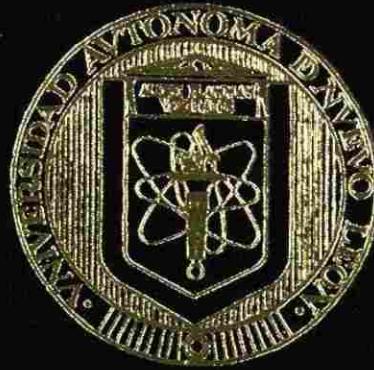


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



EVALUACION DEL EFECTO PROTECTOR DEL  
INMUNOGENO DE 45 KD<sub>2</sub> EN LA INFECCION  
POR *Trichinella spiralis* EN RATAS NUTRIDAS  
Y DESNUTRIDAS

Por

M. en C. CLAUDIA HERMINIA MALDONADO TAPIA

Como requisito parcial para obtener el Grado de:  
DOCTOR EN CIENCIAS con especialidad en  
Microbiología

Septiembre, 2007

TD

Z5320

FCB

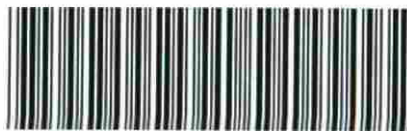
2007

.M372

EVALUACION DEL EFECTO PROTECTIVO DEL  
INMUNOGENO DE 45 KDa EN LA INFECCION  
POR *Trichinella spiralis* INTRINIDADAS  
Y DEFENSIVAS

C.H.M.

2007



1020160689



# UANL

---

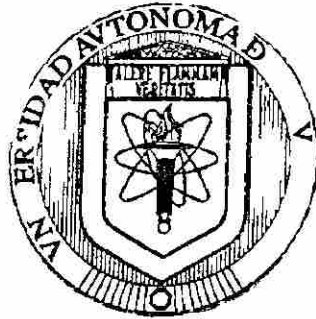
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**



**EVALUACIÓN DE EFECTO PROTECTOR DEL INMUNOGENO**

**DE 45 kDa EN LA INFECCION POR *Trichinella spiralis***

**EN RATAS NUTRIDAS Y**

**DESNUTRIDAS**

**Por**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**

**M. en C. CLAUDIA HERMINIA M DONADO TAPIA**

**Como requisito parcial para obtener el grado de  
DOCTOR EN CIENCIAS con Especialidad en Microbiología**

**Septiembre 2017**

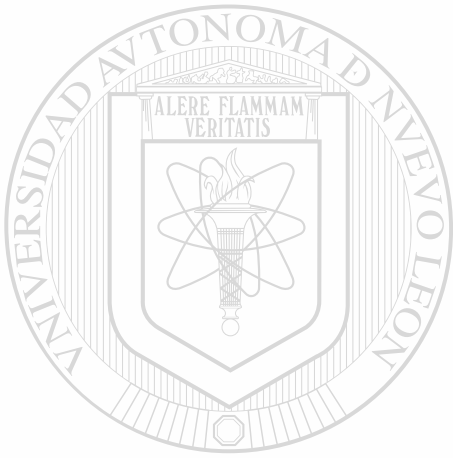
1045900



FONDO  
TRES'S

TD  
Z5320

2007  
.M372



# UANL

---

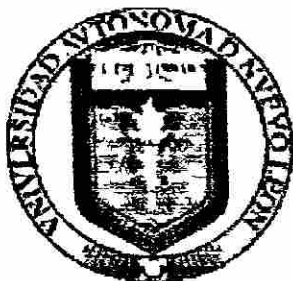
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**



**EVALUACIÓN DEL EFECTO PROTECTOR DEL INMUNOGENO**

**DE 45 kDa EN LA INFECCIÓN POR *Trichinella spiralis***

**EN RATAS NUTRIDAS Y**

**DESNUTRIDAS**

---

**Por**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**

**M. en C. CLAUDIA HERMINIA MALDONADO TAPIA**

**DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS**

**Como requisito parcial para obtener el Grado de  
DOCTOR EN CIENCIAS con Especialidad en Microbiología**

**Septiembre 2007**

## DEDICATORIA

**A MIS PADRES (Herminio y Brígida):**

POR EL INFINITO AMOR, APOYO, RESPETO, QUE ME HAN BRINDADO SIEMPRE, ANTE CUALQUIER ADVERSIDAD. POR HABER INCULCADO EN MI EL AMOR AL SABER, AL CONOCER, AL TRABAJO Y CREAR COSAS DIA A DIA. **LOS AMO.**

**A MIS HERMANOS (Sandra, Mirna y José Luís), SOBRINOS (Nitzzy, Gisy, Pepito y Dailis):** POR SU AMOR, COMPRENSIÓN, TIEMPO DEDICADO, AL ESFUERZO DE ESTAR UNIDOS Y AMARNOS COMO UNA FAMILIA..

**A MI ESPOSO E HIJA (Mauricio y Fátima):** POR EL TIEMPO ROBADO, PACIENCIA Y EL AMOR BRINDADO.

---

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

A MIS FAMILIARES: POR DARME LA RAZON DE SEGUIR ADELENTE. ®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

A TODOS LOS QUE NO ESTAN PRESENTES.

A LA Dra. en C. **Alejandra Moreno García** POR EL APOYO INCONDICIONAL BRINDADO, CONOCIMIENTO Y DEDICACIÓN.

## AGRADECIMIENTO

**A DIOS** por haberme permitido el paso por esta vida, dándome la fortuna de haber nacido en mi familia e iniciar otra.

A la Universidad Autónoma de Nuevo León y Autónoma de Zacatecas, por brindarme la posibilidad de formarme profesionalmente.

A mis asesores: Dra. en C. María Alejandra Moreno García, Dr. en C. Mario Morales Vallarta y Dra. en C. Ma del Socorro Flores, por el tiempo dedicado a la realización de este trabajo.

Agradezco a los directores que me permitieron cursar por esta Honorable Universidad Dr. en C. José Santos García, Dr. en C. Juan Manuel Alcocer G y a la Dra. en C. Julia Verde Star.

---

A mis profesores: por transmitir sus conocimientos, especialmente a los Dr. en C. Víctor Vargas López, Dra. en C. Licet Villareal Treviño, Dr. en C. Javier Vargas Villarreal, Dr. en C. Feliciano Segovia Salinas y al Dr. en C. Lucio Galaviz S.

### DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

A las M en C. Rosa Gabriela Reveles Hernández y María Porfiaría Barrón González y al MVZ. Sergio Saldívar Elías, por su colaboración y el apoyo incondicional en la realización del presente trabajo GRACIAS.

Agradezco al Concejo Nacional de Ciencia y tecnología, la beca proporcionada durante la realización de este trabajo, No. registro 174039.





# UANL

---

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

**APROBACIÓN DE TESIS DOCTORAL POR EL COMITÉ DE TESIS**

**EVALUACIÓN DEL EFECTÔ PROTECTOR DEL INMUNOGENO**

**DE 45 kDa EN LA INFECCIÓN POR *Trichinella spiralis***

**EN RATAS NUTRIDAS Y DESNUTRIDAS**

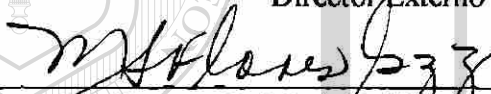
**Comité de Tesis**



Dr. en C. Mario Morales Vallarta  
Director



Dra. en C. María Alejandra Moreno García  
Director Externo



Dra. en C. María Del Socorro Flores G.  
Co-Director

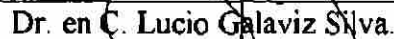


Dra. en C. Licet Villarreal Treviño  
Secretario



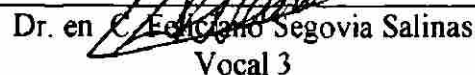
Dr. en C. Javier Vargas Villarreal  
Vocal

Vocal



Dr. en C. Lucio Galaviz Silva  
Vocal 2

Vocal 2



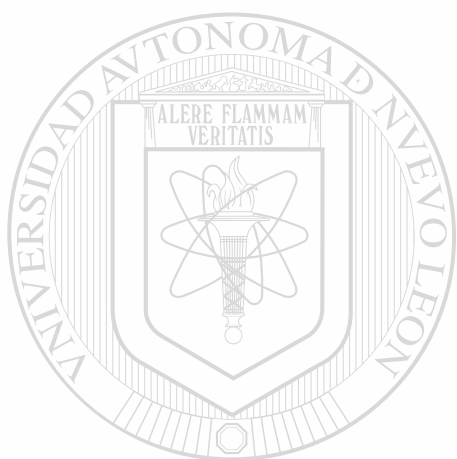
Dr. en C. Edgardo Segovia Salinas  
Vocal 3

Vocal 3

## TABLA DE CONTENIDO

<b>Tabla</b>		<b>Página</b>
1.	RESUMEN Y ABSTRACT	1
2.	INTRODUCCION	5
	JUSTIFICACIÓN	7
3.	HIPÓTESIS	9
4.	OBJETIVOS	9
	4.1 Objetivo General	9
	4.2 Objetivos Especificos	9
5.	ANTECEDENTES	10
	5.1 BIOLOGIA DE <i>Trichinella spiralis</i>	10
	5.1.1 Clasificación Taxonomica de <i>Trichinella spiralis</i>	10
	5.1.2 Morfología	10
	5.1.3 Ciclo de vida de <i>Trichinella spiralis</i>	11
	5.2 Manifestaciones clínicas de trichinellosis	13
	5.2.1 Cuadro clínico	13
	5.2.2 Diagnostico de Laboratorio	14
	5.2.3 Tecnicas Directas	14
	5.2.4 Tecnicas Indirectas	14
	5.3. Inmunología de <i>Trichinella spiralis</i>	15
	5.4. Respuesta local	17
	5.4.1 Respuesta Sistémica	19
	5.4.2 Caracterización de Antígenos	20
	5.5. Inmunógenos de <i>T. spiralis</i>	23
	5.6. Inmunopatología	27
	5.7. Tratamiento Farmacológico	29
	5.8 Alteraciones en desnutrición	29
	5.9 Dieta de murinos	33
6	MATERIAL Y METODOS	35
	6.1 Diseño Experimental	38
	6.2 Metodología	38
	6.3 Tecnicas	40
	6.4 Diseño de tratamientos	46
	6.5 Diseño experimental	46
7.	RESULTADOS	45

8	DISCUSION	65
9.	CONCLUSIONES Y SUGERENCIAS	71
10.	LITERATURA CITADA	72
11.	APENDICES	
	LISTA DE TABLAS	iii
	LISTA DE FIGURAS	iv
	NOMENCLATURA	vi



# UANL

---

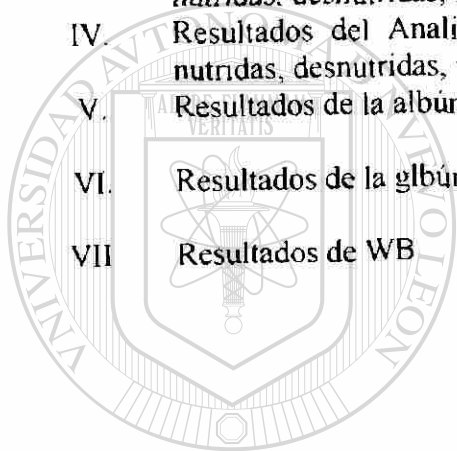
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

## LISTA DE TABLAS

<b>Tabla</b>		<b>Página</b>
I.	Dieta de murinos lactantes	34
II.	Dieta de murinos en desarrollo	34
III.	Resultados del Análisis de varianza de peso en ratas nutridas, desnutridas, infectadas e inmunizadas.	47
IV.	Resultados del Analisis de varianza de talla en ratas nutridas, desnutridas, infectadas e inmunizadas.	48
V.	Resultados de la albúmina/globulina en ratas nutridas	49
VI.	Resultados de la glbúmina/globulina en ratas desnutridas	50
VII.	Resultados de WB	58



# UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

## LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Ciclo de vida de <i>Trichinella spiralis</i>	12
2	Comparación de talla entre rata desnutridas y nutrida, las cuales estuvieron en tratamiento durante 57 días, la diferencia en talla es notoria, en donde la rata desnutrida alcanza una talla máxima de 33 cm, y la rata nutrida alcanzó una talla máxima de 45 cm aproximadamente.	45
3	Comparación entre los pesos finales obtenidos en ratas nutridas, desnutridas, infectadas e inmunizadas.	46
4	Comparación entre las tallas finales obtenidas en ratas nutridas, desnutridas, infectadas e inmunizadas.	46
5	Promedio de proteínas totales (PT), albumina (Alb) y globulina (GL) en ratas nutridas, inmunizadas e infectadas.	49
6	Promedio de proteínas totales (PT), albúmina (Alb) y globulina (GL) en ratas desnutridas, inmunizadas e infectadas.	50
7	Muestra de tejido infectado de rata nutrida, en la cual se aplicó la técnica de compresión, en la figura A se observa la presencia de la larva infectante en masetero (flecha), la imagen B muestra a mayor aumento las características morfológicas propias de la larva infectante.	51
8	Muestra de tejido infectado de rata desnutrida, en la cual se aplicó la técnica de compresión, en la figura A se observa la presencia de la larva infectante en masetero (flecha), la imagen B muestra a mayor aumento las características morfológicas propias de la larva infectante.	51
9	Tejido de rata nutrida inmunizada con AST e infectadas. en A se observa la presencia de larvas infectantes modificadas en su morfología de la célula nodriza, mientras que en B se observa a <i>T. spiralis</i> sin célula nodriza pierde su morfología característica en espiral.	52
10	Tejido de rata DN inmunizada con AST e infectadas	52
	Nut Inmunizado con inmunogeno de 45 kDa Infectado en	53
11	Técnica de compresión	

12	DN Inmunizado con inmunógeno de 45 kDa Infectado en Técnica de compresion	53
13	Resultados de la técnica de D A, tanto en ratas Nut, DN, Inmunizadas e Infectadas.	54
14	Control Nutrido en D A	55
15	Control DN en D A	55
16	Nut Inmunizado con AST mas Infeccion en D A	56
17	DN Inmunizado con AST más Infección en D A	56
18	Nut Inmunizado con inmunógeno de 45 kDa mas Infección en D A	57
19	DN Inmunizado con inmunógeno de 45 kDa más Infección en D A	57
20	WB de sueros Nut. Inmunizados con AST e Infección	59
21	WB de sueros DN Inmunizados con AST e Infeccion	59
22	IFI En sueros de animales Nut. y DN sin infeccion	60
23	IFI En sueros de animales Nut. y DN con infección	60
<hr/>		
24	IFI En sueros de animales Nut. y DN mas Inmunización con AST mas infeccion	60
25	IFI En sueros de animales Nut. y DN más Inmunización con AST mas infección	60
26	Nut más Infección en la Técnica de H E	61
27	DN mas Infeccion en la Tecnica de H E	61
28	Nut Inmunizado con AST mas Infeccion en la Técnica de H/E	62
29	DN Inmunizado con AST mas Infeccion en la Tecnica de H E	62
30	Nut Inmunizado con inmunogeno de 45 kDa más Infección en la Técnica de H E	63
31	DN Inmunizado con inmunogeno de 45 kDa más Infección en la Técnica de H E	64

## NOMENCLATURA

Ab	Anticuerpo
Ag	Antígeno
DACC	Reacción dependiente de anticuerpo
AM	Anticuerpo monoclonal
Ig	Inmunoglobulinas
L1	Interleucina
Ir	Antígeno de histocompatibilidad en ratón clase II
GALT	Tejido linfoide asociado al estómago
SNC	Sistema Nervioso Central
RI	Respuesta inmune

---

RIH Respuesta inmune humoral

IFN Factor Necrosis Tumoral

INT Interferón

Fc Factor del Complemento

LT Linfocito T

LTc Linfocito T cooperador

LTs Linfocito T supresor

LB Linfocito B

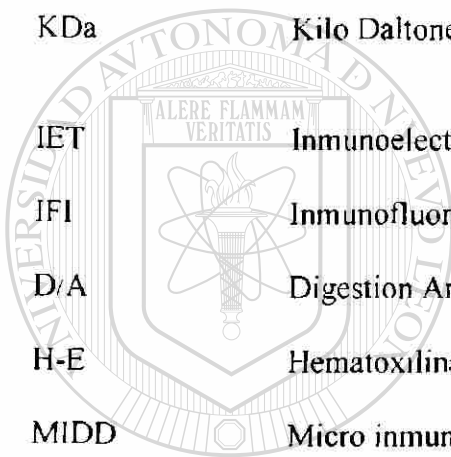
APC Celula presentadora de Antigenos

*T. spiralis* *Trichinella spiralis*

AST Antígeno soluble total



LA	Larva Adulta
LI	Larva Infectante
LRN	Larva recién nacida
IM	Intramuscular
WB	Western blot
EGPA	Electroforesis en geles de poliacrilamida
ELISA	Ensayo Inmuno enzimático
KDa	Kilo Daltones
IET	Inmunoelctrotransferencia
IFI	Inmunofluorescencia indirecta
D/A	Digestion Artificial
H-E	Hematoxilina- Eosina
MIDD	Micro inmuno difusión doble
IFD	Inmunofluorescencia directa
IP	Inmunoperoxidasa
HCl	Acido clorhídrico
SSF	Solución salina fisiologica
NL	Nitrogeno liquido
NC	Papel de Nitrocelulosa
m.s.n.m	Metros sobre el nivel del mar
r p.m	Revoluciones por minuto



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



## 1. RESUMEN

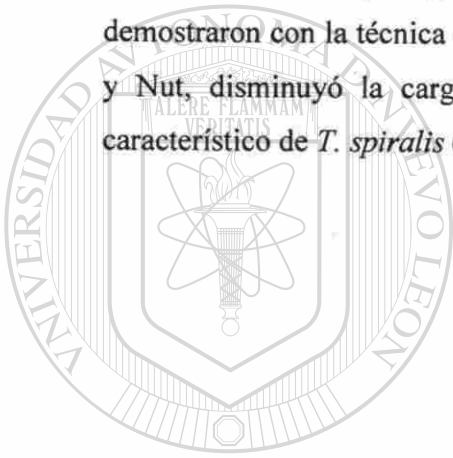
La trichinellosis es una zoonosis endémica, cosmopolita, sus huéspedes son, ratas, cerdo y otros mamíferos entre ellos el hombre, la presencia de Trichinellosis se debe a la ingestión de carne de cerdo insuficientemente cocinada, afecta a países con bajos recursos económicos. Se han caracterizado Inmunógenos, 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.



# UANL

---

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

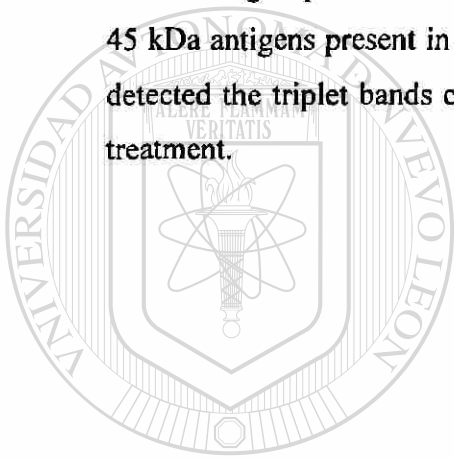


DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

## 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.



UANL

---

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

## 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 a.*, 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 cognitivas 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).

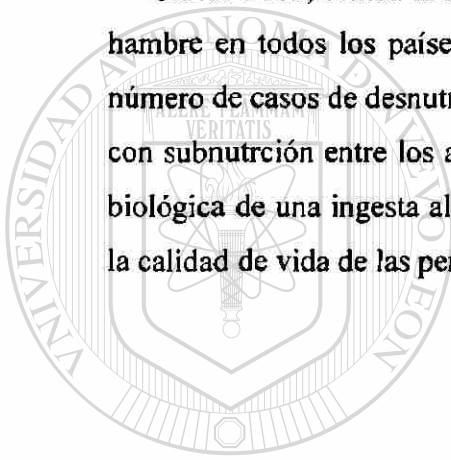
Existen estudios epidemiológicos de los años 2000-2005 donde se detectó la presencia de *T. spiralis* en perro, rata y cerdo, los cuales son los huéspedes que permiten su permanencia como una zoonosis en el estado (Berumen *et al.*, 2002; Muñoz *et al.*, 2004; Chávez *et al.*, 2006). Como consecuencia, 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).



UANL

---

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

### 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

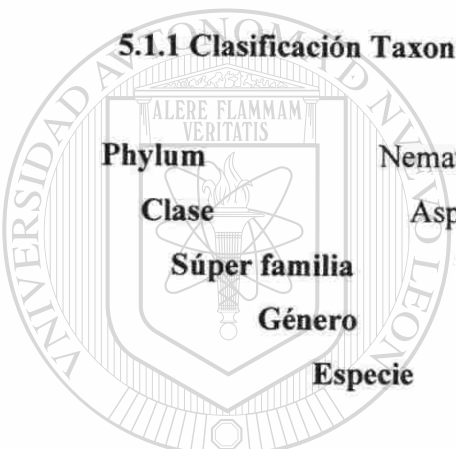
- a) Estandarizar los grupos de animales nutridos y desnutridos.
- b) Establecer la infección en animales nutridos y desnutridos.
- c) Evaluar el efecto protector del AST en ratas Long Evans nutridas y desnutridas.
- d) Evaluar el efecto protector del inmunógeno de 45 kDa en ratas Long Evans nutridas 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  $\mu\text{m}$ . El tamaño máximo en la fibra muscular de la larva infectante (LI) es de 900 a 1300 por 35 a 40  $\mu\text{m}$  (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  $\mu\text{m}$ ., 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).

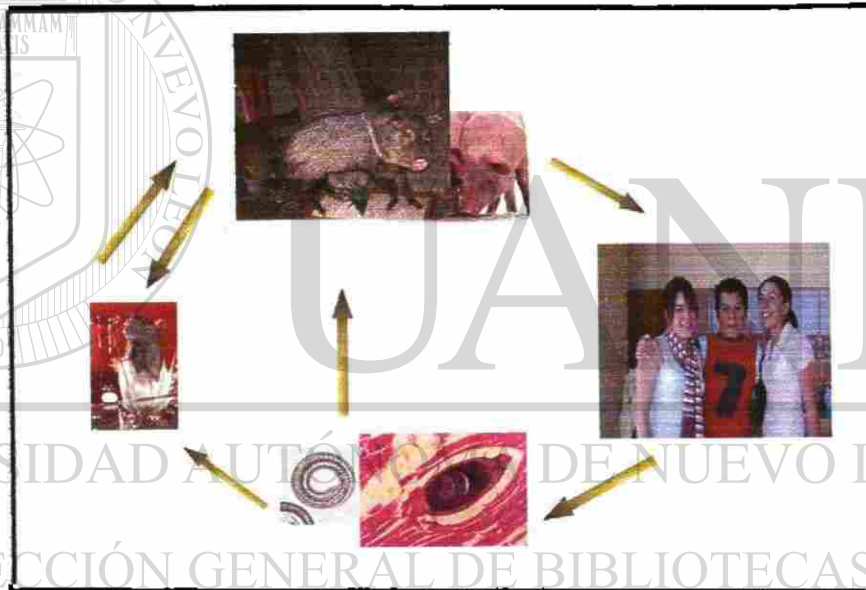


Figura 1 Ciclo de vida de *Trichinella spiralis* Autor: C.H.M.T

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 LI. 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 / 1μL 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 Indirecta (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).

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

#### 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 gama 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  $\alpha 0$ ,  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$ ,  $\beta$  y  $\delta$ , 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.

#### DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

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 polimorfonucleares, 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  $\alpha$ 1,  $\alpha$ 2,  $\beta$ , y  $\delta$  (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 epítopes 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  $\alpha$  en células anteriores y en  $\beta$  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  $\alpha$ . 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)<sub>2</sub> 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 muscular 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 emigra 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 cardiaca 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 cardiaco 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, cardiaco 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  $\beta$ -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 fenitoína 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 de las manifestaciones como en el tiempo de evolución, siendo más frecuente la infección en paciente inmunosuprimidos (Makled *et al.*, 1994).

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

## 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

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

**Tabla II**

Dieta de murinos en desarrollo

<b>Componentes</b>	<b>Requerimiento normal %</b>	<b>Requerimiento de desnutrición %</b>
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

## 6. MATERIAL Y METODOS

El presente estudio se realizó a cabo de enero del 2004 a Mayo del 2006, en el Departamento de Biología Celular y Microbiología de la Unidad Académica de Biología Experimental de la Universidad Autónoma de Zacatecas, ubicado en Guadalupe Zacatecas con orientación de 22°, 45', 429" Latitud Norte y 102°, 30', 637" longitud Oeste a una altura de 2328 msnm. Apartado Postal 12, Guadalupe, Zac., 98600. Tel. y Fax (492) 92-1-13-26., y en el Laboratorio de Biología Celular, del Departamento de Biología Celular y Genética de la Facultad de Ciencias Biológicas, Subdirección de Estudios de Postgrado, Universidad Autónoma de Nuevo León.

### 6.1 Diseño experimental

El modelo experimental que se utilizó fue 80 ratas hembras Long Evans de 30 días de edad pos-destete clínicamente sanas con modificación en la dieta, las cuales se dividieron en dos grupos: 40 ratas Nutridas (Dieta normal 24 % de Proteína), 40 ratas desnutridas (Dieta de 12% de proteína) de cada grupo se hicieron 4 subgrupos.

### 6.2 Metodología

- a) 10 ratas control nutrido y 10) ratas control desnutrido.
- b) 10 ratas nutridas y 10) ratas desnutridas infectadas con *T. spiralis*.
- c) 10 ratas nutridas y 10) ratas desnutridas inmunizadas con el antígeno soluble total (AST) utilizando el siguiente esquema de inmunización (una aplicación cada semana por 4 ocasiones), infectados con 200 LI de *T. spiralis* vía oral en la primera semana posterior a la culminación del esquema de inmunización, sacrificadas a las 6ta semana post -infección.

d) 10 ratas nutridas y 10 ratas desnutridas inmunizadas con el inmunógeno de 45 kDa, se utilizó el siguiente esquema de inmunización (una aplicación cada semana por 4 ocasiones), infectadas con 200 LI de *T. spiralis* vía oral, una semana posterior a la culminación del esquema de inmunización, se sacrificaron a la 6ta semana post-infección.

El esquema de vacunación utilizado fue a concentración de 10 µg de proteína por cada inmunización: a) intramuscular, b) intraperitoneal, c) subcutánea y d) intramuscular.

**Parámetros evaluados:**

- 1.- Peso corporal y talla (al inicio del experimento y al sacrificio de los animales en todos los grupos de estudio).
- 2.- Toma de muestra sanguínea del seno retroorbital en los siguientes tiempos: a) pre – infección de *T. spiralis*, b) pre-tratamiento AST e inmunógeno de 45 kDa, c) post-tratamiento AST e inmunógeno de 45 kDa, d) sacrificio de los grupos de estudio.
- 3.- Se caracterizó la respuesta inmune (IgG) a *T. spiralis* por WB en todos los grupos de estudio.
- 4.- Se caracterizó el sitio de unión Ag-Ab por IFI con microscopía confocal, en todos los grupos de estudio a los 45 días.
- 5.- Se evaluó el estado nutricional en relación a albúmina/globulina en todos los grupos de estudio.
- 6.- Se evaluó en todos los grupos de estudio la carga parasitaria mediante la D/A a los tratamientos de inmunización de AST y con el inmunógeno de 45 kDa.
- 7.- Se evaluó la célula nodriza (por observación de los cambios en su estructura morfológica) mediante la técnica de compresión de tejido y tinción de hematoxilina-eosina, en todos los grupos de estudio.

### 6.3 Técnicas

#### I.- Obtención del antígeno soluble total (AST) de *T. spiralis*

Para obtener el AST de *T. spiralis*, el cual se utiliza en las técnicas indirectas, se inició con la obtención señalada en D/A, posteriormente de la obtención de la LI, se sometió a varios lavados de solución buffer de fosfatos (PBS), se desengrasaron con acetona absoluta a evaporación manteniéndose en PBS, a continuación se procedió a sonicar usando 50% de eficiencia y dos minutos de pulso, con la finalidad de romper la cutícula y vaciar el contenido antigénico de las LI, se centrifugó a 3000 rpm 4°C por 1.50 h. El sobrenadante contiene el AST, al cual se le realizó la determinación de proteína (método de azul de Coomassie, G-250 a 610 nm), El extracto total fue utilizado como AST para inmunizar ratas Long Evans.

#### II.- Determinación de proteína (Método de Bradford)

Se obtuvo una curva estándar utilizando albúmina sérica bovina, según la metodología de Bradford, ajustado a la concentración de proteínas obtenidas a una densidad óptica de 610 nm mediante azul de Coomassie al 0.06 % preparado en HCL al 2.2%. Interpolando el valor de la densidad óptica del antígeno, a la de la curva estándar de albúmina, se conoce el valor de la concentración de proteínas contenidas en el antígeno AST y para el inmunógeno de 45kDa (Bradford, 1976).

#### III.- Elusión del inmunógeno de 45 kDa

Del músculo infectado con larvas de *Trichinella spiralis* se obtuvo el AST al cual se le realizó electroforesis (SDS-PÁGE), en geles del 10% de poliacrilamida. La porción

del gel que contenía el triplete característico de 42, 43 y 45 kDa se separó mediante elusión, con solución de Tris 10mM, a un pH de 8.13, adicionándole inhibidores de proteasas, posteriormente se centrifugó a 12,100 x gravedades a 4° C durante 30 min. La proteína que se obtuvo del sobrenadante y se le realizó la determinación de concentración de proteína por el método de Bradford. Posteriormente se filtró mediante las membranas que permitió el paso del péptido de 45 kDa., el sobrenadante se tomó para ser analizado por el SDS-EPPA reducido a 10%, en el gel para confirmar la presencia de este inmunógeno. Posteriormente estas fracciones se utilizaron como inmunógeno (Chapa *et al.*, 1992).

#### **IV.- Corrimiento electroforético en geles de poliacrilamida (EGPA)**

Para separar el AST e inmunógeno de 45 kDa se realizaron corrimientos electroforéticos en minigeles de poliacrilamida (PAGE) en condiciones reductoras. Se utilizaron geles de 7 x 7 cm preparados con dodecil sulfato de sodio (SDS) de acuerdo a la metodología descrita por Laemmli *et al.*, 1970, a concentración de acrilamida al 11%, la relación acrilamida – bisacrilamida fue de 1:60 en el gel separador. El tiempo de corrimiento, fue de 2 h a 100 Volts. El AST y el inmunógeno de 45 kDa se prepararon por ebullición durante 5 min. En una solución reductora, Tris-HCL 1 M, pH = 6.8, glicerol 20%; SDS al 2%, azul de bromo fenol al 0.5%, EDTA; H<sub>2</sub>O, ditioneitol 5 mM y 2 β-mercaptoetanol al 5%. Se utilizaron los siguientes marcadores de peso molecular: fosforilasa (97 kDa), albúmina sérica bovina (68 kDa), ovalbúmina (43 kDa), anhidrasa carbónica (24 kDa), lisosima (14 kDa); se usó una cámara PROTEAN II xi Cell (Bio-Rad), posterior al corrimiento se tiñó uno de los geles con azul de Coomassie, para posteriormente desteñirse con solución desteñidora, después con solución aclaradora, fue secado el gel en membranas de papel celofán, en el aparato de GELDRYER MODEL 583 of BIO-RAD, los geles no teñidos se transfirieron a papel de nitrocelulosa (Laemmli *et al.*, 1970).

## V. - Western Blot (WB)

El producto obtenido del corrimiento en gel de poliacrilamida se transfirió al papel de nitrocelulosa (NC), El papel con las proteínas transferidas de acuerdo con el método descrito por Towbin 1979, utilizando una cámara de Trans blot-cell Electrophoretic Transfer Cell (Bio-Rad) con el buffer de transferencia (25 mM Tris, pH 8.3, 192 mM glicina, 20% de MEOH y .025 – 0.1 % de SDS) a 35 volts a 4°C durante toda la noche, una vez transferidas las proteínas al papel de NC, se procedió al revelado con tinción verde rápido (fast green al 0.1%) por 5 min. Con agitación constante, se retiró el colorante, decolorándose en agua destilada verificando la presencia de proteínas.

El papel de NC se cortó en tiras, se procedió a cubrirlos con solución bloqueadora PBS-leche descremada en polvo al 3% y azida de sodio al 0.15% manteniéndose a 4°C, con agitación continua durante 12 hrs. Se lavó 3 veces con PBS el papel (cada una por 10 min.). Posterior a esto se continuó con la incubación del (primer Ab) suero de rata diluido 1:100 con PBS- leche en polvo al 3% incubado 90 min a temperatura ambiente con agitación constante. Se lavó por dos ocasiones durante 10 min. Con PBS-Tween 20, al 0.3% y tres veces con PBS por un lapso de 10 min. Se incubó un (segundo Ab) anti-IgG de rata marcada con peroxidasa dilución 1:1000 así como PBS-leche en polvo al 3% durante 90 min a temperatura ambiente con agitación constante. Después fueron lavados 2 veces durante 10 min. Con PBS Tween 20 al 0.3% y tres veces con PBS durante 10 min. Las bandas de proteínas se revelaron con 3,3'diamino-benzidina (DAB), 50 mg. en 100 ml de PBS, agregándole 10 µl de peróxido de hidrógeno al 30% manteniendo a 4°C, posteriormente se lavó cada tira por tres ocasiones en agua destilada, dejándose secar al ambiente (Tobwin *et al.*, 1979).



## VI.- Inmunofluoresencia Indirecta (IFI)

Las LI se obtuvieron del músculo infectado de rata con *T. spiralis*, se tomaron 20 µL de LI y se lavaron por tres periodos con PBS durante 5 min en agitación magnética, se incubaron con 20 µL del primer Ab durante 45 min con PBS se lavaron con PBS en 3 ocasiones por 5 min en agitación magnética, se extrajo el líquido con precaución para evitar absorber las LI, se le agregó 200 µL del conjugado monovalente anti-gamafluoresceinada (IgG dilución 1: 1000), se incubó por 45 min a 37°C, se extrajo la fase líquida, se realizó 3 lavados con PBS en agitación magnética por 5 min cada uno, se montaron laminillas con las LI cubriéndolas con cubre objetos y se selló con resina, se observaron al microscopio confocal (Labzoffsky *et al.*, 1964; García *et al.*, 1997, 2001).

## VII.- Albúmina/Globulina

Esta técnica se realizó siguiendo el Manual de química sanguínea veterinaria (con el aparato QUIK LAB. REACTIVOS). Para poder determinar la relación albúmina /globulina se necesitó la determinación de proteínas totales. Determinando la cantidad de cada grupo se obtiene la relación antígeno-anticuerpo (Ag-Ab).

Método de Biuret. El principio es en solución alcalina, las proteínas forman con los iones de cobre un complejo coloreado, siendo positiva al presentar un color azul. Se utilizó suero como muestra. Se utilizó reactivo de Biuret, un agente tensioactivo, se utilizó un patrón de albúmina bovina, fracción V, 6 g/dl., fotómetro a una temperatura de 20 a 25°C, como se describe a continuación:

Paso 1.- Preparar las siguientes soluciones:

Muestras / Soluciones	Blanco	Estándar	Muestra
Solución 1	1000 µl	1000 µL	1000 µL
Solución estándar	----	20 µL	----
Suero problema	---	---	20µL

Paso 2.- Incubar a temperatura ambiente por 20 min.

Paso 3.- Leer entre 20 y 60 min. (los resultados se expresan en g/dl)

ALBUMINA

UANL

**Método BCG:** Se basa en el principio de la albúmina que es una solución tamponada la cual reacciona en presencia del reactivo Verde de Bromocresol (BCG), a través de una reacción de enlace con el colorante. Se utilizó una muestra de suero al cual se le añadió el reactivo BCG. (Patrón albúmina bovina V,5 g/dl), se incubó a temperatura ambiente por 1 min., enseguida se leyó en un fotómetro a una temperatura de 25°C (Nota: el tiempo de lectura no debe de exceder 10 min). Las soluciones de lectura se prepararon como se describe a continuación y los resultados se expresan en g/dl.

Muestras / Soluciones	Blanco	Estándar	Muestra
Reactivo BCG	1500 µL	1500 µL	1500 µL
Solución estándar	----	10 µL	----
Suero problema	---	---	10µL

### VIII.- Técnica de digestión artificial (D/A)

El proceso se realizó a 37°C por 24 h según el método descrito por Del Río *et al.*, 1986, donde se colocó 30 g de tejido infectado triturado en un tamiz de tul en forma de saco; suspendido en una solución de 0.03% de pepsina (10,000 U), HCl al 37 % (0.2M) en 1.0 L de agua destilada, se colocó en un embudo de separación., trascurridas 24 h se procedió a separar las LI que se depositaron en el fondo del embudo de separación, se realizó tres lavados de PBS, para evitar su desnaturalización de LI, por último se midió la cantidad de LI presentes y se observaron al microscopio.

### IX.- Técnica de compresión

Una vez cumplido el tiempo de la reproducción del ciclo vital de *T. spiralis* en las ratas, se procedió como se describe a continuación para obtener las muestras de tejido y aplicar la técnica de compresión:

Paso 1.- Se sacrificó la rata.

Paso 2.- Se tomó 0.5g de tejido de diafragma, masetero, lengua e intercostales

Paso 3.- Cada muestra se compactó a presión en dos portaobjetos de vidrio.

Paso 4.- Se observó al microscopio óptico y se buscó la presencia de la LI en los tratamientos correspondientes, con el objetivo de 10X.

### X.- Tinción con hematoxilina–eosina

Esta técnica se realizó siguiendo el Manual del Instituto de Patología de las Fuerzas Armadas de los Estados Unidos de Norteamérica 57, de acuerdo a los siguientes pasos:

Paso 1.- Fase de fijación del tejido en formol al 10% para cortes histológicos, con el fin de determinar las características morfológicas mediante la tinción de H/E.

Paso 2.- Los tejidos se deshidrataron con:

- 1.- Formol al 10% por 12 h.
- 2.- Alcohol etílico al 80 % por 1h.
- 3.- Alcohol etílico al 96 % por 1h.
- 4.- Realizar tres cambios cada uno de 30 min. en alcohol etílico absoluto
- 5.- Realizar tres cambios alcohol etílico absoluto por 1.5 h cada uno.
- 6.- Realizar dos cambios con xileno por 1.5 h.

Paso 3.- Procesar en parafina empleando el aparato de procesador (Lipshaw Automatic Tissue Processor) de acuerdo a las siguientes etapas, las cuales se describen a continuación:

- 1.- Colocar en parafina a 60°C y realizar dos cambios de 1.5 h.
- 2.- Colocar los tejidos en moldes cúbicos hasta que se enfriaron.
- 3.- Dejar reposar 24 h.
- 4.- Colocar los cubos de parafina en una cama de hielo para efectuar los cortes.
- 5.- Realizar cortes con un grosor de 4µ en el Micrótopo modelo 820 Rotary, American Optical.
- 6.- Posteriormente se colocaron en un portaobjetos, cubierto con un gel a base de clara de huevo y glicerol con diluciones de 1:1 con 0.01g de tibal como conservador.
- 7.- Los cortes así tratados se colocaron en placa caliente para fundir la parafina y continuar con la tinción de H/E.
- 8.- El procedimiento de tinción se llevó a cabo en un tren de tinción, los portaobjetos se colocaron en una canastilla que se introdujo en las siguientes soluciones:
  - a) xileno 5 min.
  - b) alcohol etílico absoluto 3 min.
  - c) alcohol etílico al 96% 3 min.
  - d) alcohol etílico al 96% 3 min.
  - e) enjuagar con agua destilada (de manera rápida).
  - f) teñir con hematoxilina de Harris por 10 seg.
  - g) enjuagar con agua potable.
  - h) alcohol ácido al 1% (de manera rápida).
  - g) enjuagar con agua potable.
  - i) pasar por solución saturada de carbonato de litio 2 min.
  - j) enjuagar con agua potable;
  - k) teñir con eosina (por 10 segundos).
  - l) enjuagar con agua potable (dos cambios).
  - m) pasar por alcohol etílico del 96% 3 cambios.
  - n) en alcohol etílico absoluto 3 cambios.
  - ñ) pasar por xileno (todos los cambios anteriores fueron de 1 min).
  - o) se montaron con resina sintética Sigma y se cubrieron con un cubreobjetos para la observación al microscopio óptico al 10, 20 y 40X (Armed Forces Institute, 1957).

## 6.4 Diseño de Tratamientos

Completamente al azar.

## 6.5 Diseño Experimental

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar, el cual es representado por el siguiente modelo general:

$$Y_{ij} = \mu + A_i + B_j + e_{ijk}$$

Donde  $Y_{ijk}$  = porcentaje de reactores.  $\mu$  = es la medida común en todas las unidades experimentales antes de aplicar las inmunizaciones.  $\alpha_i$  = es el i-ésimo nivel de inmunógenos (con y sin inmunizar).  $\beta_j$  = es el j-ésimo diagnóstico.  $\alpha\beta$  = es la interacción del i-ésimo nivel de  $\alpha$  y j-ésimo nivel de  $\beta$ .  $e_{ijk}$  = es el error experimental (Steel y Torrie, 1998).

## 6.6 Análisis estadísticos

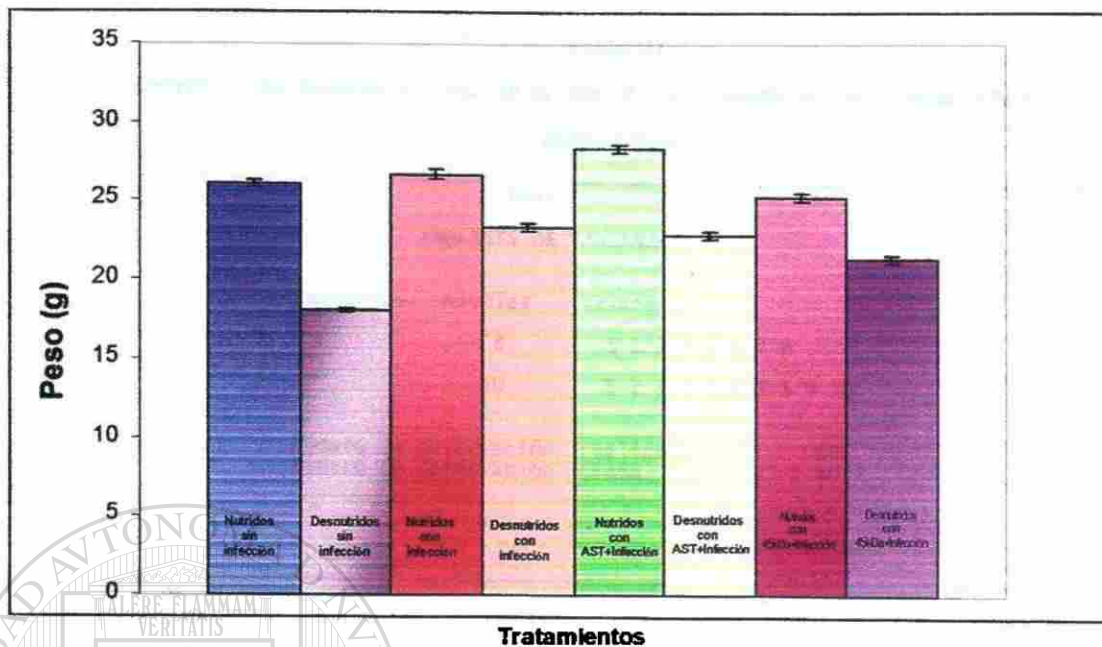
El procesamiento estadístico de los resultados obtenidos fueron sometidos a un análisis de varianza ( $p < 0.01$ ) empleando el sistema de análisis estadístico (SAS, 1998), y analizando los resultados obtenidos en el programa Excel para Windows 2006.

## 7. RESULTADOS

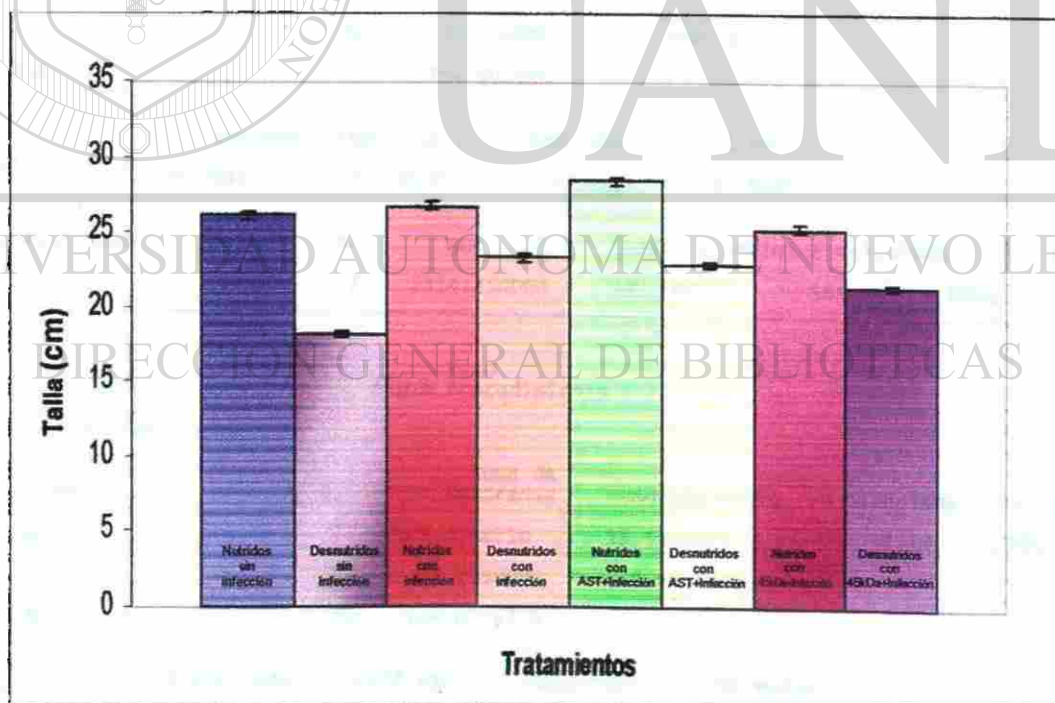
En las Tablas III y IV se muestran los resultados del análisis de varianza (ANOVA) para efecto de la relación de peso y talla, significativa ( $F=158.64$ ,  $P < 0.01$ ) en el grupo de animales nutridos y desnutridos. En el mismo se observa que fue altamente significativo de ( $P < 0.01$ ) a través del período de estudio. Los resultados obtenidos se muestran en la figura 2, donde la comparación relativa de la talla en rata desnutridas con relación a la nutrida se observa diferencia, así en la figura 3 se muestra la comparación entre los pesos final obtenidos en ratas nutridas, desnutridas, infectadas e inmunizadas, siendo menor el peso de las ratas DN que en las Nut, de forma similar eso ocurre en la figura 4 donde la talla de las ratas DN es menor comparadas con las Nut.



**Figura 2** Comparación de talla entre rata desnutridas y nutrida, las cuales estuvieron en tratamiento durante 57 días, la diferencia en talla es notoria, en donde la rata desnutrida alcanzó una talla máxima de 33 cm, y la rata nutrida alcanzó una talla máxima de 45 cm



**Figura 3** Comparación entre los pesos finales obtenidos en ratas nutridas, desnutridas, infectadas e inmunizadas.



**Figura 4** Comparación entre las tallas finales obtenidas en ratas nutridas, desnutridas, infectadas e inmunizadas.

**Tabla III**  
**Resultados del Análisis de varianza del peso de ratas nutridas, desnutridas, infectadas e inmunizadas**

Peso					
ANALISIS DE VARIANZA					
Tratamientos	Niveles	Valores			
T	8	1	2	3	4 5 6 7 8
R	10	1	2	3	4 5 6 7 8 9 10
Número de observación realizada					80
Número de observación usada					80

Peso					
ANOVA Procedimiento					
Variable: Y1					
Tratamiento	GL	Suma de cuadrados	cuadrado Medio	F calculada	Pr > F
Modelo	7	2314.250000	330.607143	158.64	<.0001
Error	72	150.050000	2.084028		
Total	79	2464.300000			
R-cuadrada	Coeff Var	Root MSE	Y1 Media		
0.939110	7.328001	1.443616	19.70000		

Tratamiento	GL	Anova SS	Cuadrado medio	F calculada	Pr > F
T	7	2314.250000	330.607143	158.64	<.0001

Peso					
ANOVA Procedimiento					
Variable: Y10					
Tratamiento	GL	Suma de cuadrados	cuadrado Medio	F calculada	Pr > F
Modelo	7	108.8968750	15.5566964	31.35	<.0001
Error	72	35.7250000	0.4961806		
Total	79	144.6218750			
R-cuadrada	Coeff Var	Root MSE	Y10 Media		
0.752977	1.844887	0.704401	38.18125		

Tratamiento	GL	Anova SS	Cuadrado Medio	F Value	Pr > F
T	7	108.8968750	15.5566964	31.35	<.0001



**Tabla IV**  
**Resultados del Análisis de varianza de la talla en ratas nutridas, desnutridas, infectadas e inmunizadas**

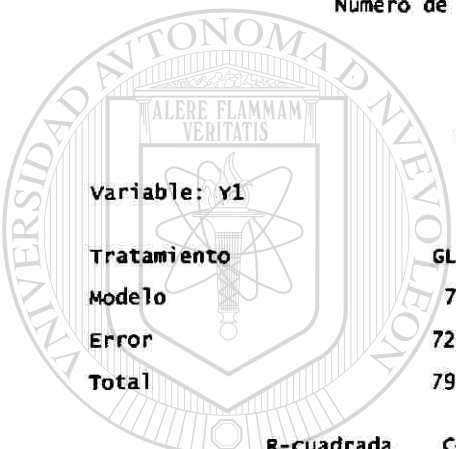
---

Talla

ANALISIS DE VARIANZA

Tratamientos	Niveles	Valores	
T	8	1 2 3 4 5 6 7 8	
R	10	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	

Número de observación realizadas 80  
 Número de observación usadas 80



Talla  
ANOVA Procedimiento

Variable: Y1

Tratamiento	GL	Suma de Cuadrados	cuadrado Medio	F calculada	Pr > F
Modelo	7	32925.35000	4703.62143	75.21	<.0001
Error	72	4502.60000	62.53611		
Total	79	37427.95000			

R-cuadrada	Coeff Var	Root MSE	Y1 Media
0.879700	12.45841	7.907978	63.47500

---

Tratamiento	GL	Anova SS	cuadrado medio	F Calculada	Pr > F
T	7	32925.35000	4703.62143	75.21	<.0001

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Talla  
ANOVA Procedimiento

Variable: Y10

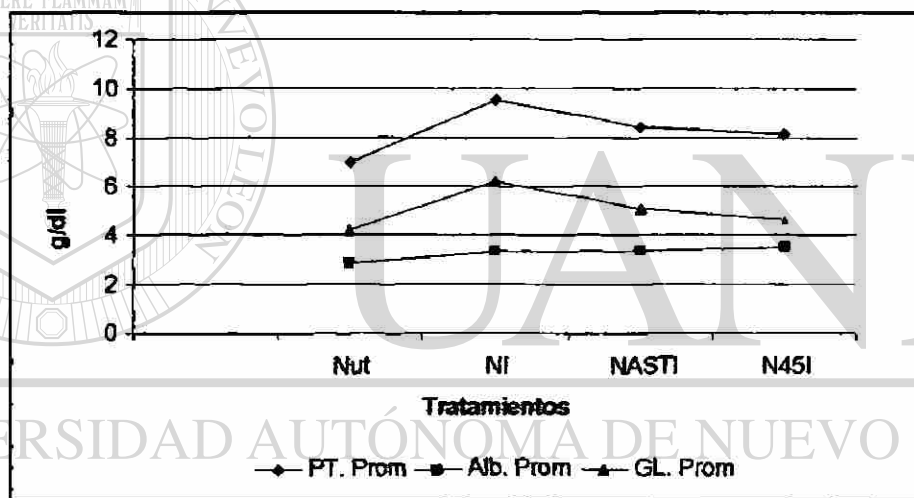
Tratamiento	GL	Cuadrados	cuadrado Medio	F calculada	Pr > F
Modelo	7	76185.88750	10883.69821	44.34	<.0001
Error	72	17675.10000	245.48750		
Total	79	93860.98750			

R-cuadrada	Coeff var	Root MSE	Y10 Media
0.811689	6.528010	15.66804	240.0125

Tratamiento	GL	Anova SS	cuadrado medio	F Calculada	Pr > F
T	7	76185.88750	10883.69821	44.34	<.0001

---

Con la utilización de la técnica de albúmina/globulina se obtuvieron los siguientes resultados los que se muestran en la figura 5. Las ratas con el tratamiento de nutridos control sano (NCS) obtuvieron la menor concentración de PT, Alb y GL., que fue de 7.3g/dl, 2.86 g/dl y 4.19 g/dl respectivamente, en todos los grupos de estudio. Mientras que para las ratas nutridas infectadas (NI) fueron las que obtuvieron la mayor cantidad de PT y de GL que fue de 9.54 g/dl y 6.18 g/dl respectivamente, en la Alb fue de 3.35 g/dl. En las ratas nutridas tratadas con AST e infectadas (NASTI) obtuvieron 8.43 g/dl de PT, 3.33 g/dl de Alb y 5.1 g/dl de GL. En las ratas nutridas tratadas con el inmunógeno de 45 kDa e infectadas (N45I), obtuvieron 8.12 g/dl de PT, de Alb 3.49 g/dl y 4.66 g/dl de GL. Por lo que se observa que los CNS obtuvieron menor cantidad de PT, Alb y GL



**Figura 5** Promedio de proteínas totales (PT), albúmina (Alb) y globulina (GL) en ratas nutridas, inmunizadas e infectadas.

**Tabla V**

**Resultados de la albúmina/globulina en ratas nutridas**

Tratamiento	Proteína total Promedio	Albumina promedio	Globulina promedio
Nut	7.03	2.86	4.19
NI	9.54	3.35	6.18
NASTI	8.43	3.33	5.1
N45I	8.12	3.49	4.66

La figura 6 arroja los siguientes resultados. Las ratas desnutrida control sano (DNCS) obtuvieron la menor concentración de PT, y de GL., que fue de 5.39 g/dl, y 2.37 g/dl respectivamente y en la Alb fue de 3.04 g/dl, mientras que para las DNI obtuvieron PT de 6.46 g/dl, la Alb de 2.91 y de GL fue 4.5 g/dl concentración más alta. En las DNASTI obtuvieron 6.39 g/dl de PT, 3.23 g /dl de Alb y 3.15 g/dl de GL. En las ratas DN45I, obtuvieron 4.67 g/dl de PT, de Alb 3.26 g/dl y 3.89 g/dl de GL.

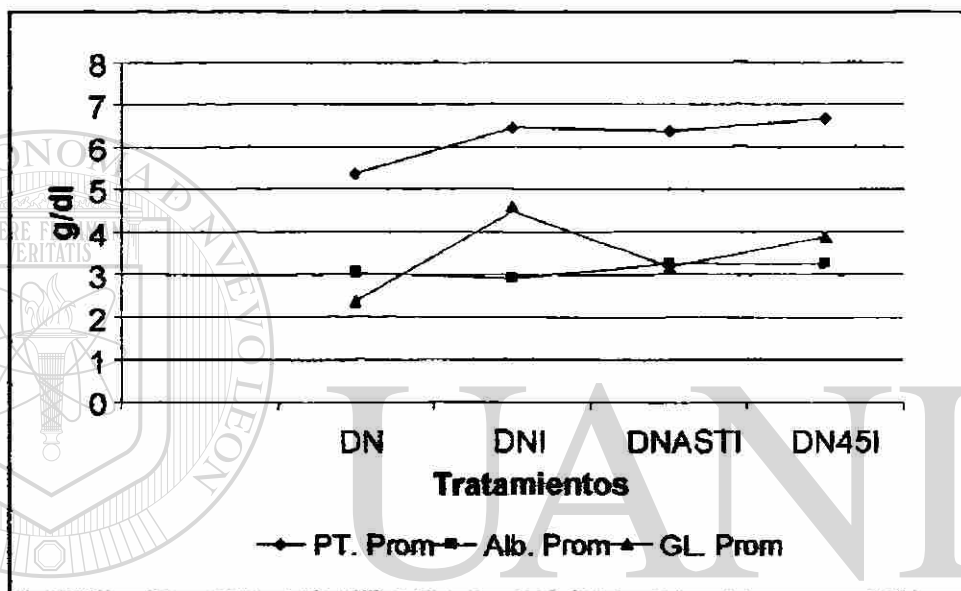


Figura 6 Promedio de las proteínas (PT), albúmina (Alb), globulina (GL) en ratas desnutridas, inmunizadas e infectadas.

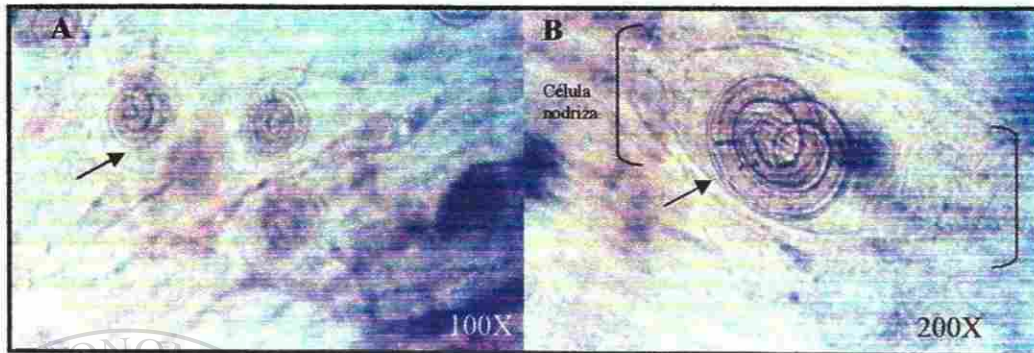
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Tabla VI

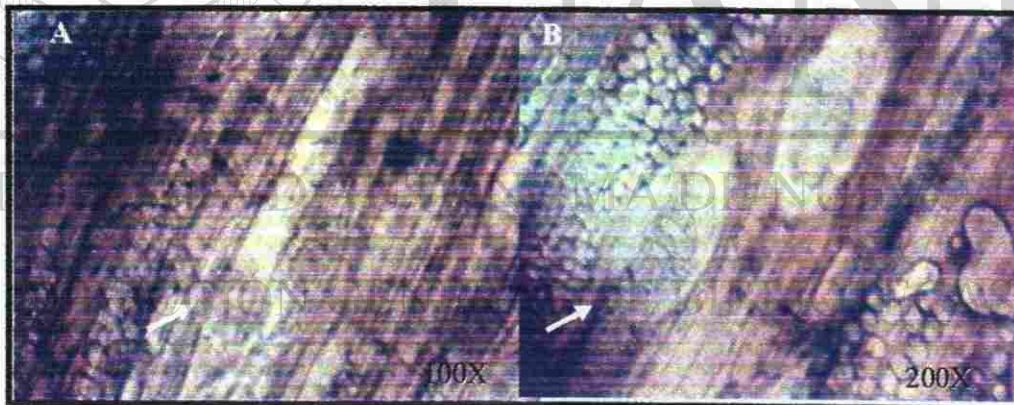
Resultados de la albúmina/globulina en ratas desnutridas

Treatmento	Proteína total Promedio	Albúmina promedio	Globulina promedio
DN	5.39	3.04	2.37
DNI	6.46	2.91	4.5
DNASTI	6.39	3.23	3.15
DN45I	6.67	3.26	3.89

Al utilizar la técnica de compresión de tejidos, se observó los siguientes resultados:  
no se observa la LI de *T. spiralis* en los grupos controles Nut y DN sin infección.

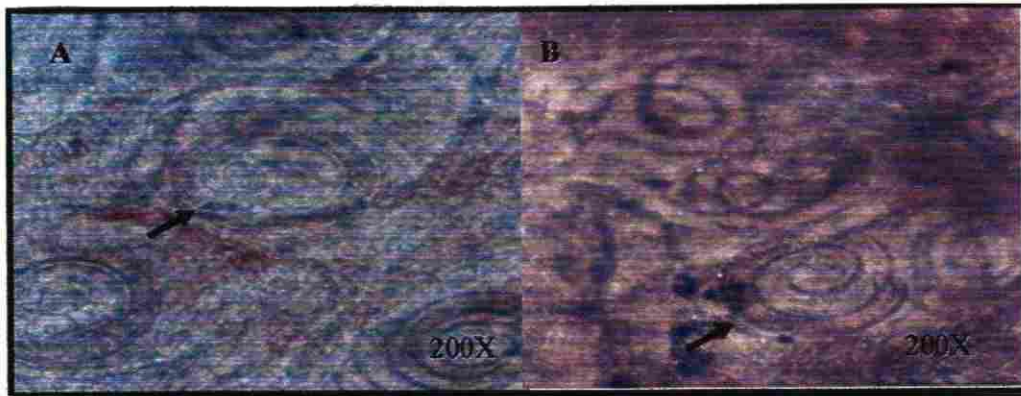


**Figura 7** Muestra de tejido infectado de rata nutrida, en la cual se aplicó la técnica de compresión, en la figura A se observa la presencia de la larva infectante en masetero (flecha), la imagen B muestra a mayor aumento las características morfológicas propias de la larva infectante (flecha) y de la célula nodriza (entre corchetes).

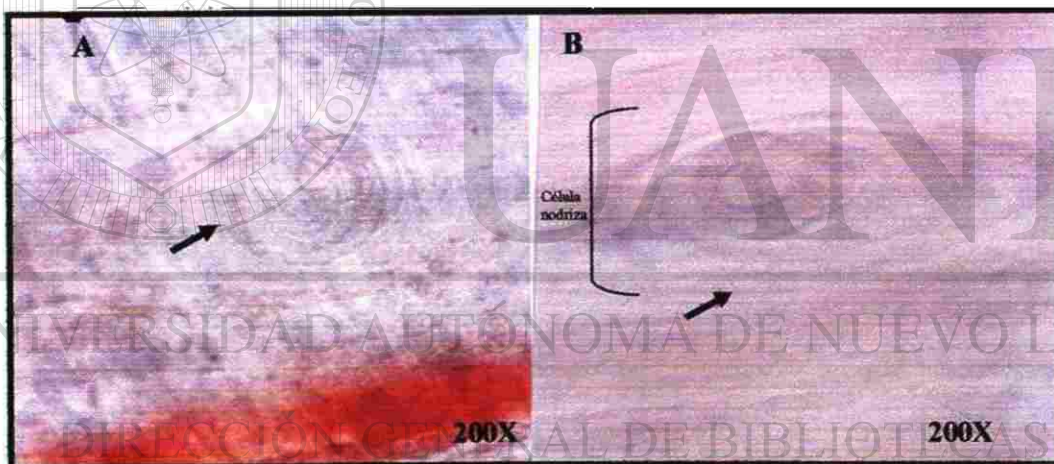


**Figura 8** Muestra de tejido infectado de rata desnutrida, en la cual se aplicó la técnica de compresión, en la figura A se observa la presencia de la larva infectante en masetero (flecha), la imagen B muestra a mayor aumento las características morfológicas propias de la larva infectante.

160683



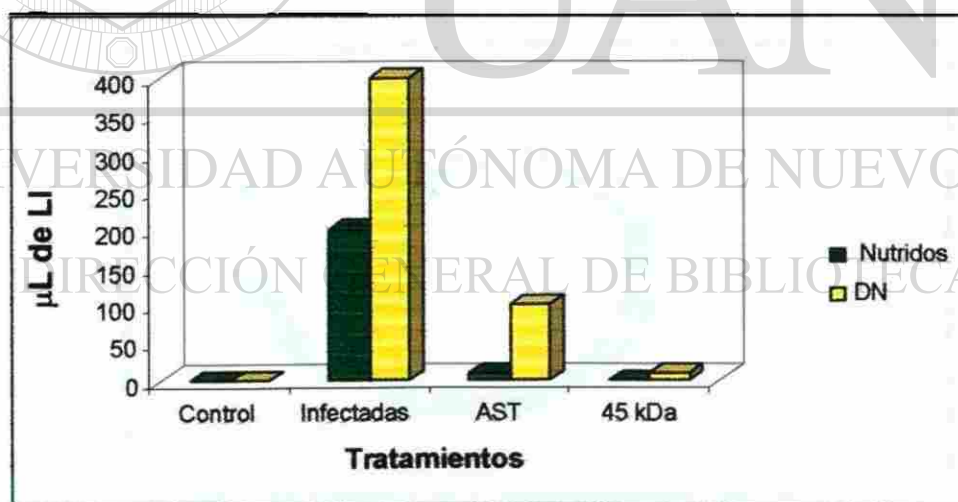
**Figura 9** Tejido de rata nutrida inmunizada con AST e infectadas; en A se observa la presencia de larvas infectantes modificadas en su morfología de la célula nodriza, mientras que en B se observa a *T. spiralis* sin célula nodriza pierde su morfología característica en espiral.



**Figura 10** Tejido de rata desnutrida inmunizada con AST e infectadas; en A y B se observa la presencia de larvas de *T. spiralis* infectantes modificadas en su morfología de la célula nodriza.

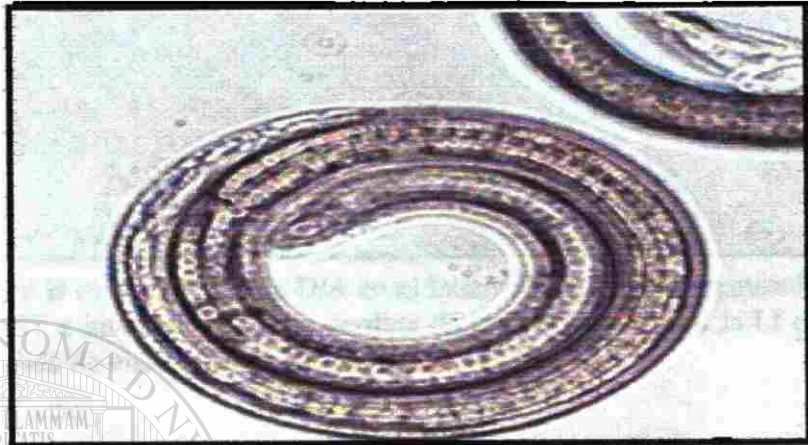
Los resultados obtenidos con la técnica de D/A, en los diferentes tratamientos, de las ratas Nut, y ratas DN, inmunizadas e infectadas, mostró la cantidad de LI que estuvieron presentes en 30 g de músculo estriado.

En la figura 13 se observan los resultados obtenidos de D/A de 30 g de tejido muscular de ratas Nut y DN, ambas infectadas e inmunizadas; los grupos controles de ratas Nut y DN sin infección no presentaron LI, y en los grupos de ratas Nut infectadas, se recolectaron 200  $\mu$ L de LI, de igual forma del grupo de ratas DN infectadas se recolectaron 400  $\mu$ L de LI. Al ser utilizado el tratamiento de Nut inmunizadas con AST e infectadas, se recolectaron 10  $\mu$ L de LI, mientras que en las ratas DN se recuperaron 100  $\mu$ L de LI. Así también para el tratamiento de ratas Nut inmunizadas con inmunógeno de 45 kDa más infección de *T. spiralis*, no presentó paquete de LI, mientras que en las ratas DN se recuperaron 10  $\mu$ l de LI. Estos resultados muestran claramente el efecto protector del inmunógeno de 45 kDa sobre ratas tanto Nut como DN infectadas con *T. spiralis*.



**Figura 13** Comparación del efecto protector del AST y del inmunógeno de 45 kDa en ratas Nut y DN ambas infectadas e inmunizadas.

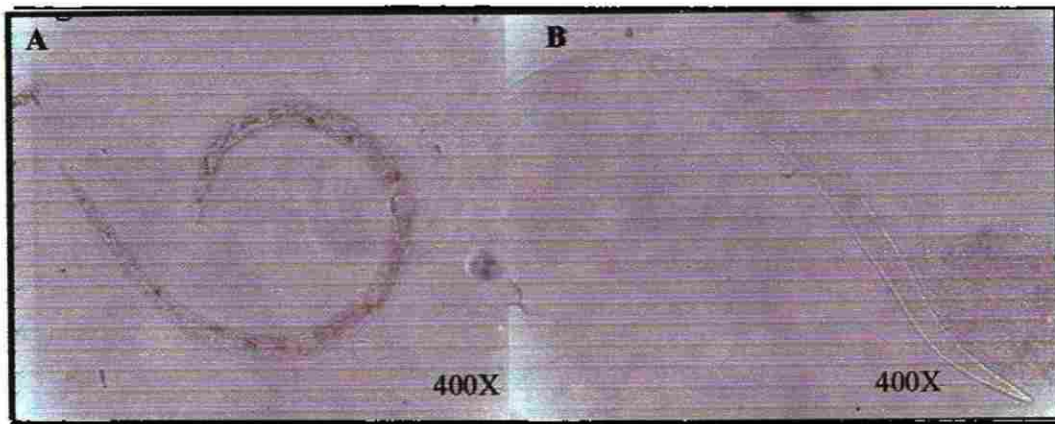
Con la realización de la técnica de D/A se demostró diferencia en la morfología que presentaron las LI, dependiendo del tratamiento utilizado.



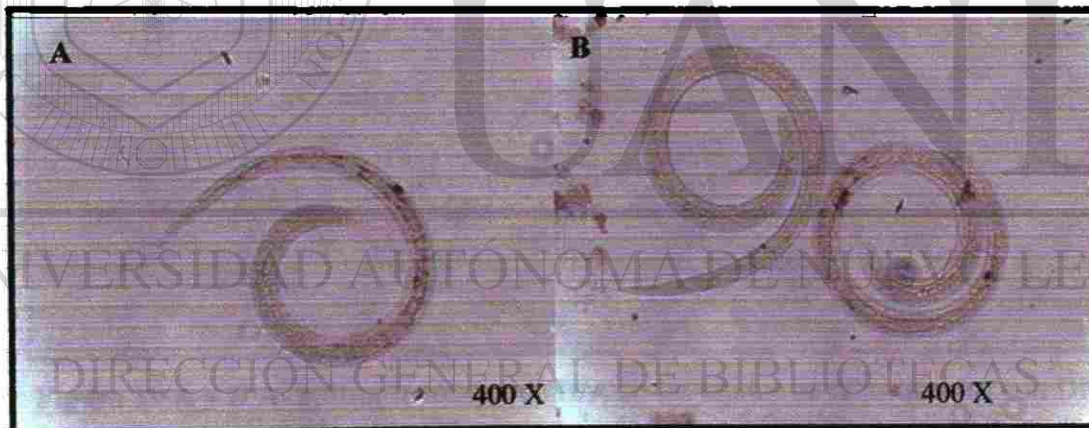
**Figura 14** Se observa mediante la técnica de D/A en tejido de ratas tratadas con Nut e infectadas, a las LI con su estructura morfológica propia de la *T. spiralis*, observados a 400X.



**Figura 15** Con la técnica de D/A se observó en tejido de ratas tratadas con DN infectados, el inicio de la pérdida en espiral propia de la LI. observados a 400X.

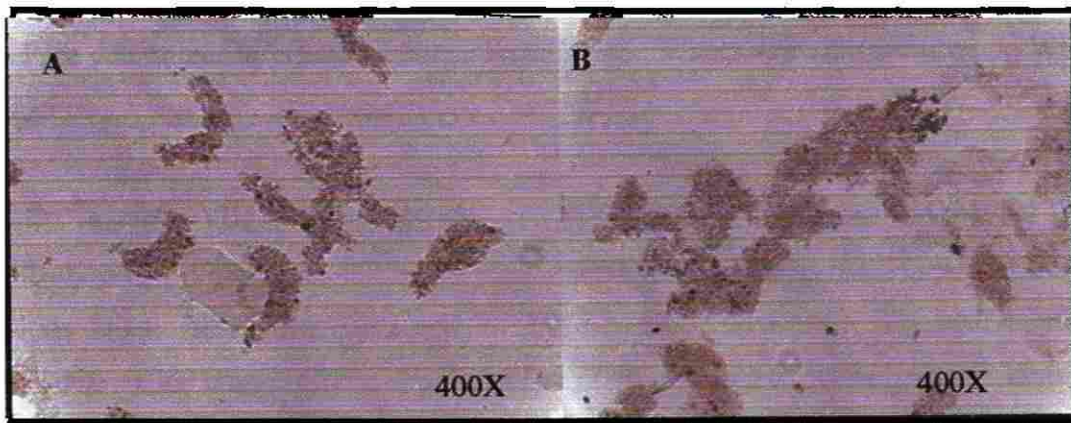


**Figura 16 A y B** con la técnica de D/A en el tratamiento de Nut inmunizados con AST e infección, muestra pérdida de la forma en espiral la LI e inicia salida de material de la LI.

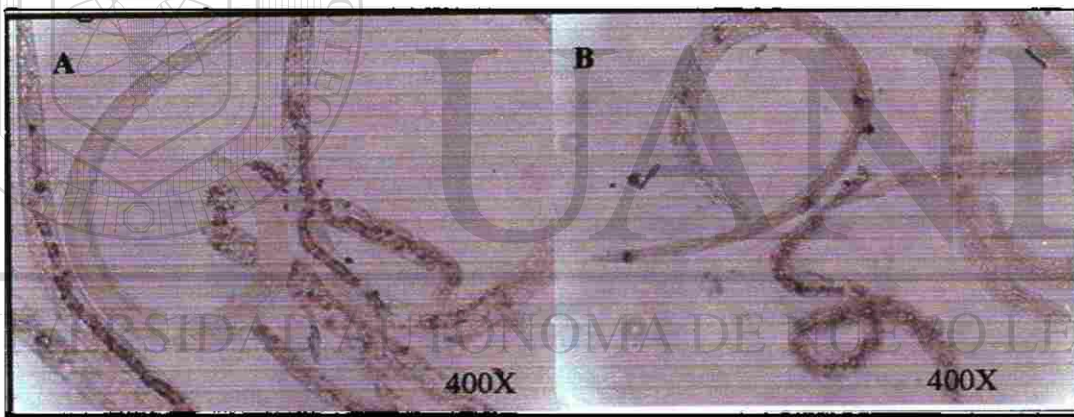


**Figura 17A y B** con técnica de D/A de tejido de las ratas tratadas con DN inmunizadas con AST e infectadas, se observó el inicio de la pérdida de su forma características en espiral de las *T. spiralis*





**Figura 18 A y B** En la D/A del tratamiento nutrido e inmunizado con inmunógeno de 45 kDa e infección, no se observó presencia de la LI de *T. spiralis*, solo se encontró fragmentos de ella.



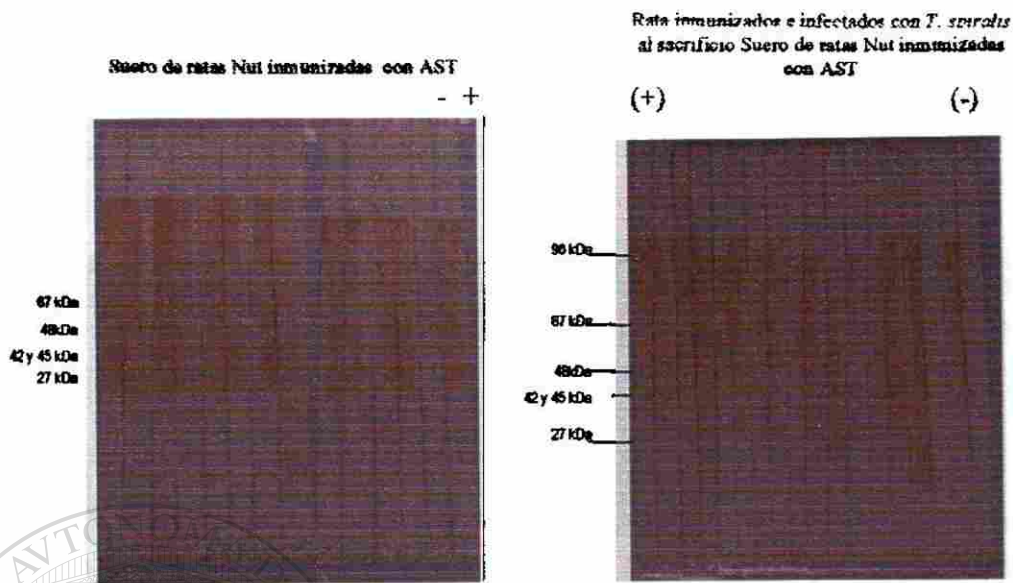
**Figura 19 A y B** Al utilizar la técnica de D/A en los tejidos de ratas tratadas con DN e inmunización con inmunógeno de 45 kDa e infección, se observó ausencia de la morfología característica de las LI, encontrando a las LI de *T. spiralis* deshidratadas

Para determinar la presencia de Ab anti- *T. spiralis* se realizó las técnicas de WB e IFI.

En la tabla VII, se presentan los resultados obtenidos con la técnica del WB utilizando una dilución de 1:1000. En los resultados se observa que los sueros de los grupos de animales Nut y DN sin infección presentan una respuesta negativa, mientras en sueros de los grupos de Nut y DN infectados los resultados fueron positivos tanto en los tratamientos post-inmunización como al sacrificio. Así mismo, en los grupos tratados con inmunización de AST, presentaron Ab tanto post- inmunización como al sacrificio. Para los grupos inmunizados con el inmunógeno de 45 kDa, solamente 4 animales presentaron el bandeo del triplete característico para *T. spiralis* post-inmunizados, mientras que al sacrificio en todo el grupo de ratas se detectó el bandeo característico Ab anti-*T. spiralis*.

**Tabla VII**  
**Resultados del WB**

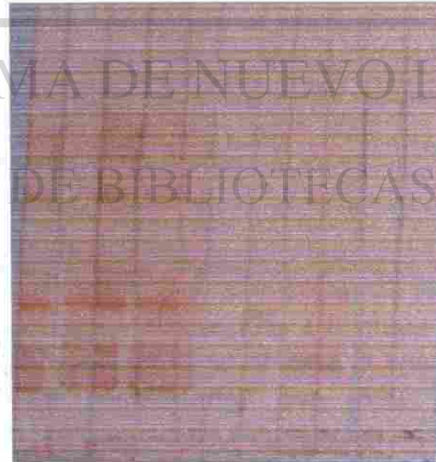
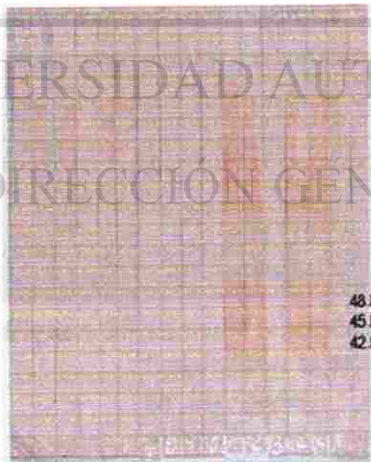
Tratamientos	Post-inmunización	Sacrificio
Nut Control negativo	-	-
DN Control negativo	-	-
Nut Infección positivo	+	+
DN Infección positivo	+	+
Nut + AST Infección	+	+
DN + AST Infección	+	+
Nut + 45kDa Infección	+ (n= 4)	+
	(43, 45, 48 kDa)	
DN + 45kDa Infección	-	+



**Figura 20** En el WB de muestra de suero de ratas Nut e inmunizadas con AST se observan las bandas características de *T. spiralis*, de igual forma en el WB con muestra de suero de rata inmunizados e infectados con *T. spiralis* al sacrificio se observa el bandeo característico para *T. spiralis*.

Suero de ratas inmunizadas con 45 kDa

Suero de ratas inmunizadas con 45 kDa e infectadas con *T. spiralis*



**Figura 21** En el WB de muestra de suero de rata Nut e inmunizadas con 45kDa sólo se observan las bandas características del triplete 42, 45 y 48 kDa de *T. spiralis* en cuatro muestras, de igual forma en el WB con muestra de suero de rata inmunizados e infectados con *T. spiralis* al sacrificio se observa el bandeo característico para *T. spiralis*.

Con la técnica de IFI por microscopía confocal, con diluciones de 1:100 en sueros de ratas con diferentes tratamientos, Nut, DN, inmunizadas e infección, se obtuvieron los resultados mostrados en las figuras 22 y 23.



**Figura 22** Inmunofluorescencia de ratas nutridas y desnutridas empleando la técnica IFI.

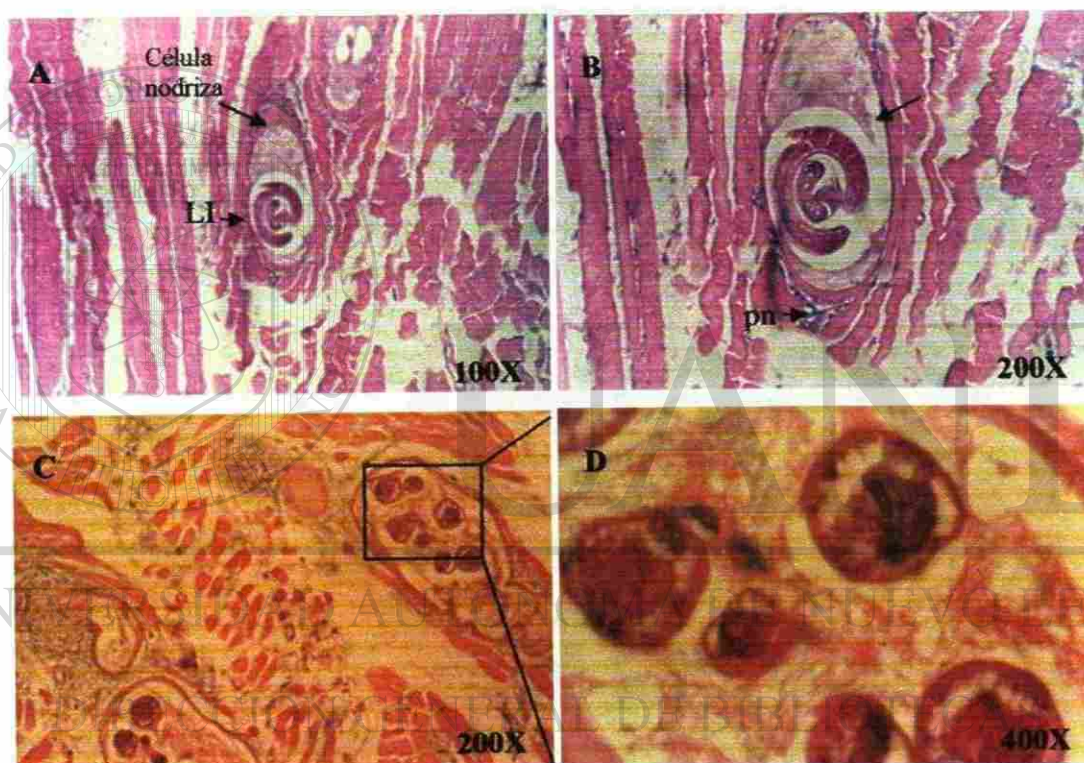
En la técnica de IFI de los sueros de ratas Nut (A) y DN sin infección (B), se observó resultados negativos, no presentando fluorescencia (A y B), solamente presentaron inmunofluorescencia inespecífica propia del parásito. En la imagen correspondiente a los sueros de animales Nut infectados fueron positivos (C) haciéndose evidente el reconocimiento Ag-Ab (anti IgG), expresado mediante la intensa fluorescencia en la superficie (cutícula) de la larva de *T. spiralis*. En la muestra de sueros de animales DN infectados (D) mostraron una reacción positiva y de manera similar se observó reconocimiento Ag-Ab, expresado por la fluorescencia en la superficie (cutícula) de la larva de *T. spiralis* (10X)



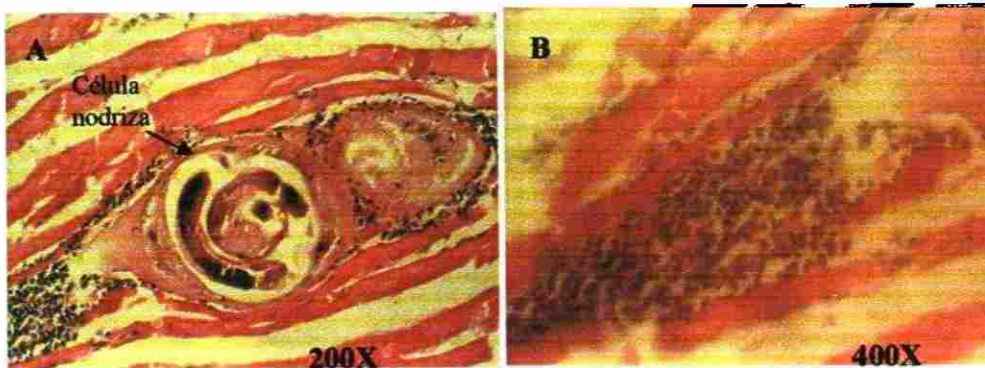
**Figura 23** Inmunofluorescencia de ratas nutridas y desnutridas e inmunizadas.

Empleando la técnica de IFI, en la imagen A se observa la reacción de los sueros de ratas Nut inmunizados con AST más infección, en la cual es evidente la presencia de Ab, expresado por la fluorescencia en la superficie de LI y en interior de ella (cavidad celómica); en la imagen B correspondiente a los sueros de animales DN inmunizados con AST más infección se observaron los esticocitos de la LI y la presencia de Ab; en la imagen C correspondiente a sueros de ratas Nut inmunizadas con el inmunógeno de 45 kDa más infección se observó el reconocimiento Ag-Ab, haciéndose presente la fluorescencia en la superficie de la LI. En comparación con sueros de animales DN inmunizados con inmunógeno de 45 kDa más infección (D) se detectó unión Ab anti *T. spiralis* a través de la fluorescencia tenue (10X).

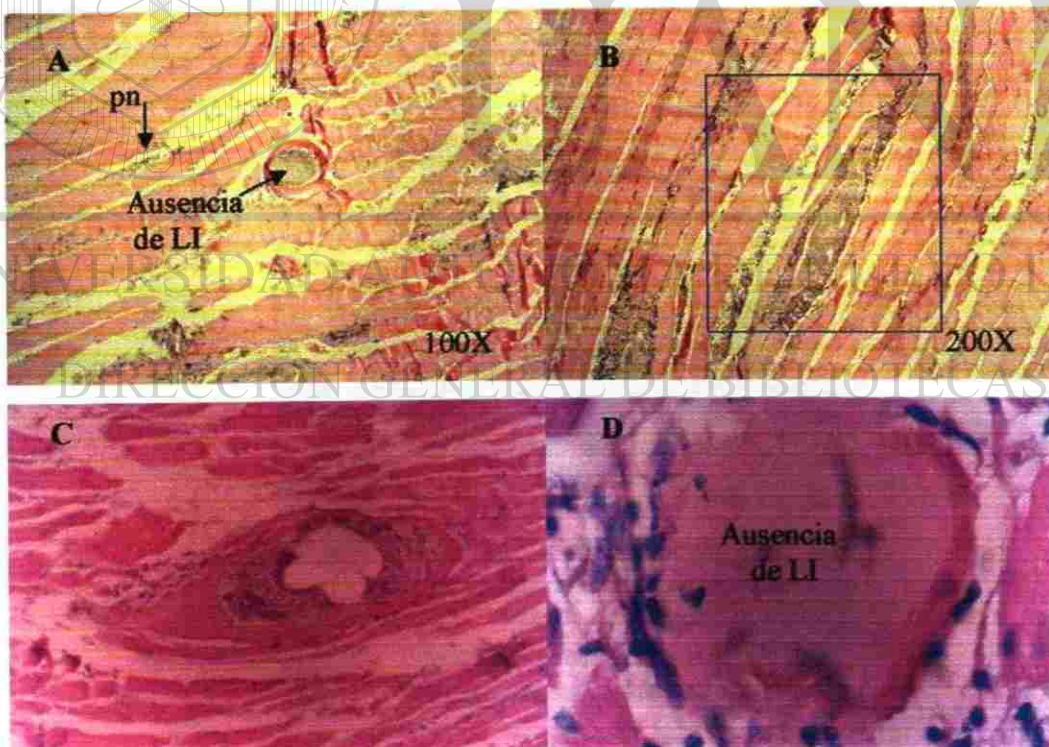
Con el propósito de observar y evaluar la implantación de las LI en tejido muscular de rata se empleó la técnica de hematoxilina-eosina, en las imágenes observadas al microscopio óptico es evidente la presencia de polimorfonucleares (pn) como se observa en las figuras 24, 25, 26, 27 y 29, excepto en la figura 28 la cual corresponde a muestra de tejido de ratas Nut inmunizadas con inmunógeno de 45 kDa e infección. Los resultados obtenidos se observan en la figura y 28. También es evidente en todas las imágenes la presencia de la LI dentro de su célula nodriza



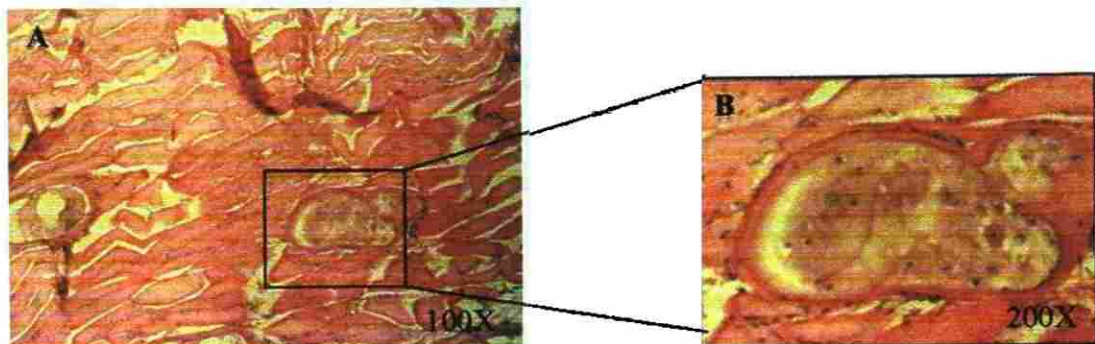
**Figura 24** Corte transversal correspondiente a muestras de tejido muscular de ratas Nut e infectadas las cuales se tiñeron con la técnica de hematoxilina y eosina, en las cuales se observó la presencia de polimorfonucleares (pn) y al sitio de implantación de la LI y su célula nodriza como se observa tanto en la imagen A , B y C. La imagen D corresponde al recuadro marcado en C, en donde se observa un acercamiento de la característica de implantación de la *T. spiralis*.



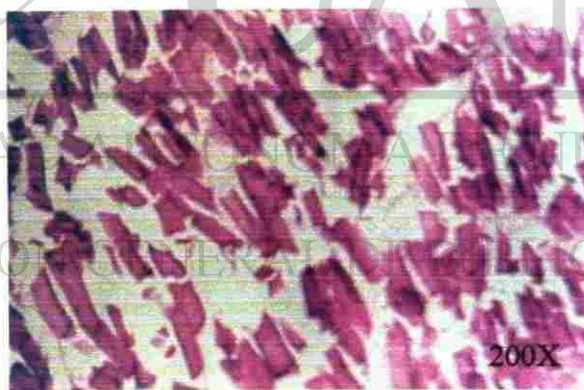
**Figura 25** Corte transversal correspondiente a muestras de tejido muscular de ratas DN e infectadas las cuales se tiñeron con la técnica de hematoxilina y eosina, en las cuales se observó la presencia de polimorfonucleares (pn) rodeando a la célula nodriza en el sitio de implantación de la LI de *T. spiralis* (A), en las imágenes B y C se observa la presencia de abundantes polimorfonucleares (pn).



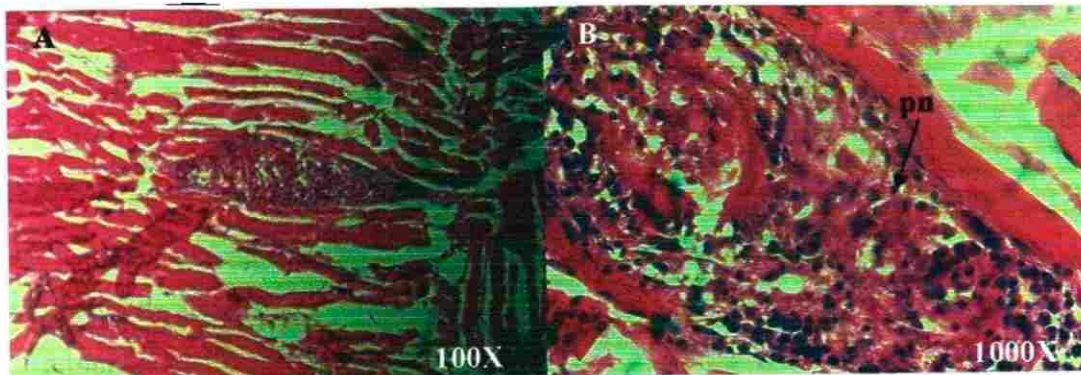
**Figura 26** Corte transversal de músculo estriado de ratas Nut inmunizadas con AST e infección, en las cuales se observó la presencia de polimorfonucleares (pn) en el sitio de implantación de la LI, también se observó pérdida de la anatomía morfológica de la célula nodriza (recuadro en imagen B) por otra parte también se vio alterada la implantación de LI. En las imágenes B, C y D es muy evidente la pérdida de la LI de *T. spiralis*. En la imagen C es muy evidente la



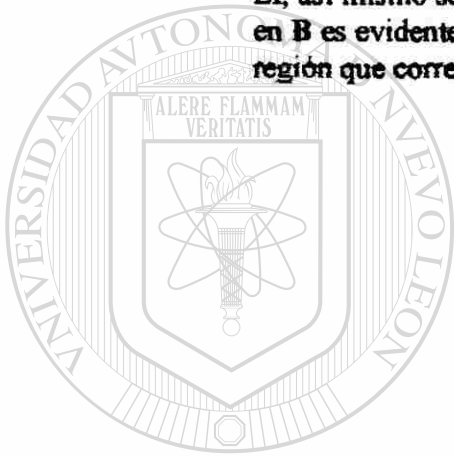
**Figura 27** En tejido muscular de ratas DN inmunizadas con AST e infección, se observó la pérdida total de la anatomía morfológica e implantación de LI, la célula nodriza se observó con modificaciones y el tejido adyacente perdió su morfología, en B se muestra la imagen ampliada del recuadro en A.



**Figura 28** En tejido muscular de ratas Nut inmunizadas con inmunógeno de 45 kDa e infección, presenta pérdida total de la LI, el tejido muscular se ve afectado.



**Figura 29** En tejido muscular de ratas DN inmunizadas con inmunógeno de 45 kDa e infección, se observó la pérdida de la morfología de la implantación de LI, así mismo se observó la célula nodriza con modificación importantes, en B es evidente la presencia de polimorfonucleares (pn) infiltrados en la región que correspondería a la célula nodriza.



# UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



## 8. DISCUSIÓN

En el presente estudio se obtuvieron los resultados del análisis de varianza para efecto de la relación de peso y talla significativa con un  $P < 0.01$ , en el grupo de animales Nut y DN y entre ellos. Se observó que fue significativo con una  $P < 0.01$  a través del período de estudio. Los resultados obtenidos muestran que la relación relativa de las ratas controles, infectadas, tratadas con AST y antígeno de 45 kDa, fue menor el peso de las ratas DN que las Nut, de manera similar ocurre en la talla de las ratas DN al ser comparadas con las Nut siendo menor en los diferentes tratamientos, estos datos concuerdan con los resultados obtenidos por Maldonado *et al.*, 2007.

Los resultados obtenidos al aplicar la técnica de albúmina/globulina, las ratas tratadas con Nut sin infección presentaron menor concentración de proteína totales (PT), albúmina (Alb) y globulina (GL) de 7.3g/dl, 2.86 g/dl y 4.19 g/dl respectivamente, mientras que en las ratas Nut infectadas se obtuvieron la mayor concentración de PT, y de GL de 9.54 g/dl y 6.18 g/dl respectivamente, mientras que la Alb fue menor obteniéndose 3.35 g/dl. En los tratamientos de Nut e inmunizadas con AST e infectadas se obtuvieron 8.43 g/dl de PT, 3.33 g /dl de Alb y 5.1 g/dl de GL. Mientras que el tratamiento con Nut e inmunizadas con el inmunógeno de 45 kDa e Infectadas, obtuvieron 8.12 g/dl de PT, de Alb 3.49 g/dl y 4.66 g/dl de GL. Por lo que se observó que en las ratas Nut se obtuvo menor cantidad de PT, Alb y GL en comparación con todos los tratamientos (tabla V). Los resultados de los tratamientos de las ratas DN sin infección presentaron una menor concentración de PT, y de GL. (5.39 g/dl, y 2.37 g/dl respectivamente) y en la Alb de 3.04 g/dl, en las ratas tratadas con DNI (desnutrición e infección) se obtuvo 6.46 g/dl de PT, 2.91 Alb. y 4.5 g/dl GL, mientras que los DNASTI (desnutridos inmunizados con AST e infectados) se obtuvo 6.39 g/dl de PT, 3.23 g /dl de Alb y 3. 15 g/dl de GL. En las ratas tratadas con DN45I (desnutridas-inmunizadas con inmunógeno de 45 kDa) se obtuvo 6.67 g/dl de PT, de Alb 3.26 g/dl y 3.89 g/dl de GL. Los datos anteriores son el resultado de tres eventos independientes por

triplicado, los cuales se observan en las figuras 5 y 6 y en las tablas V y VI, cabe recalcar que estos resultados es necesario que se vuelvan a corroborar por otros grupos de investigación, ya que de momento es imposible compararlo debido a la ausencia de antecedentes para este tipo de trabajos realizados en ratas, ya que en humanos sí está reportado la relación que guarda la concentración de proteínas totales en proporción a la presencia de albúmina y globulina, tal como lo ha reportado Vega FL. 1999.

Con las técnicas de compresión de tejidos, hematoxilina y eosina, se observó en el grupo Nut inmunizado con AST la ausencia de la célula nodriza de la LI, de manera similar se comportó el grupo ratas DN, tal como se observa en las figuras 9, 10, 11, 12, 26, 27 28 y 29, estos resultados son semejantes a los reportados por Moreno *et al.*, 1996.

En las ratas tratadas Nut e inmunizadas con el inmunógeno de 45 kDa Nut no se presentó la LI, tal como se observa en las figuras 11, 18 y 28, mientras que en el grupo de ratas DN se observó poca cantidad de ella, tal como se observa en las figuras 12, 19 y 29. Estos resultados concuerdan parcialmente por los reportados por Maldonado *et al.*, 2007.

En los resultados obtenidos con la técnica de D/A (digestión artificial) se observó que en los grupos controles de ratas Nut y DN sin infección, no presentaron LI, mientras que en los grupos de ratas Nut Infeccionadas se recolectaron 200  $\mu$ l de LI y en el grupo de ratas DN infectadas se recolectaron 400  $\mu$ l de LI, tal como se observa en la figura 13, estos datos son concordantes con los obtenidos por Reveles *et al.*, 2000 y por Moreno *et al.*, 1994 y 1996.

De acuerdo con los resultados reportados con Reveles *et al.*, 2000, con respecto a la implantación de la LI con la utilización del AST en murinos, nuestros resultados son semejantes cuando empleamos ratas Nut inmunizadas con AST e infectadas de las cuales se recolectó menor cantidad de LI en las ratas inmunizadas con AST comparadas con las ratas no inmunizadas, tal como se observa en la figura 13.

Para el tratamiento de ratas Nut inmunizadas con antígeno de 45 kDa más infección de *T. spiralis*, no presentó LI y en las ratas tratadas con DN sí presentó LI modificadas en su morfología, estos resultados se aprecian en las figura 11, 13, 28 y 29. Estos resultados hasta ahora representan un gran avance para el estudio de la implantación de la LI, los cuales podrían representar un modelo de estudio para el diseño de vacunas anti *T. spiralis*.

Con la técnica de WB en el grupo de AST, se observó la presencia de Ab post-inmunización y al sacrificio (tabla VII, figura. 20), mientras que en el grupo inmunizado con inmunógeno de 45 kDa cuatro animales fueron positivos pos-inmunización y al sacrificio se detectó Ab anti *T. spiralis* en todo el grupo de estudio como se observa en la tabla VII y figura 21, estos datos concuerdan con los reportados por Reveles *et al.*., 2000 y por Moreno G., 1994. Los resultados del presente estudio demostraron que el inmunógeno de 45 kDa en ratas DN y Nut disminuyó la carga parasitaria, lo cual se comprobó con las técnicas de D/A, H/E y con la técnica de compresión de tejidos. Por la técnica de WB se detectó el bandedo del triplete característico de *T. spiralis* en los grupos inmunizados, presentando la reacción de Ag-Ab, dando protección tanto a las ratas Nut como DN que fueron tratadas con el inmunógeno de 45 kDa. Estos resultados son una gran aportación al estudio de *T. spiralis* en modelo murino Nut y DN, debido que hasta el momento no existe literatura que trate de estudios con el inmunógeno de 45 kDa, y esta información podría servir de base para realizar investigación empleando otros modelos animales involucradas en el ciclo de vida de *T. spiralis*.

*Trichinella spiralis* posee características particulares inmunológicas, por lo que se le ha dedicado especial atención a la caracterización de los 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 la cutícula (superficie del parásito) reportados por Takahashi *et al.*, 1990.

Con la técnica de IFI con microscopia confocal los resultados obtenidos en el grupo de ratas inmunizadas con AST, presentó Ab post- inmunización al sacrificio en sueros de ratas Nut y DN, la fluorescencia se presentó en la superficie de la LI y en el interior

de ella (fig. 22), por otra parte en el grupo inmunizado con el inmunógeno de 45 kDa en el grupo Nut y DN la fluorescencia estuvo presente tanto en animales post-inmunizados como al sacrificio, detectando así Ab anti -*T. spiralis* expresados por la fluorescencia en sueros de ratas DN, tal como se aprecia en la figura 23.

Despommier *et al.*, 1991, Demostraron que los esticositos de los cinco grupos, contienen gránulos, los cuales contiene cuatro diferentes antígenos definidos por técnicas de inmunodifusión doble. Posteriormente en estudios se observaron los antígenos mayores de los gránulos de esticocitos con peso molecular de 43, 48 y 50/55 kDa, el antígeno de 43 kDa se le relaciona con la formación de la célula nodriza, por lo que con los resultados del presente estudio se pudo comprobar que el inmunógeno de 45 kDa sí se relaciona con la formación de la célula nodriza, ya que en los animales tratados con el inmunógeno carecían de célula nodriza (véase figura 29).

Moreno, G., 1994. En un estudio en ratones inmunizados con el antígeno de 48 kDa, indicó que disminuyó la cantidad de LI en músculo comparándolo con el AST, aunque el inmunógeno de 48 kDa pierde actividad inmunogénica, comparado con el AST; esto se puede deber a que el antígeno de 48 kDa pertenece al 1% de las proteínas del AST. En el presente estudio se utilizó el inmunógeno de 45 kDa con el cual se obtuvo la disminución de carga parasitaria de LI en músculo de rata tanto en ratas DN como en las ratas Nut. Al comparar estos resultados con los obtenidos con el AST el inmunógeno de 45 kDa presenta una mayor actividad inmunoprotectora (véase fig. 13) al no perder actividad inmunológica, como sucede con el antígeno de 48 kDa, por lo que se le consideró como mejor inmunoprotector.

En modelo experimental murino se han realizado estudios de la respuesta específica, de los antígenos con pesos molecular de 43, 45 y 48 kDa, los cuales aumentan la vascularización, acumulo de grasa y polimorfonucleares, los cuales producen alteración en la morfología de la célula nodriza. En los animales inoculados con los antígenos de 43, 45 y 48 kDa, disminuyó la masa muscular, en animales infectados con *T. spiralis* y aumentó la respuesta inmune a *T. spiralis*, modificando la célula nodriza (Gold y

Despommier, 1997; Moreno *et al.*, 1996b). En los resultados obtenidos en este trabajo al analizar los cortes de tejido muscular, no presentó acumulos de grasa, pero sí presentó aumento de vascularización y desapareció la célula nodriza al aplicar el inmunógeno de 45 kDa en animales nutridos y en los desnutridos se apreció la LI modificada solamente en su estructura morfológica, sin embargo se mantuvo presente en el tejido, pero en menor cantidad con respecto a los infectados sin inmunización, lo cual es un indicio de que aún en las ratas desnutridas sí se despertó la respuesta inmune, comprobando así lo postulado en la hipótesis de este trabajo. Gold y Despommier, 1997 indicaron que en animales a los que se les aplican antígenos con pesos moleculares de 43, 45 y 48 kDa es característica la disminución de la masa muscular y la modificación de la respuesta inmune, ya que esta última se aumenta o se potencializa debido al triplete antes mencionado en animales infectados con *T. spiralis*, en los cuales aumenta la respuesta inmune a *T. spiralis* y modifica la célula nodriza. El presente trabajo concuerda con estos autores en la modificación que sufre la célula nodriza cuando se aplicó el inmunógeno de 45 kDa tanto en animales nutridos como en desnutridos (véase figuras 28 y 29).

Moreno *et al.*, 1996b; demostraron que los antígenos de *T. spiralis* son reconocidos por anticuerpos de tipo IgG del huésped que reaccionan con el esticosoma, los anticuerpos IgM reaccionan con la cutícula del parásito, mientras que los anticuerpos de IgA reaccionan con antígenos de superficie corporal de la larva, dando pesos moleculares de 96, 67, 63, 55, 47 y 43 kDa. En el presente estudio mediante la técnica de IFI se pudo demostrar que al aplicar el inmunógeno de 45 kDa en animales nutridos como en desnutridos se observó la unión de antígeno anticuerpo en la superficie de la LI (véase figura 22). Sin embargo con la técnica de hematoxilina y eosina se observó la disminución o eliminación del parásito al utilizar el inmunógeno de 45 kDa, en el músculo (figura 28), por lo cual se consideró que el inmunógeno jugó un papel protector contra la infección por *T. spiralis*, estos resultados concuerdan con los obtenidos por Moreno *et al.*, 1996.

Existen estudios sobre la llegada de la LRN (larva recién nacida) a músculo y su enquistamiento de la LI donde evade la respuesta inmune del huésped, no existe tratamiento alternativo para remover las LI, por lo cual Reveles *et al.*, 2000a, realizaron estudios sobre la inmunoterapia utilizando AST, con el que se obtuvo un efecto sobre la respuesta inmune en contra de la *T. spiralis*, donde mejoraba el estado físico del animal estableciendo un campo de estudio en el tratamiento de la parasitosis. Al utilizar la inmunización con AST aumentaron 10 g de peso promedio los animales. En la técnica de WB se detectó la presencia de 5 bandas que tenían peso molecular de 33, 43, 45, 48 y 67 kDa al inicio de la infección. Posterior a la inmunoterapia sólo se encontraron 3 bandas inmunogénicas con pesos moleculares de 43, 45 y 48 kDa. En esta parte se coincide con los resultados del WB del presente trabajo, donde se detectó el triplete característico de *T. spiralis* de 43, 45 y 48 kDa en las ratas inmunizadas con el inmunógeno de 45 kDa (figura 21). Por otra parte las ratas tratadas con inmunización de AST no se les observó aumento de peso, pero presentaron las 7 bandas de la *T. spiralis* (Fig. 20) por lo que no coincide con los primeros resultados mencionados por Reveles *et al.*, 2000b.

---

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

## 9. CONCLUSIÓN Y SUGERENCIAS

El presente trabajo concluye que el objetivo general se cumplió al evaluar el efecto protector del inmunógeno de 45 kDa en la infección por *T. spiralis* en ratas Long Evans nutridas y desnutridas.

Se concluyó que el AST obtuvo disminución de la carga parasitaria, presentando protección inmunológica, además presentó modificación de la célula nodriza. Mientras que para el tratamiento de la inmunización con el inmunógeno de 45 kDa obtuvo una excelente protección tanto en las ratas Nut como DN, demostrándose con la ausencia de la LI en ratas Nutridas inmunizadas, como con la disminución de la implantación de la LI en las ratas DN.

Dentro de los cinco objetivos particulares que se plantearon para el estudio, todos se realizaron satisfactoriamente, estableciendo los grupos de animales desnutridos y nutridos, e infectados (controles), se evaluó el efecto protector del AST en ratas Long Evans desnutridas y nutridas, comparando la respuesta inmunológica inducida por el AST y el antígeno de 45 kDa en ratas Long Evans, desnutridas y nutridas e inmunizadas, se evaluó el efecto protector del inmunógeno de 45 kDa en ratas Long Evans desnutridas y nutridas.

### DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Por último nuestra hipótesis se acepta ya que se confirmó que el inmunógeno de 45 kDa, tiene efecto protector contra *T. spiralis* aún en animales desnutridos; por lo que se acepta la hipótesis nula.

Es importante señalar que existe una respuesta inmune más eficaz en animales nutridos que en desnutridos.

La sugerencia que se desprende de los resultados del presente estudio, es iniciar la confirmación de estos datos en los cerdos ya que es el principal huésped transmisor de esta parasitosis en el hombre

## 10. LITERATURA CITADA

Ahmad A, Wang CH, Bell RG. 1991. A role for IgE in intestinal immunity. *Journal Immunol* 146: 3563.

Angarita C, Machado D, Morales G, García GM, Arteaga VF, Silva T, Alarcón COM. 2001. Estado Nutricional, antropométrico, bioquímico y clínico en preescolares de la comunidad rural de Canaguá Estado de Mérida. *Anales Venezolanos de Nutrición*. 14:2.

Armed Forces Institute. 1957. Preparation of tissue, preparation of section, routine staining procedures of histologic and special staining technics. Armed forces Institute of Pathology, Washington, D.C. 11-50.

Bach FJ. 1989. Inmunología. En Ediciones Ciencia y Técnicas. Limusa. México. 441-450.

Barria PRM, Amigo H. 2006. Transición Nutricional: una revisión del perfil latinoamericano. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 56:1.1-16.

Beaver CP. 1957. The antigenic role of the excretions and secretion of adult *Trichinella spiralis* in the production of immunity in mice. *Journal Parasitol*. 43: 593.

Beisel WR. 1982. Single nutrients and immunity. *Am J Clinics of Nutrition*. 35: 417-468.

Bendich A, Chandra RK. 1990. Micronutrients and immune function. New York: New York Academy of Sciences.

Berumen VT, Muñoz EJJ, Moreno MAG. 2002. Trichinellosis en perros callejeros de la ciudad de Zacatecas de México. *Parasitol. Latinoam. FLAP*. 57: 72-74.

Bolas FF, Wakelin D. 1992. Immunization against geographical isolates of *Trichinella spiralis* in mice. *International Journal for Parasitology* 22: 773-780.

Boulos LM, Ibrahim IR, Megm AY, Aly SM. 2001. Detection of coproantigen in early Trichinellosis. *Journal. Parasite*.8:2. S136-S139.

Bradford MM. 1976. A Rapid and Sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding, *Anal Biochem*. 72: 248-254.

Calder PC. 2003. Polyunsaturated fatty acids and inflammation. *From Molecular Biology to the Clinic Lipids*. 38: 323-350.



Camino AR, Ledesma M, Gallicchio O, Sánchez G, Benitez M. 1998. Triquinosis humana en la provincia de Buenos Aires Argentina. FAO. Red de Helminología para America Latina y el Caribe. 74:220-230.

Cambell CH. 1955. The antigenic roles of excretion and secretions of *Trichinella spiralis* in the production of immunity in mice. Journal of Parasitology. 41. 483-491.

Capo V, Despommier DD. 1996. Clinical Aspects of Infection With *Trichinella spp.* Clinical Microbiological Reviews. Juan. 9:1. 47-54.

Chandra RK. 1990. Micronutrients and immune functions, an overview. *Ann New York Acad Sci* . 587: 9-16.

Chandra RK, Lachmann PJ. 1993. Nutrition and Immunity. In *Clinical aspects of immunology*. Boston: Scientific Publications; 1325-1338.

Chapa RMR, Salinas T, Aguilar A, Martínez M. 1992. Recognition of *Trichinella spiralis* muscle larvae antigens by sera from human infected with this parasite and its potential use in diagnosis. *Revista Latino Americana de Microbiología*. 34:2. 95-99

Chávez A, Martínez H, Guarneros N, Allen L, Pelto G. 1998. Nutrición y desarrollo psicomotor durante el primer semestre de vida. *Nutrición y desarrollo psicomotor temprano*. *Salud Pública*. 40:111-118.

Chávez GEG, Saldivar SE, Muñoz EJJ, Moreno GMA. 2006. Trichinellosis una zoonosis vigente. *REDVET*. VII:5.1-19.

Chávez PJF. 2005. Lineamientos de la política nutricional para combatir la deficiencia de hierro no fortificación de alimentos. *Anales Venezolanos de Nutrición*. 18:1.

Chi ho, Mak, Ronald C Ko. 1999. Characterization of endonuclease activity from secretory/excretory products of a parasitic nematode, *Trichinella spiralis*. *Eur. Journal.Biochem*. 260:477-481.

Chipman PB. 1957. The antigenic role of excretions and secretion of adult *Trichinella spiralis*. In the production of immunity in mice. *Journal. Parasitol*. 43:6. 593-597.

Cox GN. 1992. Molecular and Biochemical aspects of nematode collagens. *J. Parasitol*. . 78:1.1-10.

Contreras CM., Sandoval L, Salinas P, Saavedra Tirza, Schenone H. 2001. Inmunodiagnóstico de la Triquinosis humana. *Boletín Chileno de Parasitología. Parasitol*. 57: 3-4.

Denkers EY, Wassom DL, Hayes CE. 1990. Characterization of *Trichinella spiralis* antigens sharing an immunodominant, carbohydrate-associated determinant distinct from phosphorylcholine. *Mol Bioch Parasitol.* 41: 241.

Despommier DD, Muller M. 1970. The stichosome of *Trichinella spiralis* its structure and infection with *Trichinella spiralis*. *Journal. Parasitol.* 77: 290.

Despommier DD. 1974. The sticocyte of *Trichinella spiralis* during morphogenesis in the small intestine of the rat. In *Trichinellosis*. CW. Kim. Ed Intext Educational publishers. New York. 88-198.

Despommier DD, Laccetti A. 1981. *Trichinella spiralis* Partial Characterization of antigens isolated by immuno-affinity chromatography from the large- particle fraction of the muscle larvae. *Journal. Parasitol.* 67: 3. 332-335.

Despommier DD, Gold MA, Buck SW, Capo V, Silberstein D. 1990. *Trichinella spiralis*. Secreted antigen of the infective LI larva localizes to the cytoplasm and nucleoplasm of the infected host cell. *Exp. Parasitol* 71: 27-38.

Despommier DD, Symmans WF, Dell R. 1991. Changes in nurse cell nuclei during synchronous infection with *Trichinella spiralis*. *J. Parasitol* 77: 290.

Despommier DD. 1993. *Trichinella spiralis* and the concept of niche. *J. Parasitol* 79: 472-488.

Despommier D, Gwadz MR, Hotez JP. 1994. *Parasitic Disease* Springer Verlag. Thirt edition. 32-40.

Del Río A, Herrera RM, Herrera R. 1986. Triquinelosis experimental extracción de antígenos y procedimientos para detectar anticuerpos. *Archv. Invest. Med* 17: 359-567.

Díaz CME, Ballesteros VMN, Pérez MR, Mata HV. 2002. Impactó de la dieta sobre la inducción de infección con quistes de *Giardia lamblia* en ratas Sprague-Dawley, *Salud pública de México.* vol. 44, No. 4: 315-322.

El Manual técnico de Lab Chows. 2005. Nutrición. e Investigación Fabricación y Calidad. Agribands Purina México, S.A. de C.V. pp. 2-22.

Flórez JJ, Armijo A, Mediavilla A. 2000. *Farmacología Humana*. Ed. MASSON-SALVAT, 3ta. Ed.

Fomon SJ, Rebouche J. 1995. Introducción a los micronutrients. *Nutrición del Lactante*. Mosby/Doyma 1ra edición. 230-235.

Frydas S, Papaioanou N, Vlemmas I, Theodoridis I. 1999. Vitamin B6-deficient diet plus 4-deoxypridoxine (4-DPD) reduces the inflammatory response induced by T.

*spiralis* in diaphragm, masseter and heart muscle tissue of mice. *Molecular and Cellular Biochemistry*.197:79-85.

Gamble HR. 1996. Detection of Trichinellosis in Pigs by Artificial Digestion and Enzyme Immunoassay. *Journal of Food Protection*. 59:3. 295-296.

Gamble HR, Rasic D, Marmculic A, Murrell KD.1988. Evaluation of excretion-secretory antigens for the serodiagnosis of swine trichinellosis. *Vet. Parasitol*. 30: 131-136.

García E, Herrera RM, Muñoz J, Moreno A. 1997. Detection of antibodies to *T. spiralis* in Experimental models. *Trichinellosis ICT9*. 481-488.

García E, Roman RD, Muñoz J, Moreno A. 2001. Utilidad de la Inmunofluorescencia Indirecta en Fase Líquida en el Diagnóstico de *T. spiralis*. *Revista Latinoamericana de Microbiología*. 43:1.512.

García L.M.I, 2005. Desnutrición ¿Por qué existe?. *Anales Venezolanos de Nutrición*. 18:1.1-12.

González CMN. 1999. Avances en Inmunizaciones. *Medica Pediátrica Infectología Departamento de Infectología Instituto Nacional Perinatología*. 7-15.

Gold AM, Despommier DD. 1997. A major secreted glycoprotein of *Trichinella spiralis* L1 larvae is related to the serine peptidases. *Trichinellosis ICT9*. 181-185.

Goyal PK, Wakelin D. 1993. Vaccination against *Trichinella spiralis* in mice using antigens from different isolates. *Parasitol*. Vol 107 No.311- 317.

Goyal PK, Wakelin D. 2002. Tyvelose and protective responses to the intestinal stages of *Trichinella spiralis*. *Parasitol*. 52:1. 91-98.

Guerra M. 2005. Aportes tecnológicos en las intervenciones nutricionales poblacionales. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 18:1. 1-10

Gutierrez M, Carías D, Cioccia AM, Hervia P. 2006. Efecto de la diarrea sobre la utilización de nutrientes en ratas con desnutrición proteico-calórica o proteica. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 56:1.1-7.

Gray DF, Morse BS, Phillips WF. 1962. Trichinellosis whit neurologic and cardiac involvement: review of the literature and report of three cases. *Ann Int Med*. 57:230-244.

Hernández B.L, López R.C. 2006. Frecuencia de la relación que existe entre la desnutrición y las enfermedades infecciosas gastrointestinales y respiratorias en el área metropolitana en niños de 1 a 6 años. *Anales Venezolanos de Nutrición*. 18: 1. 1-7.

Hernández ME, Roldan FSG. 1995. Prevalencia de Desnutrición en Preescolares de Tabasco, Salud Pública de México. 37:3. 211-218.

Janeway CAP, Travers, Walport M, Capra DJ. 2000. Inmunobiología El Sistema Inmunitario en Condiciones de Salud y Enfermedad. MASSON. Cuarta edición. 80-100.

Jasmer DP. 1995. *Trichinella spiralis*: subversion of differentiated mammalian skeletal muscle cells. Parasitol Today. 11:185-188.

Kelley D. 2001. Modulation of human immune and inflammatory responses by dietary fatty acids. Nutrition. 17. 669-673.

Ko RC, Yong TP. 1992. *Trichinella spiralis*: specificity of ES antigens from precysted larvae. J. Helminthol. 66:38-44

Kumaga M, Kamiya H. 1994. *Trichinella spiralis*: recovery of newborn larvae from cardiac tissues. Journal Parasitol. 24:2:271-272.

Labzoffsky NA, Baratawidjaja BK, Kuitunuen E, Lewis FN, Kalveman DA, Morrysey LP. 1964. Immunofluorescence as an aid in the early diagnosis of Trichinellosis Canad. Medical Ass. J. 90: 920-921.

Laemmli UK, Cheng SH, Adolph K, Paulson JR, Brown J, Baumbach WR. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 Nature 227: 680-685.

León H.B, Díaz M.E. 2005. Análisis longitudinal de los indicadores Peso-Edad, Talla- Edad y Peso-Talla en adolescentes de la escuela Nacional de Ballet de Cuba. Anales Venezolanos de Nutrición. 18:2.1-9.

Li KFC, Seth R, Gray T, Bayston R, Mahida YR, and Wakelin D. 1998. Production of Proinflammatory Cytokines and Inflammatory Mediators in Human Intestinal Epithelial Cells after Invasion by *Trichinella spiralis*. Infection and Immunity. 66:5. 2200 -2206.

Lláñez PE. 2000. Curso de inmunología general. Regulación y Tolerancia. Departamento de Microbiología. Universidad de Granada, España.

Lloyd JR. 2000, *Triquinelosis*; Centro Regional Universitario Bariloche; Universidad Nacional del Comahue.

López BM, Carmona A. 2005. La transición alimentaria y nutricional: Un reto en el siglo XXI. Anales Venezolanos de Nutrición. 18:1.1-10.

MacDonald AS, Arujo MI, Pearce EJ. 2002. Immunology of Parasitic Helminth Infections. Infection and Immunity. 70:2. 427-433.

Makled MKHMI Manar MSA, Salwaf AES, Amira KL. 1994. Effect of immunosuppression of the virulence of *Giardia lamblia* cysts. *J Egyptian Soc Parasitol*; 24:1. 205-210.

Maldonado TCH, Morales VM, Muñoz JJE, Saldívar ES, Moreno MAG. 2007. Efecto del estado nutricional en la susceptibilidad o resistencia a la infección de *T. spiralis* en modelo murino. *REDVET*. VIII:5. 1-9. <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet>.

Malmassari SL, Costantino SN, Lacono RF, Venturiello SM. 2003. Human serum antibodies against shared antigens of different stages of *Trichinella spiralis*. Relevance of glycan and Protein Epitopes. Department of Microbiology, Immunology and Biotechnology, Faculty of Pharmacy and Biochemistry, University of Buenos Aires, Argentina. *Parasitology Research*. 91:2. 94-99.

Martínez LR. 1998. Revisión Bibliográfica: Situación de la Triquinosis en Chile. Escuela de Salud Pública en el Departamento de Epidemiología, Ministerio de Salud. Universidad de Chile.

Mc Vay SC, Tsung A, Appleton J. 1998. Participation of Parasite Surface Glycoproteins in antibody Mediated Protection of epithelial cells against *Trichinella spiralis*. *Infection and Immunity*. 66:5. 1941- 1945.

Mc Vay SC, Bracken P, Gagliardo FG, Appleton J. 2000. Antibodies to tyvelose exhibit multiple modes of interference with the epithelial niche of *Trichinella spiralis*. *Infection and Immunity*. 68: 4. 1915- 1918.

Meza EE, García M, Letechipía M, Moreno A. 1996. Evaluation of The Effectiveness of Temperature on The Viability of *Trichinella spiralis* Infective Larvae. *TRICHINELLOSIS ICT* 9. 93- 98.

Moreno, GMA, Muñoz EJ. 1993. Característica de la Respuesta Inmune a *Trichinella spiralis*. *Investigación Científicas*: 5.17-28.

Moreno, GMA, 1994. Característica de la Respuesta Inmune a *Trichinella spiralis*; Tesis Doctoral. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Medicina. 4-9.

Moreno GMA, Avalos ED, Muñoz EJ, Herrera RE. 1996. Detección de Antígenos Inmunodominantes de *Trichinella spiralis* en Conejo como Modelo Experimental, *Investigación Científica*. Universidad Autónoma de Zacatecas. Vol. 1

Moreno GMA, Muñoz J, Rumayor A. 1996 (b) The 45 kDa of *Trichinella spiralis* induced protection in experimental infections. *TRICHINELLOSIS ICT* 9. 261-265.

Moreno GA, Reveles HG, Castañeda CV, Saldívar ES, Muñoz EJ. 2001. Características de la Respuesta Inmune en la Infección por *T. spiralis* en Cerdo.

Memorias del XIX Congreso Nacional de Investigación Biomédica. Monterrey Nuevo León.

Montilva M., Ferrer M.A., Nieto R., Ontiveros Y., Duran L., Mendoza M.A. 2003. Uso del Método Necesidades Básicas Insatisfechas en la detección de comunidades con riesgos de desnutrición. *Anales Venezolanos de Nutrición*. 16:1. 1-8.

Munn EA. 1997. Rational design of nematode vaccines: hidden antigens. *Int. J. Parasitol.* 27, 359-366.

Muñoz EJ, Muñoz CR, Del llano TE, Ramos LP, Flores CG, Alvarado FE, Moreno GMA. 1998. Uso de Complejos Inmunes para conferir Protección en Trichinellosis. *Parasitología al Día FLAP*. 22. 79-84.

Muñoz, EJ, Rivas GJ, Reveles HG, Reveles HM, Berumen DTV, Moreno MAG. 2004. Huéspedes que permiten la permanencia de *Trichinella spiralis* en el estado de Zacatecas. *REDVET*. V: 11. 1-9. <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet>.

Muñoz, EJ, Saldívar ES, Reveles HG, Muñoz MY, Moreno MAG. 2007. Característica de la célula nodriza en diferentes modelos experimentales infectados con *Trichinella spiralis*. *REDVET*. VIII:1. 1-10. <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet>.

Newton SE, Munn EA. 1999. The development of vaccines against gastrointestinal nematode parasites, particularly *Haemonchus contortus* *Parasitology Today* 15. 3. 116-122.

Núñez G, Malmassari SN, Costantino SN, Venturiello SM. 2000. Immunoelectrotransfer blot assay in acute and chronic human trichinellosis. *Journal of Parasitology*. 86:5.1121-1124.

Nutrient Requirements of Laboratory Animals. 1978. Laboratory Animals- Feeding and feeds. Title II, series: National Research Council. Committee on Animal Nutrition. Recommended nutrient allowances for domestic animals, No 10. pp. 2-37.

Pérez FLI, Garaulet M, Herrero F, Palma JT, Heredia FP, Martín R, Zamora S. 2004. Una aplicación informática multivalente para estudios del estado nutricional de grupos de población. Valoración de la ingesta alimentaria. *Nutrición Hospitalaria*. Vol. 19 No. 3. Madrid.

Paolocci N, Sironi M, Bettini M. 1998. Immunopathological mechanisms underlying the time-course of *Trichinella spiralis* cardiomyopathy in rats. *Virchows*. 432:261-266.

Pinelli EG, Van Der Lugt, Homan W, Van Der Huyesen J, Kortbeek LM. 2001. Diagnostic Laboratory for Infectious Diseases and Perinatal Screening, National Institute of Public Health and the Environment. *Parasite*. 8:168-71.

Philip J, Gagliardo LF, Sañin EA, Betchen AB, Ghosh K, Oblak JB and Appleton JA. 1999. Dominance of Immunoglobulin G2c in the Antiphosphorylcholine Response of Rats Infected with *Trichinella spiralis*. Infection and Immunity. 6:9. 4661-4667.

Pozio ED, Sacchini P, Boni, Tamburri A, Albericci F, Paterlini F. 1998. Brote de Triquinosis humana asociada al consumo humano de carne de caballo en Italia. Eurosurveillance.3:8/9. 1-3.

Pozio E, La Rosa G. 1996. Biology Aspects of Speciation in The Genus *Trichinella*. TRICHINELLOSIS ICT 9. 19-22.

Pozio E, La Rosa G, Burell KD, Lichtenfels R. 1992. Taxonomic revision of the genus *Trichinella*. J. Parasitol. 78.4. 654-659.

Puertollano MA, Pérez TMT, Cruz CL, Puertollano E, Álvarez CG, De Pablo MA. 2004. Análisis de la Resistencia Inmune en modelo Murino Experimental Alimentado con Dietas Lipídicas e Infectado con *Listeria monocytogenes*. Nutrición Hospitalaria.19:6.

Ray. Gamble H. 1997. Parásitos asociados a la carne de cerdo y los embutidos; Rev. Sci.tech.off.int.Epiz. 16. 2. 496-506.

Reveles HG, Muñoz EJ, Saldívar SE, Moreno GMA (a). 2000. Efecto de la inmuno terapia sobre las larvas infectantes (LI) de *T. spiralis* implantadas en músculo estriado en modelo experimental. Boletín Internacional Biotecnología aplicada. Vol 17

Reveles HG, Muñoz EJ, Saldívar SE, Moreno GMA (b). 2000. Efecto del antígeno soluble total sobre larvas infectantes (LI) de *T. spiralis* implantadas en músculo estriado en modelo experimental. Revista de Investigación Científica. Universidad Autónoma de Zacatecas. II:2. 51- 57.

Roitt I, Brostoff J, Male D. 2000. Inmunología. Editorial. Harcourt. 5 ta ed. Madrid España. 243.

Robinson KT, Bellary, Wakelin D. 1995. Immunity to *Trichinella spiralis* transferred by serum from vaccinate mice not protected by immunization. Parasite Immunology. 17. 85 – 90.

Román DR, Muñoz EJJ, Moreno GMA. 1996. Use of anti-triquine serum of rabbit characterized as an immunogen and evaluation of its protective effect in a murino experimental model. TRICHINELLOSIS ICT9. 405-410.

Ruíz FNA, Solano L. 2001. La inmunosenescencia y el papel de la nutrición. Anales Venezolanos de Nutrición. 14:2.1-7.

SAS Institute INC.1992.SAS/Stat.Release 6.08 SAS Institute Inc. Cary, N.C.U.S.A

Secretaria de Salud SSA. 2002. Casos acumulados por entidad Federativa de enfermedades Zoonóticas hasta la semana Epidemiológica 31 Sistema único de información Nacional de Vigilancia Epidemiológica 33, 19, 33.

Sierra SF, Lara VM, Olivares J, Boza J, Xaus J. 2004. La expresión de IL10 interviene en la regulación de la respuesta inflamatoria por los ácidos grasos omega 3. Departamento de Inmunología y Estudios Preclínicos. Puleva Biotech. Granada. *Nutrición Hospitalaria*. 19: 6. 1-9.

Silberstein DS, Despommier DD. 1984. Antigens from *Trichinella spiralis* that induced a Protective Response in the Mouse. *Journal of Immunology*. 132:2.898-903.

Steel RGD, Torrie JH, Dickey DA. 2000. *Procedures Statistics Biometrical Approach*. Series in probability and statics. 3era ed. McGraw-Hill.

Stites DP, Stobos JD, Fudenberg HH, Wells JV. 1990. *Inmunología Básica y Clínica*. 7ª Ed. El Manual Moderno.714-715.

Takahashi Y, Uno T, Mizuno N, Suzuki H, Shimazu K, Araki A. 1989. Morphological study of the stichocyte granules of *Trichinella spiralis* muscle larvae. *J. Parasitol*.38:2.77-88

Takahashi Y, Mizuno N, Uno T, Aisaka A, Araki T. 1990. A spectrum of antibody response with time after *Trichinella spiralis* infection in rats. *J. Parasitol*. 76:230-236.

Takahashi Y, Uno T, Mizuno N, Suzuki H, Shimazu K, Araki T. (b) 1990. *Trichinella spiralis* The *in situ* localization of muscle larva antigens recognized by humans. *Experimental. Parasitology*. 70:107-110.

Takahashi Y, Mizuno N, Shimazu K, Araki T. 1992. Ultrastructure, antigenicity and histochemistry of stichocyte granules of adult *Trichinella spiralis*. *Journal Parasitol* 78. 3. 518-523.

Takahashi Y, Goto C, Kita KK. 1994. Ultrastructural study of *Trichinella spiralis* with emphasis on adult male reproductive organs. *Journal of Helminthology* 68: 353-358.

Taratuto AL, Venturiello SM. 1996. *Trichinellosis*. FAO. Red de Helminología para America Latina y el Caribe *Trichinellosis en Humano*.

Todorova VK, Knox Dp, Kennedy MW. 1995. Proteinases in the excretory/secretory products (ES) of adult *Trichinella spiralis*. *Parasitology*.111.2.201-208.



Tobwin HT, Sthahelin T, Gordon J. 1979. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets. Procedure and some applications. *Proct. Nathl. Acad Sci. USA* 76: 4350.

Vassilatis DK, Polvere RI, Despommier DD, Goult AM, Van der Ploeg LH. 1996. Developmental expression of a 43 kDa secreted glycoprotein from *Trichinella spiralis*. *PubMed. Mol. Biochem. Parasitol.* 78: 1-2. 13-23.

Vega FL. 1999. Conceptual Landmarks in the History of Protein-Energy Malnutrition, *Salud Publica Mex*; 41. 328-333.

Vega FL. 1999. Hitos Conceptuales en la Historia de la Desnutrición Proteico-Energética. *Salud Pública de México*.41:4.

Venturiello SM, Gomez E, Constantions SN. 1994. Eosinophilia and antibody-dependent cell cytotoxicity in experimental Trichinellosis. In. 70. 12.

Venturiello SM, Malmassari SN, Costantino SN, Nuñez G. 2000. Cytotoxicity-blocking antibodies in human chronic trichinellosis. *Parasitology Research.* 86:9.762-767.

Wakelin D. 1996. Immunology and Genetics of Zoonotic Involving Parasites; Department of Life Science, University of Nottingham, U.K. *Comp- Immunol-Microbiol-Infect-Dis. Sep*; 19:4. 255-65.

Wakelin D. 1998. Helminthes Infections. In genetics of resistance to bacterial and parasitic infection; eds. D. Wakelin & JM. Blacwell 153- 224. Taylor Fransis, London.

Wraniez MJ, Koyro R, Stelzer, Stoye M. 1996. *Trichinella spiralis*: X-ray analysis of the nurse cell-muscle larva complex after exponential growth of the larva. *Parasitol Res.* 82:727-736.

Wright KA, Hong H. 1988. Characterization of the accessory layer of the cuticle of muscle larvae of *Trichinella spiralis*. *J. Parasitol.*74: 440.

Yépez LM, Ortega MGP. 1994. Actualidades sobre la respuesta inmune hacia *Trichinella spiralis*. Unidad de Investigación en Enfermedades Infecciosas y Parasitarias-Pediatría, Centro Medico Nacional Siglo XXI y departamento de Genética y Biología Molecular, CINVESTAV, IPN, Ciencia Desarrollo; XX: 117.

## Descripción de algunos aspectos básicos de inmunización (Description of some basic aspects from immunization)

M. en C. **Claudia Herminia Maldonado Tapia** (1), M. en C. **José Jesús Muñoz Escobedo** (2), M.V.Z. **Sergio Saldivar Elías** (3) Dra. en C. **Alejandra Moreno García** (3). Estudiante de Doctorado de Ciencias Biológicas Universidad Autónoma de Nuevo León, (1), Unidad Académica de Odontología (2), Departamento de Biología Celular y Microbiología de La Unidad de Biología Experimental (3). Universidad Autónoma de Zacatecas.

Contacto por email: [amoreno\\_29@hotmail.com](mailto:amoreno_29@hotmail.com)

### REDVET: 2007, Vol. VIII Nº 5

Recibido: 18 Marzo 2007 / Referencia: 050712\_REDVET / Aceptado: 30 Abril 2007 / Publicado: 01 mayo 2007

Este artículo está disponible en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n050507.html> concretamente en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n050507/050712.pdf>

REDVET® Revista Electrónica de Veterinaria está editada por Veterinaria Organización®.

Se autoriza la difusión y reenvío siempre que enlace con Veterinaria.org® <http://www.veterinaria.org> y con REDVET® - <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet>

### Resumen

En el presente trabajo se presenta una breve descripción de la importancia de la inmunización, como han evolucionado las

vacunas en cuanto a su generación y la importancia de su manejo para obtener un efecto adecuado.

**Palabras claves:** Inmunización, Vacunas.

### Summary

In The next job is presented a few description of the importance of the immunization, about how have been developing the vaccines

referring to it's generation and the importance

**Key words:** Immunization, Vaccines.

### INTRODUCCION

El humano se dio cuenta de la necesidad de protegerse contra enfermedades infecciosas. Al observar personas que posterior al haber padecido una patología no volvía a enfermar de ese padecimiento o si lo hacían era menos agresiva, y no les causaba la muerte (8).

En la actualidad se ha observado que la interacción entre el hombre y los microorganismos se deterioran cada día más debido a la elevada morbilidad por enfermedades infecciosas. Hoy en día no existen vacunas para todas las enfermedades, ninguna es completamente

inocua. Los esquemas básicos de inmunización se elaboran de acuerdo al tipo de: inmunógenos, población, epidemiología de las principales enfermedades infecciosas (2).

## LAS VACUNAS

Son cualquier sustancia viva o muerta, de tipo protéicas, carbohidratos etc. las que son capaces de inducir una respuesta inmune protectora y duradera, frente al agente extraño virulento, sin producir efectos secundarios hacia el organismo. Se basa en la memoria del sistema inmune, en la que se da una respuesta adquirida, humoral y celular, se denomina inmunización activa (5).

## TIPOS DE INMUNIZACION

- Pasiva: se administra anticuerpos séricos, protectores a un individuo susceptible a la infección, lo que proporciona una protección temporal por semanas o meses.
- Activa: es proporcionada por las vacunas, que se administran una parte o todo un antígeno del microorganismo, lo que produce una respuesta inmunológica semejante a la de la enfermedad natural y proporciona protección duradera (2).

## ANTECEDENTES DE LAS VACUNAS

La realizó Edward Jenner (1749-1823), en 1796 frente a la viruela humana. Él observó en personas que habían sufrido viruela vacuna no padecían la viruela humana, por lo que realizó un preparado, con las vesículas de vacas infectadas, inoculándolo a personas sanas, esta los protegía frente a la viruela humana.

Utilizó microorganismos heterólogos, de virus vacuno para prevenir la enfermedad en el hombre, modificando su virulencia, o inactivación total, denominándose **Vacuna inactivada**. Posteriormente Louis Pasteur (1822-1895), demostró que se podía inducir inmunidad duradera, utilizando microorganismos homólogos, estas vacunas se denominan **CONVENCIONALES**, las que han tenido éxito en el control y lucha frente a un gran número de enfermedades tanto en animales como en humanos ayudando al control de enfermedades (7, 8).

El mecanismo inmunitario de la vacunación fue aclarado en 1957, cien años después de Pasteur. Por Frank Burnet (1899-1985) mediante la teoría de selección clonal, con el descubrimiento en 1965 de los linfocitos T y B.

Los antígenos que componen una vacuna inducen respuesta primaria con estimulación o expansión clonal de linfocitos T y B memoria (células memoria). Capaz de inducir RESPUESTA SECUNDARIA si los antígenos penetran nuevamente (3,7).

### 1.- VACUNAS ATENUADAS E INACTIVADAS

Las vacunas atenuadas y/o muertas han sido la base inmunológica principal para el control y erradicación de la gran mayoría de las enfermedades infecciosas hasta nuestros días. Utilizan un agente infeccioso, vacunas monovalentes o varias vacunas polivalentes vivos y homólogos al que produce la enfermedad, pero cuya virulencia ha sido atenuada, de manera que no produce ninguna lesión secundaria en el paciente, induce a la inmunidad duradera frente al agente homólogo virulento (3,7).

En la actualidad el sistema de atenuación más utilizado, se basa en la realización de un gran número de pases o repeticiones del virus o bacteria virulento en líneas celulares

(virus) o medios de cultivo (bacterias), de tal manera que los microorganismos pierdan virulencia, no produzca ningún tipo de lesión en el animal, pero siga teniendo la capacidad de replicarse o multiplicarse lo suficiente para que el sistema inmune pueda procesarlo (3, 7, 8).

Desde los trabajos de Louis Pasteur hasta la actualidad, han sido las vacunas que, frente a diferentes enfermedades de origen bacteriano y vírico, se han desarrollado utilizando diferentes métodos, para atenuar la virulencia de los agentes infecciosos, seleccionando cepas no virulentas, la inactivación total de los mismos, para la producción de vacunas muertas.

Las vacunas vivas atenuadas inducen una respuesta inmune superior a las vacunas inactivadas o muertas, en el caso de los virus, se debe al infectar las células huésped se inducen todos los mecanismos inmunitarios, de presentación antigénica ligado a linfocitos CD4+ y al HLA II, y de activación citotóxica ligados a linfocitos CD 8+ y el HLA I, así como la liberación de diversas citocinas (7, 8).

## 2.- LA VACUNA MUERTA O INACTIVADA

Las vacunas muertas o inactivadas están formadas por el o los microorganismos completos pero inactivados por método físico o químico. Se han producido a partir de productos de microorganismos bacterianos inactivados, como es el caso del tétanos con notable éxito. Presentan ventajas frente a las vacunas atenuadas, su estabilidad, seguridad y conservación. Sin embargo, suelen inducir una respuesta inmunitaria menor que las vacunas atenuadas, fundamentalmente son ligadas a linfocitos CD 4+ con producción de anticuerpos.

Los métodos para la inactivación de los antígenos vacunales utilizados en la actualidad, se basan en tratamientos químicos o físicos que no producen modificaciones en las proteínas que puedan alterar la respuesta inmune. Los más utilizados son: formaldehído y agentes quelantes (óxido de etileno, propiolactona, etilenoimina, etc). Estos agentes, producen uniones cruzadas en las cadenas de los ácidos nucleicos, inactivando al microorganismo pero no alterando sus proteínas, beta-propiolactona, permite hidrólisis en horas, produce productos atóxicos, estas vacunas son seguras al no ser infecciosas no virulentas, pero se debe aplicar en gran cantidad y múltiples dosis para producir respuesta inmune (2, 5, 8).

### DESVENTAJAS DE VACUNAS IN-ACTIVADAS MUERTAS

#### Atenuadas

- a) no son estables
- b) pueda revertir a las formas virulentas
- c) La estabilidad de la atenuación es el factor más crítico en estas vacunas

#### Muerta o Inactivada

- a) induce respuesta inmunitaria menor que las vacunas atenuadas
- b) fundamentalmente ligada a linfocitos CD 4+ con producción de anticuerpos.

Las vacunas convencionales, inactivadas y atenuadas necesitan mantenerse en temperaturas de refrigeración de 2 a 8°C. Estos requerimiento impiden algunas ocasiones, en países del tercer mundo o en zonas poco desarrolladas, para que las vacunas se mantengan en buen estado antes de ser utilizadas haciéndolas menos efectivas. Ya que al estar formada por microorganismos vivos modificados (atenuados), necesitan mantenerse en cadena frío permanentemente, para evitar que el microorganismo muera parcial o totalmente.

## **PROBLEMAS QUE PRESENTAN LAS VACUNAS CONVENCIONALES**

a) **IMPOSIBILIDAD DE DIFERENCIAR PACIENTES VACUNADOS DE ENFERMOS:** es el principal problema de las vacunas convencionales. Debido a que las vacunas convencionales están formadas por virus o bacterias completos (atenuados o inactivados), el sistema inmune detecta los antígenos igual que cuando se produce una infección, dando como respuesta la misma.

b) **DIFICULTAD PARA CONSEGUIR UNA VACUNA EFICAZ PARA TODAS LAS ENFERMEDADES.**

Estos problemas han sido resueltos con las nuevas tecnologías, la producción de vacunas de nueva generación

## **INSEGURIDAD DE LA VACUNA**

a) La posible reversión a la virulencia de las vacunas vivas

b) La estabilidad de atenuación es el factor más crítico en estas vacunas.

b) Fallos en la total inactivación de las vacunas inactivadas.

c) Contaminaciones con agentes bacterianos o virales no detectados.

d) En algunas ocasiones se pueden contaminar las líneas celulares de la preparación del inóculo de la vacuna con el virus que no producen efecto citopático, que se replica en paralelo con el virus vacunal.

El control de calidad y seguridad de los diferentes lotes de vacunas deben detectar estos problemas, no siempre posibles.

## **EFFECTOS SECUNDARIOS.**

Debido a la vacunación con vacunas convencionales. Generalmente se producen a nivel local inflamación o edema en el punto de inoculación. Puede o no aparecer fiebre, infrecuentemente reacciones de hipersensibilidad o de inmunosupresión pasajera (2). En algunos niños son importantes las reacciones adversas como sistémicas y alérgicas (8).

## **LOS ADYUVANTES**

Son importantes para aumentar la inmunogenicidad de las vacunas inactivadas, de proteínas purificadas, péptidos sintéticos, vacunas conjugadas no son fuertemente inmunogénicas por sí solas. Los adyuvantes son sustancias que potencializan la respuesta inmunológica, requiriendo menor cantidad de antígenos y dosis. La mayoría de los adyuvantes actúan sobre las células presentadoras de antígeno (3, 2). Estos actúan favoreciendo la presentación de antígenos al sistema inmune, mediante el secuestro de los antígenos vacuinales, la posterior liberación lenta y prolongada, así como produciendo una ligera inflamación, activando la atracción de las células presentadoras, favoreciendo la quimiotaxis.

Los adyuvantes utilizados son sales de aluminio (hidróxido de aluminio o fosfato de aluminio), cuando se unen al antígeno e inoculan en un animal producen un ligero granuloma favoreciendo la lenta eliminación del antígeno (estimulación antigénica más duradera), atracción de las células presentadoras, aumenta la capacidad de respuesta inmune (5).

Otras formas de adyuvantes, se mezclan con el antígeno en emulsión de agua y aceites minerales, conocida como adyuvante incompleto de Freund (el adyuvante completo

además está compuesto por *Mycobacterium tuberculosis* muerto). Induciendo una reacción inflamatoria con atracción de células presentadoras (8).

### 3.- VACUNAS DE NUEVA GENERACIÓN

Gracias a los avances en el conocimiento de la respuesta inmune y técnicas de biología molecular, han permitido identificar, agentes infecciosos, proteínas de interés inmunológico, expresarlas y amplificando y eliminando aquellas que no presentan interés inmunológico y eliminar la porción que causa la enfermedad.

Una posibilidad que brinda la ingeniería genética es la eliminación de genes que expresan proteínas relacionadas con la virulencia, consiguiendo cepas atenuadas. Igualmente se pueden incorporar distintos genes de diferentes microorganismos en uno solo que actúa como vector.

Gracias a la biología molecular se ha podido avanzar en el conocimiento de los diferentes genes que componen los microorganismos y las proteínas que codifican. De esta manera se ha podido modificar la estructura genómica de algunos microorganismos, eliminando genes que codifican proteínas ligadas a la virulencia, consiguiendo cepas atenuadas de manera estable y segura.

Son proteínas de un agente infeccioso capaces de inducir respuesta inmune protectora de forma semejante a la que induciría el agente infeccioso completo con posibilidad de incorporar:

1. secuencias de otros antígenos, puede aumentar la estimulación de linfocitos B y T.
2. e incluso la liberación de citocinas. De esta manera se podría mejorar la presentación de los antígenos al sistema inmune (8, 7, 3).

### 4.- VACUNAS RECOMBINANTES VIVAS

Las vacunas recombinantes vivas son basadas en la utilización de microorganismo (virus o bacteria) que actúan como vector para expresar genes de otro microorganismo diferente. Este nuevo microorganismo recombinante, puede utilizarse como vacuna.

El microorganismo que se utiliza frecuentemente como vector de la expresión es el virus de la vacuna ("vaccinia"), debido a su genoma amplio y estudiado lo cual permite insertar genes extraños sin alterar su maquinaria replicativa. El inconveniente de este vector es que al ser un virus capaz de infectar a la mayoría de las especies animales, incluso al hombre, se obtendría una vacuna viva no específica de especie por tanto susceptible de inmunizar a cualquier animal.

Una de las últimas vacunas OBTENIDAS, no utiliza el virus vaccinia, ha sido la de Mixomatosis y la de Enfermedad vírica hemorrágica del conejo. Esta vacuna, ha utilizado el virus de la mixomatosis como vector sobre el que se ha insertado el gen de la proteína VP 60 del virus, para mejorar la expresión de citocinas (8).

### 5.- VACUNAS DE ADN

En la actualidad se está estudiando la posibilidad de utilizar directamente una fracción de ADN purificado que contenga el gen de la proteína capaz de inducir una respuesta inmune protectora.

Esta fracción de ADN se inserta en un plásmido, que hace de vector. Las células animales captan estos plásmidos, mediante procesos todavía no bien entendidos, incorporándolos en el núcleo celular, permitiendo la expresión del gen foráneo y producción de la

correspondiente proteína. Esta proteína, se expresa en la superficie de la célula o es liberada así al medio, por lo que el sistema inmune la puede reconocer en su forma nativa, de la misma manera que durante una infección natural con el agente completo, induciendo una excelente respuesta inmune (2, 8, 4).

## 6.- VACUNAS ANTIDIOTIPO

Destacan a nivel experimental. Estas vacunas se basan en el reconocimiento de las estructuras en reacción antígeno anticuerpo. Cuando un animal es inoculado con un determinado antígeno se produce una respuesta humoral. Es otra forma de inducir inmunidad, en un momento determinado, con fines curativos más que preventivos

Las inmunoglobulinas que se inducen presentan, en el sitio de unión en el último párrafo (idiotipo) de la región variable, la estructura inversa del epitope inductor de la reacción. Si inoculáramos esos sitios de unión a otro animal, se producirían anticuerpos frente a esas estructuras, que serían también complementarias (anticuerpos antidiotipo).

Los anticuerpos inducidos contra el idiotipo (antidiotipo) tendrían la misma estructura que el antígeno original por tanto servirían como antígenos para inmunizar frente al primer antígeno que inició la cadena. Los anticuerpos antidiotipo pueden ser anticuerpos policlonales o anticuerpos monoclonales, ser utilizados como vacunas, especialmente en aquellos casos en los que es muy difícil obtener las proteínas o codificar los genes correspondientes a las proteínas de interés inmunológico (7, 4).

### Redes idiotípicas

Consideremos las inmunoglobulinas como auto-antígenos. En las primeras fases de vida, se induce la tolerancia en porciones constantes (Fc) porque globalmente existen en grandes concentraciones, no se induce tolerancia frente a los idiotipos, (residentes en la parte variable de Fab) porque cada uno de ellos está presente en muy pequeñas cantidades: esta es la razón por la que las inmunoglobulinas son inmunogénicas en el mismo individuo, el papel real de la red idiotípica en el control normal del sistema inmune aún no está claro del todo, estando sujeto a debates, de que algunos anticuerpos anti-idiotípicos reconocerán al paratopo del anticuerpo, por lo tanto, son como la **imagen interna** que tiene el organismo del epitope del antígeno exógeno. Esta imagen interna podría servir para seguir activando al sistema inmune aun cuando hubiera desaparecido el antígeno exógeno que desencadenó la respuesta, asegurando expansión clonal y células de memoria.

Ejemplos de vacunas basadas en anti-idiotipos que se han usado con éxito experimentalmente en animales de laboratorio: Newcastle, Sendai, reovirus, virus de la rabia, hepatitis B, citomegalovirus, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Streptococcus pneumoniae*, *Schistosoma mansoni*, *Trypanosoma rhodiense*

Se han hecho intentos de vacunas anti-idiotípicas frente al VIH (virus del sida), a base de anti-Id hacia anticuerpos anti-CD4. Aunque el anti-Id es capaz de neutralizar al virus tanto *in vitro* como *in vivo*, la incertidumbre sobre su capacidad de provocar respuestas celulares ha hecho que no se empleen clínicamente.

Una línea interesante que se está explorando en ratones es el uso de ciertos anti-Id como vacunas neonatales capaces de superar el efecto inhibitor de las IgG maternas (7, 4, 8)

## TOLERANCIA

Inmunológica es la ausencia específica de respuesta inmune que se induce por la exposición previa a un antígeno (4, 1), ya sea propio o extraño, inducida por el contacto previo con dicho antígeno. La tolerancia se desarrolla de un modo **natural**, cuando un

animal en desarrollo se vuelve incapaz de responder a sus propias moléculas (**autotolerancia**). Cuando este sistema falla, se producen patologías por **autoinmunidad**.

La tolerancia inducida **experimentalmente** es un estado de ausencia de respuesta a un antígeno que normalmente sería inmunogénico (4).

#### **Existen tres tipos de tolerancia:**

a) Tolerancia Inmunológica es la falta de respuesta de a un antígeno inducida por la exposición de linfocitos específicos a ese antígeno. La tolerancia a los autoantígenos propiedad fundamental del sistema inmunitario normal, el fracaso de autotolerancia origina enfermedades autoinmunitarias. Los antígenos pueden administrarse de formas que induzcan tolerancia en lugar de inmunidad.

b) Tolerancia Central se induce en los órganos linfoides generadores cuando los linfocitos inmaduros encuentran autoantígenos presentes en estos órganos.

c) Tolerancia Periférica se produce cuando los linfocitos maduros reconocen autoantígenos en tejidos periféricos en condiciones determinadas.

Los principales mecanismos de tolerancia son delusión (muerte celular apoptótica, la anergia (inactivación funcional) y supresión por células T reguladoras (1).

#### **7.- SUEROTERAPIA**

Es otra forma de inducir inmunidad, en un momento determinado, con fines curativos más que preventivos, ya que la protección que confiere la suero terapia es de tiempo relativamente corto. El suero es la parte fluida de la sangre obtenida tras la coagulación, cuando se obtiene de un individuo inmunizado se denomina antisuero por que contiene Ac específicos contra el Ag inmunizante, así como el resto de las proteínas séricas. Los antisueros contienen colecciones heterogéneas de Ac, todos ellos se unen al Ag empleado para la inmunización, pero cada uno posee su propia estructura, su propio epitopo en el antígeno y su propio conjunto de reacciones cruzadas. Esta heterogeneidad hace que cada antisuero sea único (3).

#### **Neutralización**

Es un proceso de inactivación que sucede mediante Ac que inhiben la infectividad de un virus o toxicidad de una molécula de toxina (3).

#### **REQUISITOS PARA QUE UNA VACUNA SEA EFECTIVA**

Varían según sea la naturaleza del organismo que infecta. Para los organismos extracelulares, los anticuerpos proporcionan el mecanismo adaptativo más importante de defensa, para el control de organismos intracelulares es esencial una respuesta efectiva de linfocitos TCD8.

La vacunación ideal proporciona defensa desde el momento en que entra el agente infeccioso; estimulación de la inmunidad en la mucosa es importante para la vacunación contra varios organismos que penetran a través de las superficies de las mucosas.



La inmunidad protectora efectiva contra algunos organismos necesita la presencia de anticuerpos preexistentes en el momento de la exposición a la infección. La respuesta inmunitaria contra infecciones implica, anticuerpos dirigidos contra epitopos múltiples, alguno de estos anticuerpos confieren protección. Los epitopos particulares reconocidos por células T pueden afectar la naturaleza de la respuesta. Una vacuna efectiva debe generar anticuerpos y células T dirigidos contra los epitopos correctos del agente infeccioso (3).

### **Características que debe tener las Vacuna para que sea eficaz**

1. Segura e inocua para el huésped
- 2.- Protectora, la vacuna debe ser capaz de originar inmunidad
- 3.- Duradera (induce anticuerpos neutralizantes), utilizar microorganismos heterólogos, modificando su virulencia, o muertas
- 4.- Consideraciones practicas Económica

### **Edad para la vacunación**

Primeros 2-3 meses de vida

Que el agente vacunal altamente efectivo sea aplicado lo mas tempranamente posible

Que el número de inoculaciones sea el adecuado para mayor eficacia.

Las re inmunización se realice dentro de los periodos preestablecidos.

### **Complicaciones de las vacunaciones**

Reacciones de hipersensibilidad.

Los Virus pueden producir alteraciones en los tejidos originando encefalitis

Vasculitis por el toxoide tetánico depositos Ag-Ac (3).

### **LOS ANTICUERPOS**

Los anticuerpos circulantes reconocen los antígenos en el suero y líquidos titulares. Son moléculas proteínicas que se presentan en los fluidos de un vertebrado después de introducir un antígeno, al que destruyen o neutralizan, los cuales tienen estas características.

4 cadenas polipeptídicas

Porción variable (Fab)

Sitio activo

Porción constante (Fc)

Idiotipo actúa como determinante antigénico (3).

### **LAS INMUNOGLOBULINAS (Igs)**

Son un grupo de glucoproteínas presente en suero y líquidos titulares de todos los mamíferos. Algunas se encuentran en la superficie de las células B, actúan como receptores de antígenos específicos. Otras Igs se encuentran libres en la sangre y linfa. Se puede emplear como antígeno, es tratada como otra proteína extraña provocando respuesta por anticuerpos. Las diferencias entre las regiones constantes es debido al empleo de genes de regiones C diferentes en cadenas pesadas por un gen separado, pueden producir en forma secretoria o como receptores unidos a membrana se denominan

ISOTIPOS (todas las células B expresan inicialmente forma transmembrana de IgM), ALOTIPOS son las diferencias que existe en distintos alelos del mismo gen C, los IDIOTIPOS son diferencias causadas por genes reordenados VH - VL (7, 6).

## CLASIFICACIÓN DE LOS ANTICUERPOS

**IgG** Es la Ig más abundante en el suero humano normal, constituye el 70-75% de Ig totales. La IgG es la única molécula tetracatenaria con un coeficiente de sedimentación de 7S y 146.000 Daltons de peso molecular, las IgG se subdividen en IgG1, IgG2, IgG3, IgG4. Se encuentran ampliamente distribuidas en compartimentos intra y extravascular, son los predominantes en la respuesta inmunitaria secundaria y los únicos que presentan actividad frente a las toxinas. Las IgG procedentes de la madre confiere inmunidad al recién nacido durante los primeros meses de vida esto es por que en el humano es capaz de atravesar la placenta. En algunas especies como el cerdo no hay paso de IgG, las IgA solo se confieren por la leche que se absorben en el tracto gastrointestinal.

**IgM** Esta consta del 10% de las Ig totales. La molécula es un pentámero de la estructura tetracatenaria básica. Cada cadena pesada tiene un PM de 65.000 daltons, y la molécula completa pesa 970.000 KDa, esta se encuentra en espacio intravascular, es el anticuerpo que participa en mayor cantidad en la fases tempranas de la respuesta inmunitaria.

**IgA** Constituyen el 15-20% de las Ig sérica humana. En los seres humanos, más del 80% de la IgA se encuentra en forma de monómero de la unidad, son poliméricas en forma de dímeros, la Ig de las secreciones seromucosas como la saliva, calostro, leche, secreciones traqueobronquiales y genitourinarios. La cual es de dos subclases.

**IgE** Aunque el suero tiene poca cantidad, esta se encuentra en la superficie de los basófilos y mastocitos de todos los individuos. Es una reaginina, desempeña un papel en la defensa frente a los helmintos y enfermedades alérgicas.

**IgD** Es la de menor concentración 1% de las Ig plasmáticas totales, abundan en las membranas de células B, no se sabe exactamente la función biológica, pero puede ser que desempeñe un papel en la diferenciación de linfocitos inducida por los Antígenos. (7, 8, 6).

La Respuesta Inmune es la capacidad de mostrar complejos mecanismos, con reacciones en cadena contra elementos considerados ajenos al organismo.

Propiedades de la Respuesta Inmune son:

- 1 ra. Inducida
- 2 da. Especifica
- 3 ra. Memoria
- 4 ta. Transferible (3, 7).

Inmunógenos: sustancias capaz de desencadenar una respuesta inmune.

Virus atenuados  
Virus inactivados  
Sub-unidades virales

B. vívas atenuadas  
B. Enteras inactivadas  
Toxoides bacterianos  
Polisacáridos bacterianos  
Obtenidos por ingeniería genética  
Parásitos (3).

### **LOS ANTICUERPOS SE GENERA POR CUATRO PROCESOS:**

La diversidad de los Ac es tratada por tres consecuencias del proceso de recombinación empleado para crear regiones variables (V) completas.

La propiedad de respuesta Transferible consiste en un proceso de mutación que se produce después que actúa sobre el ADN reordenado las codificaciones de las regiones.

a) En primer Lugar: existe múltiples copias diferentes de cada tipo de segmentos génicos que forman la región V, puede utilizar diferentes combinaciones de segmentos de recombinación distintos. Ellos son responsable de la parte de la sustancias de la diversidad de las regiones V de la cadena pesada y ligera.

B) En segundo lugar: diversidad combinatoria se originan a partir del emparejamiento de combinaciones distintas de regiones V de ambas cadenas para formar el sitio de unión de los Ac.

Solo con estos dos medios de generación de diversidad podría producir en teoría aproximadamente  $2.5 \times 10^8$  a la  $10^9$  molécula de anticuerpos diferentes.

C) En tercer lugar: en las uniones entre los diferentes segmentos génicos se introduce diversidad adicional como consecuencia de proceso de recombinación

La hipermutación somática introduce mutaciones puntuales en los genes reordenados de la región V. es el único medio por el que da especificidad al antígeno de una Inmunoglobulina puede alterarse después de que la recombinación haya creado los genes funcionales de las cadenas pesadas y ligeras (3).

### **LOS ANTIGENOS (Ag)**

Es cualquier molécula capaz de inducir la producción de Ac específicos por parte de células B. En la actualidad se utiliza en un sentido más amplio y se aplica a cualquier molécula que pueda ser reconocida específicamente por cualquiera de los elementos del sistema inmunitario adaptativo o células T, B o ambas. Sin embargo aunque tengan la capacidad de unirse al Ac, algunos Ag no son Inmunógenos esto quiere decir que no tienen la propiedad inmunogénica ya que algunos Ag necesitan conjugarse con un inmunógeno para lograrlo. Que introducidos en un huésped despierte en él una respuesta inmunológica, presentando las siguientes características.

Estructura  
Accesibilidad  
Digestibilidad

**Los antígenos de clase I** se expresan en la superficie de todas las células en el núcleo con excepción de neuronas y trofoblastos. Según se van formando en la célula infectada (infección viral), se enlazan con las proteínas virales (antígenos) que se están sintetizando, formando un complejo SLA I - Antígeno que se expresa en la membrana de la célula infectada. Este complejo será reconocido por un determinado linfocito T, el CD 8+

o linfocito T citotóxico, que destruirá la célula infectada. La presentación de antígenos en células infectadas a los CD8+, es una de sus funciones principales de los SLA I.

Están formados por un heterodímero compuesto por dos cadenas: **una pesada** denominada A de 45 kd de peso molecular y extremadamente polimórfica, codificada por genes del SLA. La otra cadena es **ligera** de peso molecular inferior (12 kb) denominada B, no está codificada por genes SLA y no es polimórfica. Cada **haplotipo** del SLA codifica 2 o 3 **loci** clase I, denominados, al igual que en la especie humana, como: A, B y C con un total de entre 7 a 10 genes diferentes. Las diferencias funcionales de los genes clase I se pueden definir serológicamente, habiéndose identificado más de 40 **alelos** diferentes del SLA I

**Los antígenos de clase II se expresan, de forma más restringida. Se encuentran en los linfocitos B, las células presentadoras de antígenos y en varias subpoblaciones de linfocitos T**, estos últimos tanto si están activados como sin estarlo (particularidad de la especie porcina). **La función del SLA II es también la presentación de antígenos a los linfocitos T CD4+**, pero en este caso, mediante las células fagocíticas o presentadoras de antígenos, las cuales procesan los antígenos por **degradación mediante enzimas y no por infección celular** como en el caso de los SLA I. Las moléculas del agente capturado por estas células y degradadas en pequeñas partículas, son asociadas a los SLA, expresadas en la membrana celular formando un complejo: **SLA II – Antígeno**. En este caso el linfocito T que reconocerá al mencionado complejo **será el CD4 o linfocito T cooperador. También el linfocito B expresa SLA II.**

**Están representados por los loci: SLA-DR y SLA-DQ. Los antígenos de clase II están formados por dos cadenas de glicoproteínas** que se denominan  $\alpha$  y  $\beta$  presenta un peso molecular de: 33 a 35 kb y de 135 kb la cadena  $\beta$ . Ambas presentan un peso molecular de: 33 a 35 kb la cadena  $\alpha$  y de 27 a 29 la cadena  $\beta$ . La familia SLA está formada por alrededor de 10 genes diferentes.

## UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

**Los genes de clase III:** A diferencia de los SLA I y SLA II, codifican proteínas **que no se encuentran en la superficie de las células sino en la sangre**. Así varios de los componentes del **complemento** son codificados por el SLA III, interviniendo además, en otras acciones del sistema inmune menos específicas, como la selección de factores de necrosis tumoral.

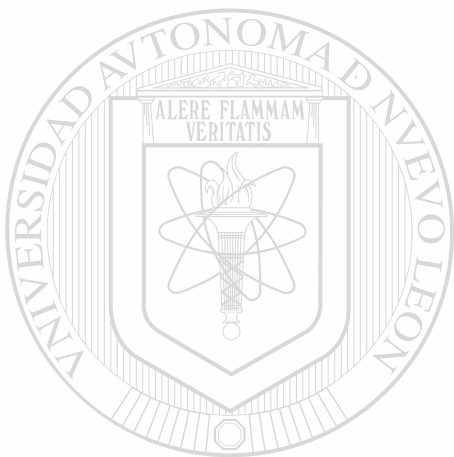
### Vías De Administración Del inmunógeno:

- a) Parenteral
- b) Subcutánea
- c) Oral (3, 8)

### BIBLIOGRAFIA

1. Abbas Abul K, Lichtman Andrew H, Pober Jordan S., 2002. Inmunología Celular y Molecular. 4ta Edición. Editorial McGRAW- HILL INTERAMERICANA. pp. 216, 238, 239.
2. González Cejudo María Norma; 1999. Avances en Inmunizaciones. Medica Pediátrica Infectología. Departamento de Infectología Instituto Nacional Perinatología.

3. Janeway, CA. Travers Paul, Walport Mark, Capra Donal J. 2000. Inmunobiología El Sistema Inmunitario en Condiciones de Salud y Enfermedad. MASSON. Cuarta edición. pp. 80-100, 562-573
4. Iáñez Pareja Enrique. CURSO DE INMUNOLOGÍA GENERAL. Regulación y Tolerancia. Departamento de Microbiología. Universidad de Granada, España.
5. Moreno García María Alejandra, Muñoz Escobedo Jesús J., 2003. Inmunidad Inespecífica y Específica, en la relación Huésped Parásitos. Vision Veterinaria Primer Portal Veterinario del Perú. pp 1-19.
6. Regueiro José R., López Larrea Carlos., 1997. Inmunología Biología y Patología del Sistema Inmune. 2da Edición. Editorial Médica Panamericana. pp. 1- 7, 42.
7. Roitt Ivan, Brostoff Jonathan, Male David. 2000. Inmunología. Quinta edición. Harcourt. España, pp 71-80, 263-272.
8. Sánchez Vizcaíno J.M. 2001. Curso de Introducción a la Inmunología Porcina.



# UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

**REDVET®** Revista Electrónica de Veterinaria (ISSN nº 1695-7504) es medio oficial de comunicación científico, técnico y profesional de la Comunidad Virtual Veterinaria, se edita en Internet ininterrumpidamente desde 1996. Es una revista científica veterinaria referenciada, arbitrada, online, mensual y con acceso a los artículos íntegros. Publica trabajos científicos, de investigación, de revisión, tesis, tesis doctorales, casos clínicos, artículos divulgativos, de opinión, técnicos u otros de cualquier especialidad en el campo de las **Ciencias Veterinarias** o relacionadas a nivel internacional.

Se puede acceder vía web a través del portal Veterinaria.org® <http://www.veterinaria.org> o en **REDVET®** <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet>

Se dispone de la posibilidad de recibir el Sumario de cada número por correo electrónico solicitándolo a [redvet@veterinaria.org](mailto:redvet@veterinaria.org) Si deseas postular tu artículo para ser publicado en **REDVET®** contacta con [redvet@veterinaria.org](mailto:redvet@veterinaria.org) después de leer las Normas de Publicación en <http://www.veterinaria.org/normas.html>

Se autoriza la difusión y reenvío de esta publicación electrónica siempre que se cite la fuente, enlace con Veterinaria.org®. <http://www.veterinaria.org> y **REDVET®** <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet>

**Veterinaria Organización S.L.®** - (Copyright) 1996-2007- E\_mail: [info@veterinaria.org](mailto:info@veterinaria.org)

## Descripción de algunos aspectos básicos de inmunización (Description of some basic aspects from immunization)

M. en C. **Claudia Herminia Maldonado Tapia** (1), M. en C. **José Jesús Muñoz Escobedo** (2), M.V.Z. **Sergio Saldivar Elías** (3) Dra. en C. **Alejandra Moreno García** (3). Estudiante de Doctorado de Ciencias Biológicas Universidad Autónoma de Nuevo León, (1), Unidad Académica de Odontología (2), Departamento de Biología Celular y Microbiología de La Unidad de Biología Experimental (3). Universidad Autónoma de Zacatecas.

Contacto por email: [amoreno\\_29@hotmail.com](mailto:amoreno_29@hotmail.com)

### REDVET: 2007, Vol. VIII Nº 5

Recibido: 18 Marzo 2007 / Referencia: 050712\_REDDET / Aceptado: 30 Abril 2007 / Publicado: 01 mayo 2007

Este artículo está disponible en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n050507.html> concretamente en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n050507/050712.pdf>

REDVET® Revista Electrónica de Veterinaria está editada por Veterinaria Organización®.

Se autoriza la difusión y reenvío siempre que enlace con Veterinaria.org® <http://www.veterinaria.org> y con REDVET® - <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet>

### Resumen

En el presente trabajo se presenta una breve descripción de la importancia de la inmunización, como han evolucionado las

vacunas en cuanto a su generación y la importancia de su manejo para obtener un efecto adecuado.

**Palabras claves:** Inmunización, Vacunas. ®

### Summary

In The next job is presented a few description of the importance of the immunization, about how have been developing the vaccines

referring to it's generation and the importance

**Key words:** Immunization, Vaccines.

### INTRODUCCION

El humano se dio cuenta de la necesidad de protegerse contra enfermedades infecciosas. Al observar personas que posterior al haber padecido una patología no volvía a enfermar de ese padecimiento o si lo hacían era menos agresiva, y no les causaba la muerte (8).

En la actualidad se ha observado que la interacción entre el hombre y los microorganismos se deterioran cada día más debido a la elevada morbilidad por enfermedades infecciosas. Hoy en día no existen vacunas para todas las enfermedades, ninguna es completamente

inocua. Los esquemas básicos de inmunización se elaboran de acuerdo al tipo de inmunógenos, población, epidemiología de las principales enfermedades infecciosas (2).

## LAS VACUNAS

Son cualquier sustancia viva o muerta, de tipo protéicas, carbohidratos etc. las que son capas de inducir una respuesta inmune protectora y duradera, frente al agente extraño virulento, sin producir efectos secundarios hacia el organismo. Se basa en la memoria del sistema inmune, en la que se da una respuesta adquirida, humoral y celular, se denomina inmunización activa (5).

## TIPOS DE INMUNIZACION

- Pasiva: se administra anticuerpos séricos, protectores a un individuo susceptible a la infección, lo que proporciona una protección temporal por semanas o meses.
- Activa: es proporcionada por las vacunas, que se administran una parte o todo un antígeno del microorganismo, lo que produce una respuesta inmunológica semejante a la de la enfermedad natural y proporciona protección duradera (2).

## ANTECEDENTES DE LAS VACUNAS

La realizó Edward Jenner (1749-1823), en 1796 frente a la viruela humana. Él observó en personas que habían sufrido viruela vacuna no padecían la viruela humana, por lo que realizó un preparado, con las vesículas de vacas infectadas, inoculándolo a personas sanas, esta los protegía frente a la viruela humana.

Utilizó microorganismos heterólogos, de virus vacuno para prevenir la enfermedad en el hombre, modificando su virulencia, o inactivación total, denominándose **Vacuna inactivada**. Posteriormente Louis Pasteur (1822-1895), demostró que se podía inducir inmunidad duradera, utilizando microorganismos homólogos, estas vacunas se denominan **CONVENCIONALES**, las que han tenido éxito en el control y lucha frente a un gran número de enfermedades tanto en animales como en humanos ayudando al control de enfermedades (7, 8).

El mecanismo inmunitario de la vacunación fue aclarado en 1957, cien años después de Pasteur. Por Frank Burnet (1899-1985) mediante la teoría de selección clonar, con el descubrimiento en 1965 de los linfocitos T y B.

Los antígenos que componen una vacuna inducen respuesta primaria con estimulación o expansión clonal de linfocitos T y B memoria (células memoria). Capaz de inducir RESPUESTA SECUNDARIA si los antígenos penetran nuevamente (3,7).

## 1.- VACUNAS ATENUADAS E INACTIVADAS

Las vacunas atenuadas y/o muertas han sido la base inmunológica principal para el control y erradicación de la gran mayoría de las enfermedades infecciosas hasta nuestros días. Utilizan un agente infeccioso, vacunas monovalentes o varias vacunas polivalentes vivos y homólogos al que produce la enfermedad, pero cuya virulencia ha sido atenuada, de manera que no produce ninguna lesión secundaria en el paciente, induce a la inmunidad duradera frente al agente homólogo virulento (3,7).

En la actualidad el sistema de atenuación más utilizado, se basa en la realización de un gran número de pases o replicaciones del virus o bacteria virulento en líneas celulares

(virus) o medios de cultivo (bacterias), de tal manera que los microorganismos pierdan virulencia, no produzca ningún tipo de lesión en el animal, pero siga teniendo la capacidad de replicarse o multiplicarse lo suficiente para que el sistema inmune pueda procesarlo (3, 7, 8).

Desde los trabajos de Louis Pasteur hasta la actualidad, han sido las vacunas que, frente a diferentes enfermedades de origen bacteriano y vírico, se han desarrollado utilizando diferentes métodos, para atenuar la virulencia de los agentes infecciosos, seleccionando cepas no virulentas, la inactivación total de los mismos, para la producción de vacunas muertas.

Las vacunas vivas atenuadas inducen una respuesta inmune superior a las vacunas inactivadas o muertas, en el caso de los virus, se debe al infectar las células huésped se inducen todos los mecanismos inmunitarios, de presentación antigénica ligado a linfocitos CD4+ y al HLA II, y de activación citotóxica ligados a linfocitos CD 8+ y el HLA I, así como la liberación de diversas citocinas (7, 8).

## 2.- LA VACUNA MUERTA O INACTIVADA

Las vacunas muertas o inactivadas están formadas por el o los microorganismos completos pero inactivados por método físico o químico. Se han producido a partir de productos de microorganismos bacterianos inactivados, como es el caso del tétanos con notable éxito. Presentan ventajas frente a las vacunas atenuadas, su estabilidad, seguridad y conservación. Sin embargo, suelen inducir una respuesta inmunitaria menor que las vacunas atenuadas, fundamentalmente son ligadas a linfocitos CD 4+ con producción de anticuerpos.

Los métodos para la inactivación de los antígenos vacunales utilizados en la actualidad, se basan en tratamientos químicos o físicos que no producen modificaciones en las proteínas que puedan alterar la respuesta inmune. Los más utilizados son: formaldehído y agentes quelantes (óxido de etileno, propiolactona, etilenoimina, etc). Estos agentes, producen uniones cruzadas en las cadenas de los ácidos nucleicos, inactivando al microorganismo pero no alterando sus proteínas, beta-propiolactona, permite hidrólisis en horas, produce productos atóxicos, estas vacunas son seguras al no ser infecciosas no virulentas, pero se debe aplicar en gran cantidad y múltiples dosis para producir respuesta inmune (2, 5, 8).

### DESVENTAJAS DE VACUNAS IN-ACTIVADAS MUERTAS

#### Atenuadas

- a) no son estables
- b) pueda revertir a las formas virulentas
- c) La estabilidad de la atenuación es el factor más crítico en estas vacunas

#### Muerta o Inactivada

- a) induce respuesta inmunitaria menor que las vacunas atenuadas
- b) fundamentalmente ligada a linfocitos CD 4+ con producción de anticuerpos.

Las vacunas convencionales, inactivadas y atenuadas necesitan mantenerse en temperaturas de refrigeración de 2 a 8°C. Estos requerimiento impiden algunas ocasiones, en países del tercer mundo o en zonas poco desarrolladas, para que las vacunas se mantengan en buen estado antes de ser utilizadas haciéndolas menos efectivas. Ya que al estar formada por microorganismos vivos modificados (atenuados), necesitan mantenerse en cadena frío permanentemente, para evitar que el microorganismo muera parcial o totalmente.



## **PROBLEMAS QUE PRESENTAN LAS VACUNAS CONVENCIONALES**

- a) **IMPOSIBILIDAD DE DIFERENCIAR PACIENTES VACUNADOS DE ENFERMOS:** es el principal problema de las vacunas convencionales. Debido a que las vacunas convencionales están formadas por virus o bacterias completos (atenuados o inactivados), el sistema inmune detecta los antígenos igual que cuando se produce una infección, dando como respuesta la misma.
- b) **DIFICULTAD PARA CONSEGUIR UNA VACUNA EFICAZ PARA TODAS LAS ENFERMEDADES.**

Estos problemas han sido resueltos con las nuevas tecnologías, la producción de vacunas de nueva generación

## **INSEGURIDAD DE LA VACUNA**

- a) La posible reversión a la virulencia de las vacunas vivas
- b) La estabilidad de atenuación es el factor más crítico en estas vacunas.
- b) Fallos en la total inactivación de las vacunas inactivadas.
- c) Contaminaciones con agentes bacterianos o virales no detectados.
- d) En algunas ocasiones se pueden contaminar las líneas celulares de la preparación del inóculo de la vacuna con el virus que no producen efecto citopático, que se replica en paralelo con el virus vacunal.

El control de calidad y seguridad de los diferentes lotes de vacunas deben detectar estos problemas, no siempre posibles.

## **EFFECTOS SECUNDARIOS.**

Debido a la vacunación con vacunas convencionales. Generalmente se producen a nivel local inflamación o edema en el punto de inoculación. Puede o no aparecer fiebre, infrecuentemente reacciones de hipersensibilidad o de inmunosupresión pasajera (2). En algunos niños son importantes las reacciones adversas como sistémicas y alérgicas (8). ®

## **LOS ADYUVANTES**

Son importantes para aumentar la inmunogenicidad de las vacunas inactivadas, de proteínas purificadas, péptidos sintéticos, vacunas conjugadas no son fuertemente inmunogénicas por sí solas. Los adyuvantes son sustancias que potencializan la respuesta inmunológica, requiriendo menor cantidad de antígenos y dosis. La mayoría de los adyuvantes actúan sobre las células presentadoras de antígeno (3, 2). Estos actúan favoreciendo la presentación de antígenos al sistema inmune, mediante el secuestro de los antígenos vacunales, la posterior liberación lenta y prolongada, así como produciendo una ligera inflamación, activando la atracción de las células presentadoras, favoreciendo la quimiotaxis.

Los adyuvantes utilizados son sales de aluminio (hidróxido de aluminio o fosfato de aluminio), cuando se unen al antígeno e inoculan en un animal producen un ligero granuloma favoreciendo la lenta eliminación del antígeno (estimulación antigénica más duradera), atracción de las células presentadoras, aumenta la capacidad de respuesta inmune (5).

Otras formas de adyuvantes, se mezclan con el antígeno en emulsión de agua y aceites minerales, conocida como adyuvante incompleto de Freund (el adyuvante completo

además está compuesto por *Mycobacterium tuberculosis* muerto). Induciendo una reacción inflamatoria con atracción de células presentadoras (8).

### 3.- VACUNAS DE NUEVA GENERACIÓN

Gracias a los avances en el conocimiento de la respuesta inmune y técnicas de biología molecular, han permitido identificar, agentes infecciosos, proteínas de interés inmunológico, expresarlas y amplificando y eliminando aquellas que no presentan interés inmunológico y eliminar la porción que causa la enfermedad.

Una posibilidad que brinda la ingeniería genética es la eliminación de genes que expresan proteínas relacionadas con la virulencia, consiguiendo cepas atenuadas. Igualmente se pueden incorporar distintos genes de diferentes microorganismos en uno solo que actúa como vector.

Gracias a la biología molecular se ha podido avanzar en el conocimiento de los diferentes genes que componen los microorganismos y las proteínas que codifican. De esta manera se ha podido modificar la estructura genómica de algunos microorganismos, eliminando genes que codifican proteínas ligadas a la virulencia, consiguiendo cepas atenuadas de manera estable y segura.

Son proteínas de un agente infeccioso capaces de inducir respuesta inmune protectora de forma semejante a la que induciría el agente infeccioso completo con posibilidad de incorporar:

1. secuencias de otros antígenos, puede aumentar la estimulación de linfocitos B y T.
2. e incluso la liberación de citocinas. De esta manera se podría mejorar la presentación de los antígenos al sistema inmune (8, 7, 3).

### 4.- VACUNAS RECOMBINANTES VIVAS

Las vacunas recombinantes vivas son basadas en la utilización de microorganismo (virus o bacteria) que actúan como vector para expresar genes de otro microorganismo diferente. Este nuevo microorganismo recombinante, puede utilizarse como vacuna.

El microorganismo que se utiliza frecuentemente como vector de la expresión es el virus de la vacuna ("vaccinia"), debido a su genoma amplio y estudiado lo cual permite insertar genes extraños sin alterar su maquinaria replicativa. El inconveniente de este vector es que al ser un virus capaz de infectar a la mayoría de las especies animales, incluso al hombre, se obtendría una vacuna viva no específica de especie por tanto susceptible de inmunizar a cualquier animal.

Una de las últimas vacunas OBTENIDAS, no utiliza el virus vaccinia, ha sido la de Mixomatosis y la de Enfermedad vírica hemorrágica del conejo. Esta vacuna, ha utilizado el virus de la mixomatosis como vector sobre el que se ha insertado el gen de la proteína VP 60 del virus, para mejorar la expresión de citocinas (8).

### 5.- VACUNAS DE ADN

En la actualidad se está estudiando la posibilidad de utilizar directamente una fracción de ADN purificado que contenga el gen de la proteína capaz de inducir una respuesta inmune protectora.

Esta fracción de ADN se inserta en un plásmido, que hace de vector. Las células animales captan estos plásmidos, mediante procesos todavía no bien entendidos, incorporándolos en el núcleo celular, permitiendo la expresión del gen foráneo y producción de la

correspondiente proteína. Esta proteína, se expresa en la superficie de la célula o es liberada así al medio, por lo que el sistema inmune la puede reconocer en su forma nativa, de la misma manera que durante una infección natural con el agente completo, induciendo una excelente respuesta inmune (2, 8, 4).

## 6.- VACUNAS ANTIDIOTIPO

Destacan a nivel experimental. Estas vacunas se basan en el reconocimiento de las estructuras en reacción antígeno anticuerpo. Cuando un animal es inoculado con un determinado antígeno se produce una respuesta humoral. Es otra forma de inducir inmunidad, en un momento determinado, con fines curativos más que preventivos

Las inmunoglobulinas que se inducen presentan, en el sitio de unión en el último párrafo (idiotipo) de la región variable, la estructura inversa del epitope inductor de la reacción. Si inoculáramos esos sitios de unión a otro animal, se producirían anticuerpos frente a esas estructuras, que serían también complementarias (anticuerpos antidiotipo).

Los anticuerpos inducidos contra el idiotipo (antidiotipo) tendrían la misma estructura que el antígeno original por tanto servirían como antígenos para inmunizar frente al primer antígeno que inició la cadena. Los anticuerpos antidiotipo pueden ser anticuerpos policlonales o anticuerpos monoclonales, ser utilizados como vacunas, especialmente en aquellos casos en los que es muy difícil obtener las proteínas o codificar los genes correspondientes a las proteínas de interés inmunológico (7, 4).

### Redes idiotípicas

Consideremos las inmunoglobulinas como auto-antígenos. En las primeras fases de vida, se induce la tolerancia en porciones constantes (Fc) porque globalmente existen en grandes concentraciones, no se induce tolerancia frente a los idiotipos, (residentes en la parte variable de Fab) porque cada uno de ellos está presente en muy pequeñas cantidades: esta es la razón por la que las inmunoglobulinas son inmunogénicas en el mismo individuo, el papel real de la red idiotípica en el control normal del sistema inmune aún no está claro del todo, estando sujeto a debates, de que algunos anticuerpos anti-idiotípicos reconocerán al paratopo del anticuerpo, por lo tanto, son como la **imagen interna** que tiene el organismo del epitopo del antígeno exógeno. Esta imagen interna podría servir para seguir activando al sistema inmune aun cuando hubiera desaparecido el antígeno exógeno que desencadenó la respuesta, asegurando expansión clonal y células de memoria.

Ejemplos de vacunas basadas en anti-idiotipos que se han usado con éxito experimentalmente en animales de laboratorio: Newcastle, Sendai, reovirus, virus de la rabia, hepatitis B, citomegalovirus, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Streptococcus pneumoniae*, *Schistosoma mansoni*, *Trypanosoma rhodiense*

Se han hecho intentos de vacunas anti-idiotípicas frente al VIH (virus del sida), a base de anti-Id hacia anticuerpos anti-CD4. Aunque el anti-Id es capaz de neutralizar al virus tanto *in vitro* como *in vivo*, la incertidumbre sobre su capacidad de provocar respuestas celulares ha hecho que no se empleen clínicamente.

Una línea interesante que se está explorando en ratones es el uso de ciertos anti-Id como vacunas neonatales capaces de superar el efecto inhibitor de las IgG maternas (7, 4, 8)

## TOLERANCIA

Inmunológica es la ausencia específica de respuesta inmune que se induce por la exposición previa a un antígeno (4, 1), ya sea propio o extraño, inducida por el contacto previo con dicho antígeno. La tolerancia se desarrolla de un modo **natural**, cuando un

animal en desarrollo se vuelve incapaz de responder a sus propias moléculas (**autotolerancia**). Cuando este sistema falla, se producen patologías por **autoinmunidad**.

La tolerancia inducida **experimentalmente** es un estado de ausencia de respuesta a un antígeno que normalmente sería inmunogénico (4).

#### **Existen tres tipos de tolerancia:**

- a) Tolerancia Inmunológica es la falta de respuesta de a un antígeno inducida por la exposición de linfocitos específicos a ese antígeno. La tolerancia a los autoantígenos propiedad fundamental del sistema inmunitario normal, el fracaso de autotolerancia origina enfermedades autoinmunitarias. Los antígenos pueden administrarse de formas que induzcan tolerancia en lugar de inmunidad.
- b) Tolerancia Central se induce en los órganos linfoides generadores cuando los linfocitos inmaduros encuentran autoantígenos presentes en estos órganos.
- c) Tolerancia Periférica se produce cuando los linfocitos maduros reconocen autoantígenos en tejidos periféricos en condiciones determinadas.

Los principales mecanismos de tolerancia son delusión (muerte celular apoptótica, la anergia (in activación funcional) y supresión por células T reguladoras (1).

#### **7.- SUEROTERAPIA**

Es otra forma de inducir inmunidad, en un momento determinado, con fines curativos más que preventivos, ya que la protección que confiere la suero terapia es de tiempo relativamente corto. El suero es la parte fluida de la sangre obtenida tras la coagulación, cuando se obtiene de un individuo inmunizado se denomina antisuero por que contiene Ac específicos contra el Ag inmunizante, así como el resto de las proteínas séricas. Los antisueros contienen colecciones heterogéneas de Ac, todos ellos se unen al Ag empleado para la inmunización, pero cada uno posee su propia estructura, su propio epitopo en el antígeno y su propio conjunto de reacciones cruzadas. Esta heterogeneidad hace que cada antisuero sea único (3).

#### **Neutralización**

Es un proceso de in activación que sucede mediante Ac que inhiben la infectividad de un virus o toxicidad de una molécula de toxina (3).

#### **REQUISITOS PARA QUE UNA VACUNA SEA EFECTIVA**

Varían según sea la naturaleza del organismo que infecta. Para los organismos extracelulares, los anticuerpos proporcionan el mecanismo adaptativo más importante de defensa, para el control de organismos intracelulares es esencial una respuesta efectiva de linfocitos TCD8.

La vacunación ideal proporciona defensa desde el momento en que entra el agente infeccioso; estimulación de la inmunidad en la mucosa es importante para la vacunación contra varios organismos que penetran a través de las superficies de las mucosas.

La inmunidad protectora efectiva contra algunos organismos necesita la presencia de anticuerpos preexistentes en el momento de la exposición a la infección. La respuesta inmunitaria contra infecciones implica, anticuerpos dirigidos contra epitopos múltiples, alguno de estos anticuerpos confieren protección. Los epitopos particulares reconocidos por células T pueden afectar la naturaleza de la respuesta. Una vacuna efectiva debe generar anticuerpos y células T dirigidos contra los epitopos correctos del agente infeccioso (3).

### **Características que debe tener las Vacuna para que sea eficaz**

1. Segura e inocua para el huésped
- 2.- Protectora, la vacuna debe ser capaz de originar inmunidad
- 3.- Duradera (induce anticuerpos neutralizantes), utilizar microorganismos heterólogos, modificando su virulencia, o muertas
- 4.- Consideraciones prácticas Económica

### **Edad para la vacunación**

Primeros 2-3 meses de vida

Que el agente vacunal altamente efectivo sea aplicado lo más tempranamente posible

Que el número de inoculaciones sea el adecuado para mayor eficacia.

Las re-inmunización se realice dentro de los periodos preestablecidos.

### **Complicaciones de las vacunaciones**

Reacciones de hipersensibilidad.

Los Virus pueden producir alteraciones en los tejidos originando encefalitis

Vasculitis por el toxoide tetánico depositos Ag-Ac (3).

### **LOS ANTICUERPOS**

Los anticuerpos circulantes reconocen los antígenos en el suero y líquidos titulares. Son moléculas proteínicas que se presentan en los fluidos de un vertebrado después de introducir un antígeno, al que destruyen o neutralizan, los cuales tienen estas características.

4 cadenas polipeptídicas

Porción variable (Fab)

Sitio activo

Porción constante (Fc)

Idiotipo actúa como determinante antigénico (3).

### **LAS INMUNOGLOBULINAS (Igs)**

Son un grupo de glucoproteínas presente en suero y líquidos titulares de todos los mamíferos. Algunas se encuentran en la superficie de las células B, actúan como receptores de antígenos específicos. Otras Igs se encuentran libres en la sangre y linfa. Se puede emplear como antígeno, es tratada como otra proteína extraña provocando respuesta por anticuerpos. Las diferencias entre las regiones constantes es debido al empleo de genes de regiones C diferentes en cadenas pesadas por un gen separado, pueden producir en forma secretoria o como receptores unidos a membrana se denominan

ISOTIPOS (todas las células B expresan inicialmente forma transmembrana de IgM), ALOTIPOS son las diferencias que existe en distintos alelos del mismo gen C, los IDIOTIPOS son diferencias causadas por genes reordenados VH - VL (7, 6).

## CLASIFICACIÓN DE LOS ANTICUERPOS

**IgG** Es la Ig más abundante en el suero humano normal, constituye el 70-75% de Ig totales. La IgG es la única molécula tetracatenaria con un coeficiente de sedimentación de 7S y 146.000 Daltons de peso molecular, las IgG se subdividen en IgG1, IgG2, IgG3, IgG4. Se encuentran ampliamente distribuidas en compartimentos intra y extravascular, son los predominantes en la respuesta inmunitaria secundaria y los únicos que presentan actividad frente a las toxinas. Las IgG procedentes de la madre confiere inmunidad al recién nacido durante los primeros meses de vida esto es por que en el humano es capaz de atravesar la placenta. En algunas especies como el cerdo no hay paso de IgG, las IgA solo se confieren por la leche que se absorben en el tracto gastrointestinal.

**IgM** Esta consta del 10% de las Ig totales. La molécula es un pentámero de la estructura tetracatenaria básica. Cada cadena pesada tiene un PM de 65.000 daltons, y la molécula completa pesa 970.000 KDa, esta se encuentra en espacio intravascular, es el anticuerpo que participa en mayor cantidad en la fases tempranas de la respuesta inmunitaria.

**IgA** Constituyen el 15-20% de las Ig sérica humana. En los seres humanos, más del 80% de la IgA se encuentra en forma de monómero de la unidad, son poliméricas en forma de dímeros, la Ig de las secreciones seromucosas como la saliva, calostro, leche, secreciones traqueobronquiales y genitourinarios. La cual es de dos subclases.

**IgE** Aunque el suero tiene poca cantidad, esta se encuentra en la superficie de los basófilos y mastocitos de todos los individuos. Es una reaginina, desempeña un papel en la defensa frente a los helmintos y enfermedades alérgicas.

**IgD** Es la de menor concentración 1% de las Ig plasmáticas totales, abundan en las membranas de células B, no se sabe exactamente la función biológica, pero puede ser que desempeñe un papel en la diferenciación de linfocitos inducida por los Antígenos. (7, 8, 6).

La Respuesta Inmune es la capacidad de mostrar complejos mecanismos, con reacciones en cadena contra elementos considerados ajenos al organismo.

Propiedades de la Respuesta Inmune son:

- 1 ra. Inducida
- 2 da. Especifica
- 3 ra. Memoria
- 4 ta. Transferible (3, 7).

Inmunógenos: sustancias capaz de desencadenar una respuesta inmune.

Virus atenuados  
Virus inactivados  
Sub-unidades virales

B. vivas atenuadas  
B. Enteras inactivadas  
Toxoides bacterianos  
Polisacáridos bacterianos  
Obtenidos por ingeniería genética  
Parásitos (3).

### **LOS ANTICUERPOS SE GENERA POR CUATRO PROCESOS:**

La diversidad de los Ac es tratada por tres consecuencias del proceso de recombinación empleado para crear regiones variables (V) completas.

La propiedad de respuesta Transferible consiste en un proceso de mutación que se produce después que actúa sobre el ADN reordenado las codificaciones de las regiones.

a) En primer Lugar: existe múltiples copias diferentes de cada tipo de segmentos génicos que forman la región V, puede utilizar diferentes combinaciones de segmentos de recombinación distintos. Ellos son responsable de la parte de la sustancias de la diversidad de las regiones V de la cadena pesada y ligera.

B) En segundo lugar: diversidad combinatoria se originan a partir del emparejamiento de combinaciones distintas de regiones V de ambas cadenas para formar el sitio de unión de los Ac.

Solo con estos dos medios de generación de diversidad podría producir en teoría aproximadamente  $2.5 \times 10^6$  a la  $10^7$  molécula de anticuerpos diferentes.

C) En tercer lugar: en las uniones entre los diferentes segmentos génicos se introduce diversidad adicional como consecuencia de proceso de recombinación

La hipermutación somática introduce mutaciones puntuales en los genes reordenados de la región V, es el único medio por el que da especificidad al antígeno de una Inmunoglobulina puede alterarse después de que la recombinación haya creado los genes funcionales de las cadenas pesadas y ligeras (3).

### **LOS ANTIGENOS (Ag)**

Es cualquier molécula capaz de inducir la producción de Ac específicos por parte de células B. En la actualidad se utiliza en un sentido más amplio y se aplica a cualquier molécula que pueda ser reconocida específicamente por cualquiera de los elementos del sistema inmunitario adaptativo o células T, B o ambas. Sin embargo aunque tengan la capacidad de unirse al Ac, algunos Ag no son Inmunógenos esto quiere decir que no tienen la propiedad inmunogénica ya que algunos Ag necesitan conjugarse con un inmunógeno para lograrlo. Que introducidos en un huésped despierte en él una respuesta inmunológica, presentando las siguientes características.

Estructura  
Accesibilidad  
Digestibilidad

**Los antígenos de clase I** se expresan en la superficie de todas las células en el núcleo con excepción de neuronas y trofoblastos. Según se van formando en la célula infectada (infección viral), se enlazan con las proteínas virales (antígenos) que se están sintetizando, formando un complejo SLA I - Antígeno que se expresa en la membrana de la célula infectada. Este complejo será reconocido por un determinado linfocito T, el CD 8+

o linfocito T citotóxico, que destruirá la célula infectada. La presentación de antígenos en células infectadas a los CD8+, es una de sus funciones principales de los SLA I.

Están formados por un heterodímero compuesto por dos cadenas: **una pesada** denominada A de 45 kd de peso molecular y extremadamente polimórfica, codificada por genes del SLA. La otra cadena es **ligera** de peso molecular inferior (12 kb) denominada B, no está codificada por genes SLA y no es polimórfica. Cada **haplotipo** del SLA codifica 2 o 3 **loci** clase I, denominados, al igual que en la especie humana, como: A, B y C con un total de entre 7 a 10 genes diferentes. Las diferencias funcionales de los genes clase I se pueden definir serológicamente, habiéndose identificado más de 40 **alelos** diferentes del SLA I

**Los antígenos de clase II se expresan, de forma más restringida. Se encuentran en los linfocitos B, las células presentadoras de antígenos y en varias subpoblaciones de linfocitos T**, estos últimos tanto si están activados como sin estarlo (particularidad de la especie porcina). **La función del SLA II es también la presentación de antígenos a los linfocitos T CD4+**, pero en este caso, mediante las células fagocíticas o presentadoras de antígenos, las cuales procesan los antígenos por **degradación mediante enzimas y no por infección celular** como en el caso de los SLA I. Las moléculas del agente capturado por estas células y degradadas en pequeñas partículas, son asociadas a los SLA, expresadas en la membrana celular formando un complejo: **SLA II – Antígeno**. En este caso el linfocito T que reconocerá al mencionado complejo será el **CD4 o linfocito T cooperador. También el linfocito B expresa SLA II.**

**Están representados por los loci: SLA-DR y SLA-DQ. Los antígenos de clase II están formados por dos cadenas de glicoproteínas** que y denominadas presenta un peso molecular de: 33 a y de 135 kb la cadena 27 a . Ambas 29 la cadena que presenta un peso y cadenas están codificadas por genes del SLA molecular de: 33 a 35 kb la cadena alfa y de 27 a 29 la cadena B. La familia SLA está formada por alrededor de 10 genes diferentes.

**Los genes de clase III:** A diferencia de los SLA I y SLA II, codifican proteínas **que no se encuentran en la superficie de las células sino en la sangre**. Así varios de los componentes del **complemento** son codificados por el SLA III, interviniendo además, en otras acciones del sistema inmune menos específicas, como la selección de factores de necrosis tumoral.

#### **Vías De Administración Del inmunógeno:**

- a) Parenteral
- b) Subcutánea
- c) Oral (3, 8)

#### **BIBLIOGRAFIA**

1. Abbas Abul K, Lichtman Andrew H, Pober Jordan S., 2002. Inmunología Celular y Molecular. 4ta Edición. Editorial McGRAW- HILL INTERAMERICANA. pp. 216, 238, 239.
2. González Cejudo María Norma; 1999. Avances en Inmunizaciones. Medica Pediátrica Infectología. Departamento de Infectología Instituto Nacional Perinatología.



3. Janeway, CA. Travers Paul, Walport Mark, Capra Donald J. 2000. Inmunobiología El Sistema Inmunitario en Condiciones de Salud y Enfermedad. MASSON. Cuarta edición. pp. 80-100, 562-573
4. Iáñez Pareja Enrique. CURSO DE INMUNOLOGÍA GENERAL. Regulación y Tolerancia. Departamento de Microbiología. Universidad de Granada, España.
5. Moreno García María Alejandra, Muñoz Escobedo Jesús J., 2003. Inmunidad Inespecífica y Específica, en la relación Huésped Parásitos. Visión Veterinaria Primer Portal Veterinario del Perú. pp 1-19.
6. Regueiro José R., López Larrea Carlos., 1997. Inmunología Biología y Patología del Sistema Inmune. 2da Edición. Editorial Médica Panamericana. pp. 1- 7, 42.
7. Roitt Ivan, Brostoff Jonathan, Male David. 2000. Inmunología. Quinta edición. Harcourt. España, pp 71-80, 263-272.
8. Sánchez Vizcaino J.M. 2001. Curso de Introducción a la Inmunología Porcina.



# UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

**REDVET®** Revista Electrónica de Veterinaria (ISSN nº 1695-7504) es medio oficial de comunicación científico, técnico y profesional de la Comunidad Virtual Veterinaria, se edita en Internet ininterrumpidamente desde 1996. Es una revista científica veterinaria referenciada, arbitrada, online, mensual y con acceso a los artículos íntegros. Publica trabajos científicos, de investigación, de revisión, tesis, tesis doctorales, casos clínicos, artículos divulgativos, de opinión, técnicos u otros de cualquier especialidad en el campo de las **Ciencias Veterinarias** o relacionadas a nivel internacional.

Se puede acceder via web a través del portal Veterinaria.org® <http://www.veterinaria.org> o en REDVET® <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet>

Se dispone de la posibilidad de recibir el Sumario de cada número por correo electrónico solicitándolo a [redvet@veterinaria.org](mailto:redvet@veterinaria.org) Si deseas postular tu artículo para ser publicado en REDVET® contacta con [redvet@veterinaria.org](mailto:redvet@veterinaria.org) después de leer las Normas de Publicación en <http://www.veterinaria.org/normas.html>

Se autoriza la difusión y reenvío de esta publicación electrónica siempre que se cite la fuente, enlace con Veterinaria.org®. <http://www.veterinaria.org> y REDVET® <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet>

**Veterinaria Organización S.L.®** - (Copyright) 1996-2007- E\_mail: [info@veterinaria.org](mailto:info@veterinaria.org)

