

1. RESUMEN

La trichinellosis es una zoonosis endémica, cosmopolita, sus huéspedes son, ratas, cerdo y otros mamíferos entre ellos el hombre, la presencia de Trichinellosis se debe a la ingestión de carne de cerdo insuficientemente cocinada, afecta a países con bajos recursos económicos. Se han caracterizado Inmunógenos, siendo el inmunodominante el de 45 kDa, efectivo contra *T. spiralis*, desafortunadamente no ha cristalizado en una vacuna. Se han descrito efectos de desnutrición (DN) sobre órganos linfáticos. Los mecanismos de defensa del huésped son alterados con DN proteico-calórico (DPC). **Objetivo:** Evaluación del efecto protector del inmunógeno de 45 kDa en la infección por *T. spiralis* en ratas Long Evans nutridas (Nut) y DN. **Metodología:** 80 ratas Long Evans de 30 días de edad, divididas en 2 grupos: 40 Nut con 24 % de proteína y 40 DN con 12 % de proteína de los cuales se subdividieron en 8 sub grupos: a) 10 animales control b) 10 animales infectados con *T. spiralis*, c) 10 animales inmunizados con antígeno soluble total (AST), e inmunógeno de 45 kDa de *T. spiralis* (esquema de inmunización una aplicación cada semana por 4 ocasiones), retados a la 1era semana de la culminación de inmunización, sacrificadas a la 6 ta semana post-infección. Parámetros a evaluar: a) peso, talla b) toma de muestra sanguínea, a) pre y pos infección de *T. spiralis*, b) pre y post inmunización (AST e Inmunógeno de 45kDa). Determinación de Digestión Artificial (D/A), compresión de tejidos, albumina/globulina, Western Blot (WB), Inmunofluorescencia indirecta (IFI). **Resultados:** La relación de peso y talla es significativa en los grupos de Nut y DN. Con la D/A el tratamiento con el antígeno de 45 kDa más infección de *T. spiralis*, en el grupo Nut. no se presentó larva infectante (LI), y en los DN si obtuvieron LI. En la técnica de compresión de tejidos, el grupo con AST Nut presentó la LI sin célula nodriza, lo cual fue similar en el tratamiento con DN. En el grupo del inmunógeno de 45 kDa Nut no presentó LI, mientras que en el grupo DN se observó LI. En el WB se observó en el grupo con AST, presentó Ab post- inmunización como al sacrificio. En el grupo inmunizado con 45 kDa 4 animales fueron positivos post-inmunización mientras al sacrificio en todos se detectó Ab anti -*T. spiralis*. De forma

similar se comportó la IFI en el grupo de AST, presentó Ab (fluorescencia en la superficie de la LI y en el interior de ella), post- inmunización como al sacrificio en Nut y DN. En el grupo inmunizado con 45 kDa los grupos Nut y DN en animales post- inmunizados y al sacrificio, detectó Ab anti *-T. spiralis* expresados por la fluorescencia tenue en DN.

Con las técnicas de D/A, compresión de tejidos, WB, IFI con microscopia confocal, los controles Nut y DN sin infección fueron negativos, mientras que los controles infectados fueron positivos. **Conclusión:** la carga parasitaria en animales tratados con inmunógeno de 45 kDa disminuyó significativamente en el grupo Nut. **Discusión:** Los resultados demostraron con la técnica de D/A que el inmunógeno de 45 kDa tanto en animales DN y Nut, disminuyó la carga parasitaria. Con el WB detectó el bandeo del triplete característico de *T. spiralis* en los grupos inmunizados con este tratamiento.

1. ABSTRACT

The Trichinellosis is an endemic zoonosis, cosmopolitan, which it hosts rats, pigs, and other mammals including humans. The presence of Trichinellosis is due to ingestion of insufficiently cooked swine meat. Poor countries with low medical resources are mainly affected by the disease. A number of antigens have been characterized, the 45kDa antigen was found to be the most effective against *T. spiralis*, unfortunately a vaccine has not yet been found. Malnutrition (DN) effects have been described in lymphatic organs. The immune mechanisms of the host have been altered with DN proteic-caloric (DPC). **Objective:** The protective effect of the 45kDa antigen in the Long Evans rats infected with *T. spiralis* feed with (Nut) and DN was evaluated. **Methodology:** Eighty Long Evans rats (30 days old) were divided into two groups a 40 nut with 24% protein and a 40 DN with 12% protein of which eight groups were divided again into the different treatments: a) 10 control rats, b) 10 *T. spiralis* infected rats, c) 10 immunized rats with total soluble antigens (AST), d) 10 immunizations with 45 kDa of *T. spiralis* immunogenic (one application per week in four dosages), challenged after the first week of immunization, sacrificed after the sixth week of post-infection. Evaluation parameters: a) Weight, height b) Blood test, A) pre and post *T. spiralis* infection, B) pre and post immunization (AST and 45kDa antigen). Determination using D/A, tissue compression and tests, Albumin / Globulin, Western Blot (WB), indirect immunofluorescence (IFI). **Results:** The weight and height relationship among the Nut and DN groups is significant. The D/A treatment with the 45 kDa antigen and *T. spiralis* infection in the Nut group did not present infectant larva (LI) while the DN was obtained indeed. The tissue compression tests of the AST Nut group showed LI without nurse cell similar results were obtained with the DN treatment. The 45 kDa antigen group did not present LI while the DN group did. WB was observed in the AST group, presenting Ab post-immunization as well as the sacrifice stage. In the immunized 45 kDa group, four animals tested positive post-immunization while Ab anti- *T. spiralis* was detected at the

sacrifice stage. In a similar manner the IFI in the AST group presented Ab (fluorescence in the LI surface and inside), post-immunization and sacrifice stage in Nut and DN. In the immunized group with 45kDa antigen the groups Nut and DN in animals post-immunization and at the sacrifice stage, expressed Ab anti *T. spiralis* were detected with light fluorescence in DN. The artificial digestion, (D/A), tissue compression tests, WB, IFI with Confocal microscopy techniques showed that the Nut and DN controls without infection were negative, while the infected controls were positive. **Conclusion:** The parasite charge in treated animals with 45 kDa immunogenic decreased significantly in the Nut group. **Discussion:** The results demonstrated with the D/A technique that the 45 kDa antigens present in DN and Nut animals decreases the parasite charge. The WB detected the triplet bands characteristic of the *T. spiralis* immunized groups under this treatment.

2. INTRODUCCIÓN

La Trichinellosis es una zoonosis endémica, que está en resurgimiento, de distribución mundial (Boulos *et al.*, 2001) se ubica desde la región ártica hasta los trópicos (Moreno, 1994; Martínez, 1998; Muñoz *et al.*, 2004). Sus principales huéspedes son los humanos, ratas, cerdo y otros mamíferos, entre los cuales se pueden encontrar el mapache, zorros, jabalí, oso grizzly, oso negro, así también se encuentran en cocodrilos y aves (Moreno, 1994; Philip *et al.*, 1999; Moreno *et al.*, 2001; Muñoz *et al.*, 2004; Chávez *et al.*, 2006). En el humano la presencia de Trichinellosis es debido a la ingestión de carne de cerdo insuficientemente cocinada (Chorizo, chacinados, carnitas, etc), lo cual lleva a riesgos de salud pública, ligada a la presencia de *Trichinella spiralis* (Wranierz *et al.*, 1996; Camino *et al.*, 1998; Aucouturier *et al.*, 2001; MacDonald *et al.*, 2002). Dicho nemátodo es resistente a la congelación y temperaturas altas (Meza *et al.*, 1996; Pozzio y La Rosa, 1996; Martínez, 1998; Chávez *et al.*, 2006). En Italia la mayoría de los casos se debe al consumo de carne de caballo. Se han reportado 902 casos, en cuatro brotes que surgieron los años 1975 y 1990 (Pozio *et al.* 1998).

La *T. spiralis* se encuentra entre los patógenos con mayor complejidad antigénica, esta enfermedad tiene problemas al diagnóstico en los humanos y animales, pero la técnica de WB detecta el patrón característico del triplete que oscila entre 43, 45 y 48 kDa común en la enfermedad. Dependiendo de la carga parasitaria se presenta la respuesta clínica (Moreno *et al.* 1993; Muñoz *et al.*, 2004).

La nutrición es una necesidad que concierne a los seres vivos, los problemas de exceso o deficiencia de nutrimentos han acompañado al hombre en su proceso evolutivo (Montilva *et al.*, 2003), siendo la mala nutrición por deficiencia de micro nutrientes un

problema de salud pública, presente en naciones industrializadas, con frecuencia en países en desarrollo (Chávez, 2005; Guerra, 2005).

Las consecuencias más importantes de una nutrición insuficiente durante las fases iniciales del desarrollo temprano se ubican en las áreas cognoscitivas del comportamiento del niño. La desnutrición grave afecta seriamente al cerebro tanto anatómica como funcionalmente, pero existen dudas en la desnutrición moderada. Se ha asociado estadísticamente entre la alimentación deficiente y el bajo rendimiento mental en niños, no sólo en épocas tempranas sino también en edad escolar. Se sugiere que la deficiencia energética limita la actividad física, la interacción del niño con su madre y con el ambiente, agravándose cuando se combina con infecciones repetidas (Chávez *et al.*, 1998; López y Carmona, 2005).

Uno de los grandes objetivos de los grupos de investigación es el de conocer el estado nutricional de los diferentes segmentos de la población sana. La evaluación del estado nutricional de cualquier colectivo se puede llevar a cabo mediante diferentes métodos, que ofrecen información, como la estimación de la ingesta de alimentos, energía, nutrientes, estudio de hábitos alimentarios, la realización de medidas de la valoración de la actividad física, el análisis de parámetros clínicos como hematológicos, bioquímicos, inmunológicos y genéticos (Pérez *et al.*, 2004). La triquinelosis implica entonces un fuerte problema de salud pública, por lo que nuevos aportes acerca de diagnóstico, tratamiento o mecanismos de patogenicidad representan un avance que permiten diseñar nuevas estrategias para el control de esta enfermedad.

JUSTIFICACIÓN

La Trichinellosis es una zoonosis cosmopolita, en los últimos 10 años esta enfermedad ha ido en aumento. La situación en algunos países latinoamericanos, tiene importancia clínica y epidemiológica. Asimismo en las Islas Bahamas y el cono sur (Argentina, Chile, Uruguay). En México la Trichinellosis es endémica (Moreno *et al.*, 1993; Moreno, 1994; Martínez, 1998; Chávez *et al.*, 2006).

En Zacatecas es una enfermedad endémica, debido a que se han presentado brotes desde 1976 en Laguna del Carretero Villanueva, destacado por el alto porcentaje de letalidad del 31%. Factores como el estado nutricional, hormonal, sexo, la edad de las personas, pueden modificar la respuesta inmunológica. (Chávez *et al.*, 2006).

Existen estudios epidemiológicos de los años 2000-2005 donde se detectó la presencia de *T. spiralis* en perro, rata y cerdo, los cuales son los huéspedes que permiten su permanencia como una zoonosis en el estado (Berumen *et al.*, 2002; Muñoz *et al.*, 2004; Chávez *et al.*, 2006). Como consecuencia, se infecta el humano en el cual no se realiza un diagnóstico oportuno hasta la actualidad no existe un tratamiento definitivo.

En los cerdos desafortunadamente la desnutrición (DN) se debe a la dieta, que es a base de restos de comida casera, aunado a la higiene inadecuada que se les proporciona. Estudios de La SAGARPA del 2004 en el estado de Zacatecas, demostró que se tuvo una producción total de 23,621 cerdos, de los cuales la producción en granjas semi tecnificadas fue de 12,143 cerdos y 11,478 cerdos de traspatio.

En la actualidad se han evaluado algunos inmunógenos de *T. spiralis*, pero ninguno ha sido caracterizado como vacuna, por otro lado los huéspedes donde se propone utilizar la vacuna es en cerdos, que generalmente son de traspatio, teniendo la característica de DN y su gonadectomización en machos, lo que le permite mayor susceptibilidad a infecciones por parásitos.

García 2005, señala la necesidad de emprender esfuerzos continuos para erradicar el hambre en todos los países en vías de desarrollo, afín de reducir para el año 2015 el número de casos de desnutrición. La FAO estimó 852 millones de personas en el mundo con subnutrición entre los años 2000-2002. La malnutrición representa la manifestación biológica de una ingesta alimentaria inadecuada provocando enfermedad que deterioran la calidad de vida de las personas (García, 2005).

3. HIPÓTESIS

El inmunógeno de 45kDa, tiene un efecto protector contra *T. spiralis* en ratas Long Evans nutridas y aún en las ratas desnutridas también existirá la protección.

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto protector del inmunógeno de 45 kDa en la infección por *T. spiralis* en ratas Long Evans nutridas y desnutridas.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Estandarizar los grupos de animales nutridos y desnutridos.
- b) Establecer la infección en animales nutridos y desnutridos.
- c) Evaluar el efecto protector del AST en ratas Long Evans nutridas y desnutridas.
- d) Evaluar el efecto protector del inmunógeno de 45 kDa en ratas Long Evans nutridas y desnutridas.

- e) Comparar las respuestas inmunológicas inducidas por AST y el inmunógeno de 45 kDa en ratas Long Evans, nutridas y desnutridas e infectadas.

5. ANTECEDENTES

5.1 BIOLOGÍA DE *Trichinella spiralis*

5.1.1 Clasificación Taxonómica de *Trichinella spiralis* (Moreno, 1994; García, 2000, Pozio *et al.*, 1992)

Phylum	Nematoda
Clase	Asphasmidia
Súper familia	Trichinellidae
Género	Trichinella
Especie	spiralis

5.1.2 Morfología

T. spiralis es un pequeño nemátodo blanquecino cilíndrico, con la extremidad anterior más delgada que la posterior. La hembra mide 3.5 mm de largo por 0.06 mm de ancho, el macho mide 1.5 mm de largo por 0.05 mm de ancho (Despommier, 1974, Lloyd, 2000).

El parásito adulto en su extremo anterior posee una boca pequeña orbicular sin papilas, el tubo digestivo es largo y angosto, el esófago consta de una parte anterior corta muscular, otra posterior larga, que contiene una línea de células de esticocitos llamada esticosoma. La hembra tiene un ovario, su vulva está situada cerca del punto medio del esticosoma, su extremo posterior es redondeado, mientras que en el macho se presenta una curvatura ventral con dos apéndices caudales lobulares, dos papilas entre ellos,

carece de espícula y de vaina especular, está compuesto de un solo testículo en el cual se realiza el proceso de espermatogénesis para la producción de espermatozoides, (Takahashi *et al.*, 1994; Lloyd, 2000).

Las larvas recién nacidas (LRN) poseen un extremo cónico anterior con una punta lanceolada penetrante, las cuales miden de 80 a 120 por 5.6 μm . El tamaño máximo en la fibra muscular de la larva infectada (LI) es de 900 a 1300 por 35 a 40 μm (Lloyd, 2000).

5. 1.3 Ciclo de vida de *Trichinella spiralis*

Los adultos de *T. spiralis* se desarrollan en el intestino del huésped, posterior a la liberación de la larva muscular enquistada. El crecimiento, desarrollo y maduración del organismo adulto se realiza en las células epiteliales del intestino (Yépez y Ortega, 1994). Este ciclo de vida se divide en tres fases: intestinal, sistémica y muscular.

El huésped adquiere la infección a través de la ingestión de carne infectada cruda o insuficientemente cocida. La carne es digerida en el estómago mediante los jugos gástricos, liberando las larvas infectantes (LI) de *T. spiralis*. Las LI sufren cuatro mudas en el intestino del huésped en un período de 30 h, en las cuales se realiza la diferenciación sexual, la copulación se realiza en la mucosa del duodeno y yeyuno. Después de la cópula los machos mueren, siendo eliminados por deposiciones del huésped. Las hembras grávidas vivípara posparto, penetran profundamente en la mucosa del duodeno y yeyuno donde liberan a las LRN, las cuales profundizan a la mucosa intestinal, penetrando a través de los capilares linfáticos y venosos para llegar a circulación sistémica, aquí son diseminados por todo el organismo esto ocurre el día 14, desencadenando una respuesta local y sistémica contra la *T. spiralis*, véase figura 1 (Moreno, 1994; Li *et al.*, 1998; Chávez *et al* 2006).

La fase muscular se alcanza a los 20 días post- infección. Cuando las LRN penetran a la célula muscular provocando modificaciones del contenido celular, secretan sustancias que le permiten una simbiosis entre el parásito y el huésped, al cabo de unos quince días, quedan rodeadas por una envoltura constituida por el sarcolema, formando así a la célula nodriza aproximadamente a los 30 días (Despommier, 1993; Moreno, 1994; Lloyd, 2000; Muñoz *et al.*, 2007), la cual mide de 250 a 400 μm ., no visible a simple vista, aunque puede observarse con una lupa o con un microscopio de poco aumento. Su aspecto es fusiforme o alargado, contiene en su interior una o varias larvas de *T. spiralis* en forma de espiral. En esta fase pueden ser ingeridas por un nuevo huésped e infectarlo (Moreno, 1994; Li *et al.*, 1998; Chávez *et al* 2006).

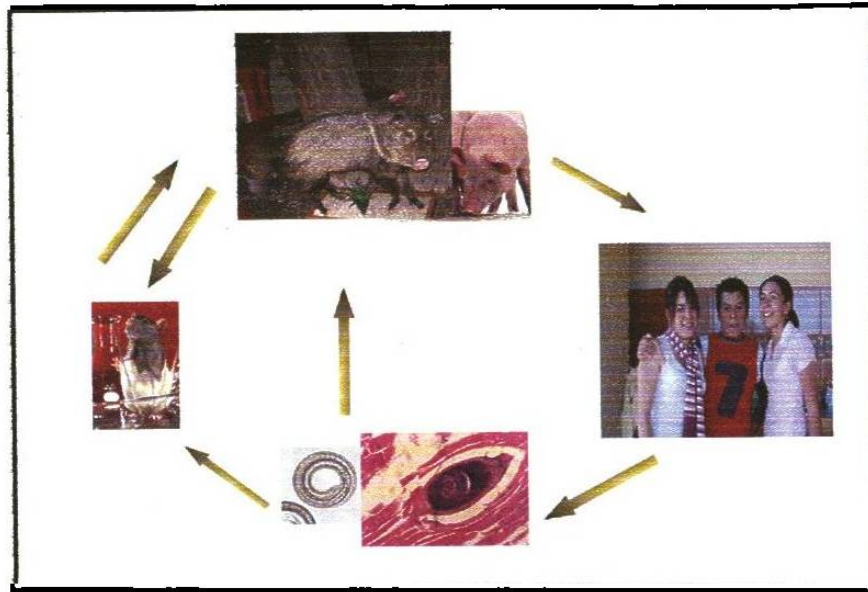


Figura 1 Ciclo de vida de *Trichinella spiralis* Autor: C.H.M.T

La LI está presente en especies silvestres y domésticas, entre ésta se encuentra el perro, gato y el cerdo siendo este, el responsable directo de la transmisión al humano de la *T. spiralis*. Dentro de las especies silvestres se encuentran el: oso, zorro, cocodrilo, morsa y la rata siendo su principal vector de la transmisión de la enfermedad a los cerdos. El animal con *Trichinella spiralis* puede actuar como huésped intermediano o definitivo.

5. 2 MANIFESTACIONES CLÍNICAS DE TRICHINELLOSIS

Las manifestaciones clínicas de la Trichinellosis en el hombre son sumamente variables, dependiendo de la carga parasitaria, sensibilidad del individuo, estado inmunitario, nutricional y hormonal. Contreras *et al.*, 2001, indicaron que la respuesta de los anticuerpos específicos en un individuo infectado, esta en relación, con el número de larvas ingeridas y el tiempo transcurridos de la ingestión de la Ll. La sensibilidad dependerá de la técnica y antígeno utilizados en el diagnóstico. Por otra parte el diagnóstico se fundamenta en el cuadro clínico y datos de laboratorio.

5.2.1 Cuadro clínico

Los signos y síntomas del paciente

- a) En la fase entérica (intestinal) presenta: dolor abdominal, enteritis, náuseas y vómito, éstos pueden ser leves o intensos dependiendo de la carga parasitaria, con duración de 3 - 8 días pos-infección, no se realiza el diagnóstico excepto cuando hay un brote (Yépez y Ortega, 1994; Capo y Despommier, 1996).
- b) En la fase sistémica (migratoria o parenteral) aquí las LRN, que emigran pueden causar encefalitis, neumonía, peritonitis, cardiopatías, miocarditis con una duración de 15 días pos-infección. (Taratuto *et al.*, 1996).
- c) En fase muscular presenta mialgias, inflamación, peri orbital, infraorbitario, atralgias cefalea y fiebre (Despommier *et al.*, 1994; Yépez y Ortega, 1994; Capo y Despommier, 1996).

5.2.2 Diagnóstico de laboratorio

Hemograma: en él se observa una leucocitosis de magnitud variable, con acentuada eosinofilia que puede ir del 40 - 70 %. La presencia de un cuadro clínico severo y una eosinofilia (Martínez, 1998).

5.2.3 Técnicas directas

Biopsia muscular: En teoría debería ser la más importante de los exámenes de laboratorio, puesto que demuestra el agente etiológico, sin embargo depende de la carga parasitaria, teniendo el inconveniente la toma de la biopsia muscular del paciente, se considera una herramienta agresiva para él (Martínez., 1998).

Digestión artificial (D/A): depende de la carga parasitaria; siendo más sensible que la biopsia muscular, teniendo el inconveniente de procesar mayor cantidad de músculo (Gamble, 1996).

PCR: es sensible y específico, tiene la ventaja de que con 1g de tejido / 1 μ L de sangre se detecta la parasitosis (Gamble *et al.*, 1988).

5.2.4 Técnicas indirectas Tienen mayor sensibilidad y especificidad que las técnicas directas; con excepción del PCR (Núñez *et al.*, 2000).

Reacciones de precipitinas, de floculación a la bentonita, inmunofluorescencia Indireca (IFI) y ELISA (ensayos inmunoenzimáticos); tienen una sensibilidad que oscila entre un 81 - 100%. Estas técnicas detectan a los antígenos del parásito entre la

segunda y cuarta semana post-infección, mientras que la sensibilidad y especificidad, varía de acuerdo con la calidad de los antígenos utilizados (Contreras *et al.*, 2001).

Western Blot (WB), emplea como antígeno los productos de excreción-secreción de las larvas musculares de *T. spiralis*. El WB es una herramienta de diagnóstico con un 98 – 100% de sensibilidad, por esta razón permite discriminar los positivos y resolver muestras con resultados indeterminados (Núñez *et al.*, 2000; Chávez *et al.*, 2006).

El diagnóstico de Trichinellosis está constituido por antecedentes epidemiológicos clínicos, aunados a la utilización de técnicas directas, las que permiten detectar a la *T. spiralis* y las técnicas indirectas que detectan la presencia de anticuerpos contra el parásito (Contreras *et al.*, 2001; Muñoz *et al.*, 2007).

5. 3 INMUNOLOGÍA DE *Trichinella spiralis*

La infección por *T. spiralis* desencadena una serie de mecanismos de defensa inmunitaria característicos, mediados por células y por Ab, la eficacia de cada uno de estos medios depende de el estadio en que se encuentre el parásito. El gusano *T. spiralis* adulta vive en el intestino del huésped, las LRN emigran a través de los capilares a circulación, por diferentes órganos llegando a músculo donde maduran definitivamente a la LI, quedando alojado en músculo indefinidamente. La *T. spiralis* posee variedad de antígenos de superficie en las distintas fases de su ciclo vital. Para poder establecerse antes que se produzcan las reacciones inmunitarias específicas del huésped, los parásitos deben superar los mecanismos de defensa preexistentes.

Los parásitos adultos entran y se instalan en la luz del intestino, siendo expulsados por dos fases, mediante mecanismos independientes y dependientes de células T. Las células T principales son las TH2 que responden a los antígenos del parásito e induce la síntesis de Ab, la IgA la cual es la encargada de estimular la producción, proliferación de células B, células plasmáticas y linfocinas, como respuesta a los mastocitos de la

mucosa, provocan hiperplasia de las células calciformes del epitelio intestinal, secretan moco. Los parásitos son dañados por Ab y productos de los mastocitos sensibilizados por las IgE, eosinófilos, basófilos, los cuales se degranulan, posteriormente al estar en contacto con el Ag liberan histamina la cual es un mediador que aumenta la permeabilidad del epitelio intestinal, evitando la movilidad del parásito. La infección por *T. spiralis* en tejido desencadena la producción de Igs de tipo IgG e IgE así como la reacción de hipersensibilidad inmediata dependiente de eosinófilos y macrófagos.

Los macrófagos secretan moléculas que favorecen la inflamación inespecíficas IL-1, las cuales colaboran en la inducción de la proliferación de las células calciformes e incrementa la producción de moco, el cual recubre los parásitos provocando su expulsión.

El número de células calciformes en epitelio del yeyuno y la secreción de moco aumenta de forma proporcional la cantidad total de parásitos. Las células T efectoras específicas de Ag generadas en la primera fase de infección, limitan la velocidad de reacción es el inicio de la producción de Ab, posteriormente viene la expulsión del parásito.

Cuando la LRN pasa a circulación llega por vía porta a los ganglios linfáticos en donde las células cebadas constituyen otro mecanismo inespecífico de eliminación, aumentando considerablemente ante la invasión del parásito (presente en ganglios periféricos principalmente) las LRN y maduran a LI posteriormente pasan a músculo la LI (Roitt *et al.*, 2000).

La inmunología de la *T. spiralis* se basa en las inmunomodulación de la relación que sucede entre el huésped – parásito la cual se divide en:

- a) Mecanismos efectores de superficie
- b) Mecanismos de escape del parásito
- c) Mecanismos del huésped

Debe de existir un equilibrio entre el huésped, el parásito y la inmunomodulación (Venturiello *et al.*, 1994).

El mecanismo de eliminación de los parásitos se lleva a cabo en dos etapas; por medio del daño metabólico inducido por anticuerpos, que inhiben la nutrición del parásito, seguido viene la expulsión del helminto de su nicho intestinal, debido a la acción de la respuesta inmune, donde participan los linfocitos activados e IgE (Ahmad *et al.*, 1991).

Cuando están presentes los anticuerpos, las células efectoras pueden eliminar al parásito ya que los eosinófilos se producen en grandes cantidades, adhiriéndose al antígeno de superficie de la LRN, esto ocurre en un periodo de 10 minutos, en donde se secreta la proteína mayor de los eosinófilos destruyendo la superficie del parásito (Despommier *et al.*, 1990), la LRN trata de escapar, pero inicia la llegada de células fagocíticas, (macrófagos, neutrófilos y eosinófilos) las cuales se adhieren a LRN rodeándola y formando vacuolas, liberando a los mediadores de superficie anti-LRN provocando su eliminación mediante la perforación de su cutícula (Venturello *et al.*, 1994; Venturello *et al.*, 2000).

5. 4 RESPUESTA LOCAL

En la mayoría de los casos la respuesta inmune de los huéspedes infectados es similar a pesar de la complejidad extensa de cada organismo (MacDonald *et al.*, 2002).

Las Inmunoglobulinas del tipo IgA e IgE son importantes en la respuesta local, mientras que las IgE contribuyen a la inmovilización y muerte del parásito, mediante un mecanismo de citotoxicidad. La IgA secretora, se encuentra presente en los líquidos intestinales involucrada en la respuesta inmune local del intestino (Moreno *et al.*, 1993; Moreno *et al.*, 1996).

El mecanismo de respuesta inmune local a la infección por *T. spiralis* es el intestino ya que actúa como barrera primaria, las células epiteliales es el primer sitio de entrada para el invasor patógeno, encargado de la expulsión del parásito, existiendo una interacción compleja entre la no especificidad y el mecanismo específico inmunológico, los mediadores inflamatorios que desencadenan las citocinas y eventos adaptables. Aparentemente son controlados por los genes de respuesta inmune del huésped (Ir en el ratón y moléculas de clase II en humano), las células interactúan con la superficie de la larva, posteriormente dañan al parásito, esto es mediado por un mecanismo de citotoxicidad de basófilos y eosinófilos mediada por células dependientes de anticuerpos (DACC) o por células asesinas (NK), cuyo fin es la inactivación o eliminación del parásito (Moreno, 1994; Li *et al.*, 1998).

La tyvelosa es responsable de la protección intestinal contra *T. spiralis*, ya que es inmunodominante, los antígenos de glicoproteínas juegan un papel importante en la generación de respuesta inmune en infecciones intestinales en ratones (Goyal y Wakelin, 2002).

En los tejidos la infección por *T. spiralis* desencadena una producción de inmunoglobulinas o anticuerpos de tipo IgG e IgE, así como una reacción de hipersensibilidad inmediata, dependiente de eosinófilos y macrófagos por medio de la vía de unión específica a la fracción constante (Fc), (Del Río *et al.*, 1986; Moreno, 1994). Así mismo, las células cebadas constituyen otro mecanismo inespecífico, que se aumentan considerablemente ante la invasión del parásito, están presentes en ganglios linfáticos periféricos estimulados por las células inductoras, así como las interleucinas IL3 e IL-10 (Moreno, 1994) ambos mecanismos confieren en ocasiones una protección específica (Del Río *et al.*, 1986).

La inmunología está influenciada por la interacción de huésped-parásito. Los dominios de los antígenos y anticuerpos son modificados por la variabilidad genética que se encuentra en poblaciones del huésped-parásitos. En la mayoría de las

investigaciones se da particularmente énfasis al estudio de los antígenos de *T. spiralis* de su aparato inmuno secretor. Los cambios antigénicos que se presentan son para que el nemátodo pueda desarrollarse y/o adaptarse en el huésped. Se han reportado estudios de cutícula y elementos del tubo digestivo, específicamente en esticocitos y elementos del espacio pseudocelómico, que varían de acuerdo a la etapa de su ciclo vital de *T. spiralis*, los cuales son capaz de desencadenar una respuesta inmune, (Beaver, 1957; Denkers *et al.*, 1990).

En animales que son infectados previamente con poca cantidad de *T. spiralis* es parcialmente resistente a una infección subsiguiente debido a una inmunidad fuerte y persistente (Despommier y Laccetti 1981, 1983; Wakelin, 1998; Silberstein, 1984; Takahasi *et al.*, 1989,).

5.4.1 Respuesta sistémica

Bachman inició el estudio en 1928 de la respuesta inmune del huésped contra *T. spiralis*, el cual lo pudo demostrar en conejos y cobayos los cuales estaban infectados con *T. spiralis*, posteriormente al ser desafiados intradérmicamente con partículas antigénicas del parásito presentaban respuesta inmune de tipo celular. En los conejos se desencadenaba la reacción de hipersensibilidad inmediata en tejido subcutáneo, esto debido a la presencia de la *T. spiralis* y a la producción de anticuerpos de tipo humoral; ambos mecanismos confieren protección específica. (Bach, 1989; Stites *et al.*, 1990).

La inmunidad celular es mediada por los linfocitos que tienen actividad facilitadora o de ayuda, éstos liberan interleucinas (IL2, IL3, IL4 y IL5) e interferón siendo importantes en la defensa del huésped en contra del parásito (Moreno, 1994; Li *et al.*, 1998).

En estudios *in vitro* en las líneas celulares del epitelio humano, se ha demostrado una amplia gamas de producción de citocinas (IL-1, IL-6, IL-8, GM-CSF, GRO-MCP -1 y

TNF) y de mediadores pro inflamatorios en respuestas a la invasión de los patógenos. Sin embargo los modelos de la respuesta de las citocinas en epitelios varían, dependiendo del sitio de infección y tipo de patógeno (Li *et al.*, 1998).

En la respuesta inmune celular del huésped en músculo, los helmintos tienen la habilidad de producir una respuesta de tipo Th-2 (MacDonald *et al.*, 2002).

El huésped presenta una respuesta inmune que depende de condiciones fisiológicas (sexo, edad, estado nutricional, hormonal e inmunodeficiencias), contra la cutícula, elementos del tubo digestivo, (estricocitos, elementos del espacio pseudocelómico), variando de acuerdo a la etapa, del ciclo vital en la que se encuentre la *T. spiralis*, (Moreno, 1994). Se ha detectado durante los primeros 20 días de la enfermedad, Ab de clase IgM, IgG, IgA, inmunoglobulinas que difieren una de la otra por su tamaño, carga, composición de aminoácidos, contenido de carbohidratos además de tener funciones biológicas diferentes (Yépez y Ortega, 1994).

5. 4.2 Caracterización de antígenos

En los últimos años se han dedicado algunos grupos de investigadores (Despommier, Lacceti, Bolaz Fernández, Wakelin y Apleton) a la caracterización de los antígenos (moléculas que inducen la formación de anticuerpos) de la LI del parásito, esto se debe principalmente, a que en este estadio participa activamente en la inducción de la inmunidad protectora. Estos componentes pertenecen a dos compartimentos que son el órgano secretor y órgano excretor de la superficie del parásito.

Existen dos tipos de Ag asociados a *T. spiralis*, a) productos solubles de secreción, excreción (S/E) y b) productos de superficie externa o dentro del parásito Ag somático, ambos Ag somáticos al ser expuestos, inducen una respuesta inmune en el huésped infectado, denominándose Ag Naturales (Munn, 1997; Newton y Munn, 1999).

Despommier *et al.* 1990, fue uno de los primeros que caracterizó los antígenos de *T. spiralis* en murinos con pesos moleculares que oscilan desde 32 a 109 kDa los cuales son productos de secreción y excreción del esticosoma. Los principales son 37, 43, 48,

50/55 y de 45 kDa. También aquí se encuentran los antígenos de secreción excreción de la larva muscular y de tyvelosa (Mc Vay *et al.*, 1998).

Despommier D and Lacceti en 1981 Demostraron que los esticocitos son de cinco grupos, un grupo contiene gránulos α_0 , α_1 , α_2 , β y δ , estos se pueden purificar parcialmente mediante homogenizados. Cada gránulo contiene cuatro diferentes antígenos definidos por técnicas de inmunodifusión doble (Despommier *et al.*, 1991). Estos esticocitos son secretados 30 h posteriores a la llegada de la LRN en músculo, recuperándose en forma adulta (Despommier, 1974). Los gránulos de los esticocitos de LI y de larvas adultas, son diferentes en estructura y antigénicidad, los gránulos de los adultos juegan un papel importante en el establecimiento del parásito (Takahashi *et al.*, 1992).

Se han caracterizado diferentes tipos de antígenos según su estadio del parásito, dicha caracterización es de acuerdo con la reacción de antígeno anticuerpos presentes en los diferentes modelos experimentales como en el murino, conejo, hámster y cobayo, teniendo pesos moleculares de 23, 32, 37, 43, 45, 48, 50, 55, 67, y 90kDa (Despommier *et al.*, 1990; Wakelin, 1996; Muñoz *et al.*, 2007).

Del Río *et al.* 1986, purificaron 6 antígenos los cuales tienen pesos moleculares de 68, 59, 48, 45, 33 y 28 kDa, los que provienen del extracto soluble total.

En el modelo experimental murino, se ha realizado estudios de la respuesta específica, de los antígenos de pesos molecular es de 43, 45, y 48 kDa en tejido muscular, el cual provoca aumento en la vascularización, acúmulo de grasas y de polimorfocitos, los cuales producen alteración en la célula nodriza. En animales a los que se les inoculó los antígenos de 43, 45 y 48 kDa, se disminuyó su masa muscular, se modificó la respuesta inmune, debido al triplete característico inoculado, por lo que en animales infectados con *T. spiralis* se presentó aumento en la respuesta inmune a *T. spiralis* y modificó la célula nodriza (Gold y Despommier, 1997; Moreno *et al.*, 1996b).

Los antígenos de *T. spiralis* son reconocidos por anticuerpos de tipo IgG del huésped, estos reaccionan con el esticosoma, los anticuerpos de IgM reaccionan con la cutícula del parásito mientras que los anticuerpos de IgA reaccionan con antígenos de la superficie corporal de la larva, con pesos moleculares que oscilan entre 96, 67, 63, 55, 47 y 43 kDa (Moreno *et al.*, 1996).

Los antígenos solubles de *T. spiralis* inducen tolerancia frente a los anticuerpos, esto es debido a que cuando son fagocitados por células presentadoras, éstas no se activan y no expresan moléculas coestimuladoras como B7. Cuando este ciclo antigénico protector (APC) presentan el antígeno a los linfocitos T, éstos no reciben la segunda señal lo que induce el estado de anergia clonal (Lláñez, 2000).

T. spiralis posee características inmunológicas particulares. Por lo que se le ha dedicado especial atención a la caracterización de antígenos de la LI, la cual participa activamente en la inducción de inmunidad protectora. Estos componentes pertenecen a dos compartimentos del parásito, el esticosoma (órgano secretor) y a la superficie (cutícula) de éste (Takahashi *et al.*, 1990b; García *et al.*, 2000).

En la estructura del esticosoma de LI se han caracterizado y determinado que contiene una hilera de 45 a 55 células llamadas esticocitos, (que secretan moléculas de pesos moleculares que oscila entre 37, 48, 50 y 55 kDa), los cuales contienen cinco tipos de gránulos secretores α_1 , α_2 , β , y δ (Despommier y Muller, 1970); estos a su vez contienen moléculas que son reconocidas en los sueros de individuos infectados con el parásito, debido a que comparten epitopes con productos de excreción y secreción de LI (Takahashi *et al.*, 1990a). En otros estudios por microscopía electrónica se demostró en sueros infectados con *T. spiralis*, la presencia del patrón del esticosoma dirigidos al antígeno secretor de esticocitos α en células anteriores y en β en células posteriores (Takahashi *et al.*, 1992).

En la superficie del esticosoma de LI, se han determinado la presencia de glicoproteínas con pesos moleculares de 47 y 55 kDa ambas forman homo dímeros, para

la posterior formación de moléculas de 90 y 105kDa, respectivamente (Yépez y Ortega, 1994; Mc Vay *et al.*, 1998; Despommier and Muller, 1970).

Writing y Hong en 1988 reportaron que los antígenos con pesos moleculares mayores a 60-120 kDa son secretados en esticocitos α . Mientras que Cox en 1992 demostró que estos mismos antígenos corresponden a la cutícula de la LI.

La expresión de la glicoproteína de 43kDa de *T. spiralis* está presente en el músculo esquelético del huésped, esta proteína es sintetizadas en el esticocito de las células secretoras de *T. spiralis*. (Ko *et al.*, 1992 ; Jasmer *et al.*, 1993 ; Todorova *et al.*, 1995 ; Vassilatis *et al.*, 1992).

En los productos de excreción/secreción (ES) de la LI de *T. spiralis*, se ha demostrado la presencia de una gama amplia de moléculas, de glicoproteínas inmunodominante, (cinasas, serina, treonina) en las que se ha sugerido juegan un papel directo al inicio del proceso infeccioso, y en la modulación de la expresión geonómica de las células del huésped.

Las endonucleasas juegan un papel importante como modulador en la expresión del genoma de las células huésped (Chi-ho y Ko., 1999).

El antígeno de superficie se localiza en la cutícula de la LI y en cavidad celómica (en forma de puntillito lineal), (Reveles *et al.*, 2000a).

5. 5 INMUNÓGENOS DE *T. spiralis*

Los helmintos tienen problemas de diferenciación cuando son caracterizados biológicamente, químicamente y genéticamente, ya que estos parásitos tienen cierta variación la que depende, de su área geográfica en la que se encuentren, estas variaciones, se ha estudiado en *Trichinella spiralis* una explicación para la diferenciación en su caracterización, es que los aislados varían en la posición del

antígenos críticos y en el desarrollo de la respuesta inflamatoria e inmunológica. La inmunidad de los antígenos se comprobó con la relación de Ab, de la respuesta de los linfocitos y la habilidad para estimular inmunidad protectora contra las infecciones (Bolas y Wakelin, 1992).

En la actualidad existen investigadores dedicados a observar los efectos de inmunidad que produce la *T. spiralis* en varios huéspedes, pero fue hasta la observación en experimentos utilizando huéspedes infectados *in vivo* los que provocaban la respuesta inmune, por la aplicación de productos de secreción/excreción de *T. spiralis* (Cambell, 1995; Chipman, 1957).

Se examinaron sueros de pacientes con Trichinellosis, los cuales presentan respuesta con diferentes isotipos de Ab de LI y los productos de excreción/secreción (ES) de *Trichinella spiralis*. El estudio se realizó por medio de la utilización de la técnica de WB, la que identificó componentes del Ag de ES, y reconocieron los Ab de IgM y de IgG. De igual forma se reconoció un componente de 45 kDa. Se observó la respuesta de IgG4 específica para el péptido de 45 kDa en suero de pacientes exclusivamente con Trichinellosis y no para pacientes con otras parasitosis como (echinococcosis, filariasis, cysticercosis, ascariasis, strongyloidiasis o toxocariasis). Por lo que estos resultados son importantes para el diagnóstico de Trichinellosis humana (Pinelli *et al.*, 2001).

En suero de pacientes con Trichinellosis crónica, están presentes los antígenos de superficie de LRN (Ab anti-NBL), los cuales reconocen antígenos determinantes de los productos de secreción/excreción de LI (ML-ESP), estos productos aparecen durante ambas fases de la infección en la fase aguda y crónica, al evaluar estos sueros de pacientes con Trichinellosis aguda y crónica, presentaron una correlación de la presencia de Ab anti-NBL, por medio de análisis sobre la reacción cruzada de las glicoproteínas, con los epítopes (responsables de la reactividad cruzada) los productos de secreción/excreción (ML-ESP), identificó la presencia de Ab dominantes Anti-NBL,

mediante la técnica de (IFI), resultó que los suero de pacientes con Trichinellosis aguda presentaron un 64%, de Ab anti-NBL (Malmassari *et al.*, 2003).

En ratones infectados con *T. spiralis*, la respuesta inmune, mantuvo bajos los niveles de Ab durante los primeros 10-12 días post-infección, progresivamente se van incrementando hasta llegar al día 20, siendo limitado el papel que juegan los Ab en la respuesta inmune primaria (Wakelin, 1998).

En estudios dedicados a la purificación de Ag de secreción–excreción y de superficie de los diferentes estadios del ciclo de vida del parásito, los Ag más empleados son los del estadio de LI, debido a su fácil obtención del músculo estriado infectado con *T. spiralis*, siendo el estadio mas inmunogénico. Los antígenos de secreción excreción con pesos moleculares de 48 y 50/55 kDa purificados recuperados de LI son predominantes en estudios de protección, su acción es sobre parásitos adultos y la disminución de la fecundidad de las hembras (Muñoz *et al.*, 1998; Muñoz *et al.*, 2004).

T. spiralis tiene diferentes estadios, en la primera semana post-infección estimulan la respuesta de Ab contra las proteínas de las larvas. Al final de la infección la LI, estimula una segunda respuesta en músculo, por lo que se le ha denominado como bifásica, aquí el anticuerpo producido es en contra de la glicoproteína de tyvelosa, este Ab protege a las ratas infectadas con 500 LI vía oral. Mientras que la producción de anticuerpos específicos para las proteínas de fosforilcolina se da a los 9 días post-infección, presentándose inmunoglobulinas dominantes IgGc en la respuesta temprana de anticuerpos, los cuales son asociados a la respuesta de células T independientes. Se han hecho estudios utilizando anticuerpos monoclonales específicos de IgGc para la fosforilcolina la cual no protege a las ratas contra la infección intestinal de *T. spiralis*, sin embargo la respuesta inmune inducida juega un papel de inmunomodulador para el linfocito involucrado (Philip *et al.*, 1999).

En un estudio sobre la comparación de tres tipos de antígenos aislados de *Trichinella spiralis*, a los que se les valoró la habilidad para inmunizar ratones contra infecciones de

T. spiralis y otras parasitosis diferentes a *T. spiralis*. La inmunización fue moderada, la cual indujo la rápida expulsión y eliminación de los parásitos adultos, provocando disminución en la fecundidad de la hembra la respuesta inmunológica se presenta antes y después del desafío. Los antígenos utilizados son: de Londres (L) y de Polonia (P), los cuales inmunizaron eficazmente contra la *T. spiralis*, y otras parasitosis, resultando disminución en la recuperación de gusanos adultos en un 64% y 51% respectivamente los primeros 6 días. Mientras que el tercer antígeno (Español S), no produjo protección para otras parasitosis, ni en la recuperación del gusano adulto el día 6, ya que presentó un 43% de efectividad y disminuyó el día 8 (Goyal y Wakelin, 1993).

En los Ab se observa una actividad protectora de 3 clases de IgG (IgG2, IgG3 y IgG4) en las ratas. Están presentes fragmentos (Fab)₂ hay producción de Ab, la actividad protectora de clase IgG del isotipo de Ab juega un papel en la protección, mientras que el isotipo no determina la respuesta inmune solo la reacción de antígeno-anticuerpo (Mc Vay *et al.*, 2000).

Se realizó un estudio en músculo de ratas, con 12 semanas de infección con 500 LI de *T. spiralis* vía oral, para ver el efecto protector del AST. Posterior a la infección, se observó las LI encapsuladas, tomando muestras de suero a las ratas, antes de la inmunización del AST utilizando un esquema de aplicación 100 – 300 mg durante 5 días, al quinto día se reforzó la inmunización con 500mg de AST, posteriormente a los 15 y 30 días se tomó muestra sanguínea. Los resultados que se obtuvieron fue aumento de peso (10 g). Con la técnica de micro inmunodifusión doble (MIDD) al inicio del estudio presentó 2 ó 3 bandas, ya al final presentó la banda de identidad. Mientras que con la técnica de WB en la primera prueba se detectó 5 péptidos con pesos moleculares que oscila entre 33, 43, 45,48 y 67 kDa, y posteriormente a la inoculación del AST se observó en tejido musculares con el microscopio de luz la LI calcificadas (Reveles *et al.*, 2000b).

En un estudio de 60 ratones Balb/c de 3 meses de edad, se les inmunizó las bandas de precipitación obtenidas de los complejos inmunes formados por interacción Ag-Ab de

Trichinella las cuales fueron eluidas, utilizando el esquema de vacunación de 10 µg de proteína cada 7 días por 4 ocasiones vía subcutánea, a la cuarta aplicación se retaron con 100 LI de *T. spiralis* vía oral, sacrificándolas a la 4ta semana post infección, obteniendo suero pre-inmunización, a la 4ta semana post-inoculación, para determinar la presencia de Ab utilizando la técnica de Dot Elisa dando como resultado a la cuarta semana post-inmunización de los 60 animales tratados, 50 positivos con títulos de 1:1020, el grupo control fue negativo. Y por la técnica de WB a la cuarta semana post-inmunización todos los animales presentaron la banda de 45 kDa, el grupo control fue negativo (Muñoz *et al.*, 1998).

En estudios con ratas Long Evans se les aplicó, suero anti- *T. spiralis* de conejo el cual fue utilizado como inmunógeno, con el que se obtuvieron excelentes resultados de protección, reportando un valor de $p < .0001$, (Román *et al.*, 1996).

5.6 INMUNOPATOLOGÍA

Los parásitos tienen ciclos de vida con multi-estádios complejos, que involucran a varios huéspedes. Dentro de los huéspedes se encuentran los mamíferos, en los cuales sufren crecimiento y diferenciación, la fase responsable de vida de la *T. spiralis* es la LI, la cual emigra hacia el epitelio intestinal donde se reproduce, posteriormente emigrar dentro del mismo huésped hacia circulación sanguínea, posteriormente a la formación de la célula nodriza donde crece y sigue la transmisión a otro animal (MacDonald *et al.*, 2002).

Kumagai y Kamiya en 1994, reportaron que la migración de las LRN puede causar patogénesis por invasión a tejido miocárdico. La presencia de esta larva en tejido cardíaco puede ser transitoria. Sin embargo, algunas LRN en la etapa migratoria se van hacia músculo esquelético, entrando a tejido cardíaco a través de los capilares, los cuales se dañan por el paso de las larvas, desde las arterias hacia las vénulas. Este hallazgo fue

confirmado por extensas lesiones hemorrágicas que causa la LRN en corazón y cerebro de roedores.

Se ha estudiado en corazones perfundidos de ratas infectadas con *T. spiralis*, demostrando una disminución en la presión arterial, desarrollada en ventrículo izquierdo, frecuencia cardíaca y en el flujo coronario. Esta reducción es mejorada al aplicar PAF (factor activador de plaquetas o un activador de eosinófilos), principalmente en el día 21 pos-infección, ya que en este tiempo aumenta la eosinofilia en sangre y en tejidos. Al realizar el análisis de DNA indicó que a partir del día 21 post infección, los cambios morfológicos funcionales en el miocardio, no pueden atribuirse a la presencia del parásito, sino a sus antígenos que causan las reacciones inmunopatológicas, esto juega un papel en la inducción del daño y en el trastorno que sufre el miocardio. Algunas de las células inflamatorias perivasculares (eosinófilos y mastocitos) parecen sufrir degranulación. Todos estos datos hacen creer en una sucesión compleja de eventos, de miocarditis aguda (21 días pos infección) la cual puede ocasionar con el tiempo una cardiopatía severa (48 días pos infección o más) (Paolucci *et al.*, 1998).

Frydas *et al.*, 1999. Al observar al microscopio tejidos de diafragma, masetero y miocardio infectados con *T. spiralis*, encontraron la presencia de infiltración de células inflamatorias alrededor de la larva, como macrófagos, linfocitos, células plasmáticas y eosinófilos. La reacción inflamatoria se presentó en músculo cardíaco a partir del día 22 pos infección de *T. spiralis*. Este hallazgo fue confirmado anteriormente por Reina *et al.*, 1996 en estudios realizados en cabras.

Blumer describió algunos casos de humanos con Trichinellosis en 1936, los que se caracterizaban por presentar síntomas prominentes de miocarditis y alteración en sistema nervioso llevándolos a la muerte (Gould, 1970). La LI se enquistas, se desarrolla en músculos estriados, esquelético, cardíaco en la porción tendinosa de estos y en algunos otros tejidos de forma semejante como en el encéfalo (Gray *et al.*, 1962; Moreno *et al.*, 1996).

5. 7 TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO

El mebendazole y albendazole eliminan a los gusanos adultos eficazmente del tracto digestivo. El tiabendazole no se recomienda debido a los efectos adversos. La mayoría de los pacientes continúan albergando gusanos adultos en el intestino durante la fase aguda de la infección, todos los pacientes con Trichinellosis se tratan con mebendazole y albendazole para prevenir la producción de LRN., ya que el albendazole provoca el decremento de ATP, produciendo disminución de energía en el parásito de *T. spiralis*, causándole inmovilización y muerte. El cual tiene contraindicación en casos de pacientes con problemas de hipersensibilidad, tiene interacción con carbamazepina la cual puede disminuir la eficacia del antihelmíntico, la dexametasona, cimetidina y prazincuantel pueden aumentar la toxicidad para el parásito sin embargo en mujeres embarazadas, su seguridad no se ha establecido. El mebendazole (Vermox) Este inhibe la polimerización de los microtúbulos citoplasmáticos β -tubulina del parásito afectándole sus células intestinales, el uso del albendazole bloquea los nutrientes del parásito, esencialmente muere de inanición o baja aporte de proteína. Con dosis indicada, causa toxicidad selectivamente en los parásitos. Contraindicaciones: hipersensibilidad en algunos casos. Interacción: carbamazepina y fenitoina disminuye efectos del desparasitante, la cimetidina puede aumentar niveles de toxicidad en el huésped. La prednisona disminuye inflamación mientras que la permeabilidad capilar esta aumentada, suprime la actividad celular de polimorfonucleares (Flórez *et al.*, 2000).

5. 8 ALTERACIONES EN DESNUTRICIÓN

A mediados del siglo XIX se describieron por primera vez los efectos de la desnutrición sobre los órganos linfáticos. Los tejidos linfáticos son vulnerables a los efectos dañinos de la desnutrición, la atrofia linfoide es característica en estado de

desnutrición (Beisel, 1982). La división celular es una característica del funcionamiento de las células inmunocompetentes. Las células inmunes y sus productos, (interleucinas, interferones), dependen de reacciones metabólicas las cuales emplean diversos nutrientes como co-factores críticos para sus acciones y actividades (Chandra y Lachmann, 1993). La mayoría de los mecanismos de defensa del huésped se alteran con la desnutrición protéica calórica (DPC) (Beisel, 1982; Chandra, 1990; Bendich y Chandra, 1990). Los pacientes con DPC presentan alteración de hipersensibilidad cutánea retardada, pobre proliferación de linfocitos, disminución de la síntesis de ADN, disminución en el número de linfocitos, disminución del factor tímico sérico, células CD4+, reducción de la relación CD4+/CD8+, alteración de la producción de interferón gama e interleucina 2 y de la actividad del complemento (se disminuyen las C3, C5, del factor B y de toda la actividad hemolítica), existe una inadecuada respuesta de anticuerpos a ciertos antígenos, disminución de la afinidad de los Ab, alteración de la respuesta de la IgA secretora y disfunción de los fagocitos (Beisel, 1982; Bendich y Chandra, 1990).

Es probable que la nutrición intrauterina sea más importante de lo que hasta la fecha se considera, a pesar de que tradicionalmente se ha aceptado que las deficiencias en la nutrición materna por grandes que sean, se amortiguan por acción de la placenta, de tal manera que sólo causan pequeños efectos anatómicos o funcionales en los niños. Por otra parte, se sostiene que la lactancia temprana, aun en el caso de mujeres desnutridas, siempre ayuda a corregir esas deficiencias. Existen evidencias de que la mala nutrición materna da lugar a diferencias importantes en los recién nacidos, sobre todo porque pueden tener consecuencias en el desarrollo final, en épocas tardías aun en la edad adulta (Chávez *et al.*, 1998).

Según la Organización Mundial de la Salud existen 315 millones de personas que sufren de malnutrición, se ha descrito desde el inicio de la humanidad y en la actualidad existen seres humanos en los que el exceso o la deficiencia, en la alimentación se han expresado en enfermedades identificadas como obesidad y desnutrición. Aunque la información documental acerca de estas enfermedades ha llegado a nosotros de manera

inicial y dispersa por razones biológicas, los niños con mayor frecuencia se ven afectados por la desnutrición (Vega 1999; Guerra, 2005).

El retardo en el crecimiento se asocia a la pobreza estructural ya que es producto de la sub-alimentación prolongada no solo en cantidad sino en calidad causando procesos infecciosos y diarreicos (Montilva *et al.*, 2003).

La desnutrición infantil se percibe, a través del contacto cotidiano con los grupos de riesgo, de acuerdo con su frecuencia y distribución. Ante esta situación, la Secretaría de Salud Pública de Tabasco realizó, en 1991 la Primera Encuesta Estatal de Nutrición con el propósito de conocer la situación nutricional de alimentación de 935 niños, de edades de 1 a 4 años, de 17 municipios. El nivel estatal de desnutrición fue del 46% (29.8% leve; 12.8% moderado; y el 3.4% severo). El 90% de los desnutridos severos se localizaron en el medio rural. El análisis de los resultados define áreas de alto riesgo permitiendo la elaboración de propuestas concretas para su atención (Hernández y Roldan, 1995). En niños con DN que tenían un grado de DN había mayor frecuencia de enfermedades infecciosas por lo que se ha encontrado que la DN está relacionada a enfermedades infecciosas (Hernández y López, 2006). De manera similar sucedió en niños preescolares de Canaguá Estado de México donde en el examen coproparasitológico presentaron un 66.67 % de niños infestados con parásitos (Angarita *et al.*, 2001).

La relación entre los ácidos grasos y la inflamación se debe principalmente a los fosfolípidos de las células del sistema inmunológico. Los ácidos grasos incorporados en la membrana de la misma pueden afectar funciones inmunológicas y a la célula (Calder, 2003).

La capacidad funcional del sistema inmune declina gradualmente con la edad, los linfocitos T son más afectados que los B, debido a la involución del timo la cual se completa a los 60 años de edad, el envejecimiento se asocia con cambios en el equilibrio de las sub-poblaciones totales de linfocitos, teniendo una influencia la nutrición sobre el sistema inmune (Ruíz y Solano, 2001).

Sea ha descrito que se debe considerar las características de la composición de peso corporal durante la adolescencia y sus cambios en relación con ejercicio físico, debido a que existen indicios acerca de las influencias negativas potenciales de ejercicio intensivo en el crecimiento y maduración de prepúberes o adolescentes (León y Díaz 2005; Barría y Amigo, 2006).

Para un óptimo desarrollo, mantenimiento y funcionamiento del sistema inmunológico depende de la dieta entre otros factores. Entre los nutrientes que afectan al sistema inmunológico destaca la grasa cuya deficiencia o un desequilibrio en su aportación y en la calidad de la misma comprometen la estabilidad del sistema inmunológico (Kelley, 2001). Por lo tanto la interacción que existe entre los nutrientes, el sistema inmune de animales y humanos es de gran relevancia por consiguiente las consecuencias derivadas de la administración de ciertos componentes de la dieta deben ser analizadas desde un punto de vista epidemiológico, clínico y experimental ya que algunas dietas lipídicas están implicadas en la reducción de ciertas funciones inmunes. Sin embargo, la acción inmunosupresora de estas dietas puede tener afectos adversos sobre la resistencia inmune del individuo frente a enfermedades infecciosas (Puertollano *et al.*, 2004).

La pérdida de peso depende del equilibrio de energía negativo que obliga a utilizar reservas de grasa para obtener la energía. La reducción de la ingesta de alimentos disminuye la ingesta de energía, pero los diferentes nutrientes pueden tener diversos efectos sobre el metabolismo y la saciedad. Por lo tanto, el uso de una dieta con nutrientes modificados puede facilitar la pérdida de peso. Una reducción en la producción de proteína debido a la ingesta inadecuada puede llevar a una menor competencia inmunológica y a una susceptibilidad a factores de estrés como infecciones (Fomon y Rebouche, 1995).

En un experimento se utilizaron ratones tratados con dieta rica en ácidos grasos w-3 (Aceite de pescado refinado + aceite de girasol), se observó la disminución en el número

de linfocitos T, además de la disminución de IL 2 y de la respuesta tipo Th1, también ejercía un efecto inhibitorio de las respuestas Th2, se observó disminución de los niveles plasmáticos de IgE, lo que señala un posible efecto supresor de los ácidos grasos w-3 sobre el sistema inmunológico. A pesar de la disminución generalizada de la respuesta inmunológica, los ratones alimentados con w-3 no experimentaron síntomas de debilidad ni predisposición a las infecciones. Lo cual pudo deberse al incremento en estos animales de parámetros relacionados con la defensa natural del organismo como los niveles de IgA séricos (Sierra *et al.*, 2004).

La carencia de proteína en la dieta de ratas puede aumentar la susceptibilidad para infección con cargas parasitarias menores (Díaz *et al.*, 2002).

En estudios realizados en murinos indican que el peso normal al nacer del producto es de 5-6 g, por medio de la lactación la madre le confiere inmunidad al hijo la cual se da por dos vías, la primera es mediante el saco vitelino y la segunda por el calostro (Vega, 1999.).

El estado inmunológico del huésped puede influir tanto en la gravedad del las manifestaciones como en el tiempo de evolución, siendo más frecuente la infección en paciente inmunosuprimidos (Makled *et al.*, 1994).

5. 9 DIETA DE MURINOS

La dieta de los murinos lactantes y en desarrollo se basa principalmente en carbohidratos, lípidos, proteínas, minerales, vitaminas y agua (Tabla I y II, tomado de Nutrient Requirements of Laboratory Animal y El Manual Técnico de Lab Chows).

Tabla I

Dieta de murinos lactantes

Componentes	Requerimiento normal %
Proteína	7 - 12
Azúcares	3 - 3.5
Grasas	10 - 15
Agua	10 - 74

Tabla II

Dieta de murinos en desarrollo

Componentes	Requerimiento normal %	Requerimiento de desnutrición %
Proteínas	24	12
Aminoácidos	12.27	12.27
Grasas	4.3	4.3
FC	3.5	3.5
NFE	53	53
TND	75	75
Vitaminas A	1200 UI	1200 UI
Vitaminas D	400	400
Vitaminas E	3.8	3.8