Merchant M.T. 1980. The Inflammatory reaction surrounding Taenia solium larvae in pig muscle: Ultrastructural and ligh microscopic observations.

Parasite Immunol. 2: 261-275.

- Willms, K. Merchant M.T., Arcos L., Sealey M. y L. Dfaz de León. 1980. Immunopathology of Cysticercosis. In "Molecules, cells, and Parasites in Immunology" (Larralde C., Willms K. Ortiz L. y Sela M, Eds. ) p.p. 145-162. Academic Press, New York.