



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

POSGRADO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y DESARROLLO  
RURAL

**ASPECTOS DE DIMORFISMO SEXUAL,  
REPRODUCTIVOS E HISTOLÓGICOS ASOCIADOS A  
LA TENIOSIS (*Taenia pisiformis*) CISTICERCOSIS EN  
DOS ESPECIES DE LAGOMORFOS Y EN EL  
HÁMSTER DORADO**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
DOCTORA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS  
Y DESARROLLO RURAL**

**P R E S E N T A:**

**M. C. ROSA DOMÍNGUEZ ROLDAN**

**DIRECTOR DE TESIS:**

**Dr. Fernando Iván Flores Pérez**

**CODIRECTORA DE TESIS:**

**Dra. Claudia Hallal Calleros**

**Cuernavaca, Morelos, a 28 de junio de 2019**



FACULTAD DE CIENCIAS  
AGROPECUARIAS

ASPECTOS DE DIMORFISMO SEXUAL, REPRODUCTIVOS E HISTOLÓGICOS  
ASOCIADOS A LA TENIOSIS (*Taenia pisiformis*) CISTICERCOSIS EN DOS  
ESPECIES DE LAGOMORFOS Y EN EL HÁMSTER DORADO

Tesis realizada por **Rosa Domínguez Roldan** bajo la dirección del Comité Revisor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**DOCTORA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y DESARROLLO RURAL**

COMITÉ REVISOR

**Director de tesis:** \_\_\_\_\_

Dr. Fernando Iván Flores Pérez

**Codirectora de tesis:** \_\_\_\_\_

Dra. Claudia Hallal Calleros

**Revisor:** \_\_\_\_\_

Dr. Agustín Orihuela Trujillo

**Revisor:** \_\_\_\_\_

Dr. Virginio Aguirre Flores

**Revisor:** \_\_\_\_\_

Dr. Guadalupe Peña Chora

**Revisor:** \_\_\_\_\_

Dr. Mario Pérez Martínez

**Revisor:** \_\_\_\_\_

Dra. Edda Sciutto Conde

**Revisor:** \_\_\_\_\_

Dr. German Bernal Fernández

Cuernavaca, Morelos, a 28 de junio de 2019

## AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma del estado de Morelos y la Facultad de Ciencias Agropecuarias.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca número 273755 otorgada durante la realización de mis estudios.

A mis asesores Dr. Fernando Iván Flores Pérez y Dra. Claudia Hallal Calleros con respeto y admiración, por el apoyo y tiempo otorgado durante mi formación para así concluir este gran logro.

Al jurado revisor del presente trabajo: Dr. José Agustín Orihuela Trujillo, Dr. Virginio Aguirre Flores, Dr. Guadalupe Peña Chora, Dr. Mario Pérez Martínez, Dra. Edda Lydia Sciutto Conde y Dr. German Bernal Fernández, por el tiempo dedicado a la revisión de mi tesis y sus valiosos comentarios encaminados a mejorar el producto final ¡muchas gracias!

Al programa de investigación para el desarrollo de vacunas, inmunomoduladores y métodos diagnósticos.

Al MVZ Raúl Castro Luna del bioterio del Hospital Infantil de México “Federico Gómez” por la donación de los hámsteres.

## DEDICATORIAS

Dedicada especialmente:

A Dios y mis padres por la vida  
Con admiración y respeto a mis hermanas Suri, Teresita e Inesita  
Con mucho amor a Juan y Valentina

## ÍNDICE GENERAL

	PÁGINA
Índice de Figuras.....	ii
Índice de Cuadros.....	iv
Índice de Anexos.....	iv
RESUMEN.....	v
ABSTRACT.....	vii
INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
HIPÓTESIS.....	4
OBJETIVO GENERAL.....	4
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	4
Experimento 1. Definir si existe dimorfismo sexual en la parasitosis por <i>Taenia pisiformis</i> en conejos silvestres ( <i>Sylvilagus floridanus</i> ) infectados naturalmente	
INTRODUCCIÓN.....	5
MATERIALES Y MÉTODOS.....	7
RESULTADOS.....	9
DISCUSIÓN.....	13
CONCLUSIONES.....	15
Experimento 2. Evaluar el efecto de la infección en el comportamiento y sobre la mucosa uterina a nivel morfométrico en el sitio de implantación embrionaria en conejas Nueva Zelanda	
INTRODUCCIÓN.....	16
MATERIALES Y MÉTODOS.....	19
RESULTADOS.....	23
DISCUSIÓN.....	30
CONCLUSIONES.....	36
Experimento 3. Describir histológicamente la mucosa del intestino delgado en el sitio de establecimiento de <i>Taenia pisiformis</i> en el modelo del hámster	
INTRODUCCIÓN.....	37
MATERIALES Y MÉTODOS.....	39

RESULTADOS.....	42
DISCUSIÓN.....	48
CONCLUSIONES.....	51
LITERATURA CITADA.....	52

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Imagen de conejo silvestre <i>Sylvilagus floridanus</i> capturado en el municipio de Temixco del Estado de Morelos, México.....	9
Figura 2. Porcentaje ( $\pm$ EE) de metacéstodos de <i>T. pisiformis</i> en conejos silvestres. A) Conejos por sexo (machos n=10, hembras n=21); sanos (zona blanca) e infectados (zona negra); B) Hembras sanas e infectadas de acuerdo a su etapa fisiológica (gestantes n=4, lactantes n=6, vacías n=11).....	10
Figura 3. Metacéstodos de <i>Taenia pisiformis</i> (flechas negras) en conejos silvestres infectados naturalmente A) Cavidad peritoneal, B) Región pélvica y C) Mesenterio.....	11
Figura 4. Dispositivo para la medición del comportamiento mediante la prueba de campo abierto.....	20
Figura 5. Promedio ( $\pm$ EE) de la actividad locomotora evaluada durante 49 días post infección.....	23
Figura 6. Promedio ( $\pm$ EE) de la conducta exploratoria evaluada durante los 49 días post infección.....	24
Figura 7. Promedio ( $\pm$ EE) de la conducta de acicalamiento durante los 49 días post infección.....	25
Figura 8. Promedio ( $\pm$ EE) del número de embriones implantados en cada coneja a los 8 días post monta.....	26
Figura 9. Embriones implantados en conejas Nueva Zelanda a los 8 días post monta. a) Testigo, b) Infectado.....	26
Figura 10. Promedio ( $\pm$ EE) de la altura de la mucosa uterina en el sitio de implantación embrionaria en conejas Nueva Zelanda .....	27
Figura 11. Microfotografía representativa de la mucosa uterina en el sitio de implantación embrionaria en conejas Nueva Zelanda; objetivo 10X, a) Testigo, b) Infectado. Las flechas rojas muestran el sitio de implantación embrionaria.....	28

Figura 12. Promedio ( $\pm$ EE) del infiltrado inflamatorio en la mucosa uterina en el sitio de implantación embrionaria en conejas Nueva Zelanda. a) Linfocitos, b) Macrófagos.....	29
Figura 13. Linfocitos presentes en la mucosa uterina en el sitio de implantación embrionaria en conejas Nueva Zelanda 40X a) Testigo, b) Infectado, las flechas rojas indican los linfocitos .....	29
Figura 14. Macrófagos presentes en la mucosa uterina en el sitio de implantación embrionaria en conejas Nueva Zelanda 40X a) Testigo, b) Infectado, las flechas rojas indican los macrófagos.....	30
Figura 15. Tenia anclada al intestino delgado del hámster infectado con 6 metacéstodos de <i>T. pisiformis</i> a los 21 días post infección. Tinción con H y E.....	42
Figura 16. Promedio ( $\pm$ EE) de linfocitos presentes en el sitio de anclaje en el intestino delgado de los hámsteres sin infectar (testigo), infectado con 3 metacéstodos o infectado con 6 metacéstodos, a los 21 días post infección.....	43
Figura 17. Promedio ( $\pm$ EE) de macrófagos presentes en el sitio de anclaje en el intestino delgado de los hámsteres sin infectar (testigo), infectado con 3 metacéstodos e infectado con 6 metacéstodos a los 21 días post infección.....	44
Figura 18. Promedio ( $\pm$ EE) de neutrófilos presentes en el sitio de anclaje en el intestino delgado de los hámsteres sin infectar (testigo), infectado con 3 metacéstodos e infectado con 6 metacéstodos a los 21 días post infección.....	45
Figura 19. Promedio ( $\pm$ EE) de eosinófilos presentes en el sitio de anclaje en el intestino delgado de los hámsteres sin infectar (testigo), infectado con 3 metacéstodos e infectado con 6 metacéstodos a los 21 días post infección.....	46
Figura 20. Microfotografías representativas de leucocitos presentes en el sitio de anclaje en el intestino delgado de los hámsteres. Objetivo 40X (linfocitos, macrófagos, neutrófilos y eosinófilos): (a) Testigo, (b) Infectado con 3 metacéstodos, (c) Infectado con 6 metacéstodos a los 21 días post infección.....	46
Figura 21. Promedio ( $\pm$ EE) de la medición del grosor de la mucosa intestinal de hámsteres testigos, infectados con 3 metacéstodos e infectados con 6 metacéstodos a los 21 días post infección.....	47
Figura 22. Microfotografías de la mucosa del intestino delgado de hámsteres: (a) testigo, (b) infectado con 3 metacéstodos, (c) infectado con 6 metacéstodos, a los 21 días post infección. Objetivo 10X. Las flechas indican el aspecto de la mucosa donde estaba anclada la tenia .....	47

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Promedio ( $\pm$ EE) del número de metacéstodos de <i>Taenia pisiformis</i> en conejos silvestre.....	12
---	----

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Artículo 1</b> High frequency of <i>Taenia pisiformis</i> metacestodes and high sex-associated susceptibility to cisticercosis in naturally infected wild rabbits .....	63
--	----



## RESUMEN

En la interacción huésped-parásito, los hospederos han desarrollado adaptaciones para evadir la infección y los patógenos han evolucionado para prevalecer ante los mecanismos de defensa, a menudo alterando la fisiología, causando daños en órganos diana y modificando el comportamiento del huésped. Entre las especies, los signos, la prevalencia y la virulencia de algunas enfermedades pueden variar dependiendo del sexo del animal infectado. En un contexto económico, las enfermedades parasitarias tienen gran impacto negativo en los animales de producción, de laboratorio y en mascotas. Específicamente en la parasitosis causada por *T. pisiformis* se ha documentado que se alteran el comportamiento del hospedero y su prolificidad al reducir la cantidad de gazapos al nacimiento en el conejo. Por tal motivo, en este proyecto nos enfocamos a analizar aspectos de dimorfismo sexual, reproductivos e histológicos asociados a la teniosis cisticercosis por *T. pisiformis*. Para evaluar el dimorfismo sexual de la parasitosis por *T. pisiformis* se obtuvieron conejos silvestres, capturando 31 conejos en tres municipios del estado de Morelos, de los cuales 21 fueron hembras y 10 machos, con un 67.7% del total de animales infectados con metacéstodos. De las hembras, el 80% se encontraban infectadas ( $n=17$ ) y de los machos el 40% ( $n=4$ ) ( $P=0.02$ ); de las hembras gestantes el 77%, de las lactantes el 100% y de las vacías el 72% estaban parasitadas con metacéstodos. Se concluyó que la infección por *T. pisiformis* es una parasitosis asociada al sexo, y a la etapa fisiológica de las hembras, relacionándose al ambiente hormonal; además se documentó el hallazgo de metacéstodos en la región ovárica, que no ha sido previamente referido de manera específica. Por otra parte, en conejas Nueva Zelanda se observó que la infección experimental con huevos de *T. pisiformis* durante 21 días, disminuyó la actividad locomotora ( $P=0.0001$ ), observándose disminución de la conducta exploratoria al día 17 post infección ( $P=0.01$ ), y de la conducta de acicalamiento al día 14 post infección ( $P=0.01$ ). La infección experimental indujo una disminución de un 33% en la cantidad de embriones implantados a los 8 días post monta ( $P=0.02$ ). En el análisis histológico del sitio de implantación embrionaria se observó que la altura de la mucosa en el grupo infectado fue mayor en comparación con el grupo testigo ( $P=0.0001$ ), encontrando mayor cantidad de linfocitos ( $P=0.0001$ )

y macrófagos ( $P=0.0001$ ) en las conejas infectadas, concluyendo que la alta frecuencia de infección y el impacto que tiene la infección sobre la reproducción pueden afectar la población de conejos, resaltando la relevancia del control de esta teniosis. También se observó el daño histológico que ocasiona el parásito adulto de *T. pisiformis* en el sitio de anclaje, utilizando el modelo del hámster. Se analizaron dos dosis de infección, una de tres metacéstodos y la otra de 6 metacéstodos, observándose mayor cantidad de linfocitos, macrófagos y neutrófilos en los animales infectados con 3 metacéstodos ( $P=0.01$ ) o con 6 metacéstodos ( $P=0.001$ ) comparados con los animales no infectados; la cantidad de eosinófilos fue mayor solo en los infectados con 6 metacéstodos ( $P=0.001$ ). Otro hallazgo en el estudio histológico fue el aspecto de la mucosa. En el sitio de anclaje se perdió la histoarquitectura y disminuyó la altura de la mucosa en los animales infectados con 3 o con 6 metacéstodos en comparación al grupo testigo ( $P=0.001$ ). Los resultados obtenidos en este trabajo resultan de gran interés ya que los conocimientos obtenidos serán de utilidad para los productores cunícolas; además, resaltan la importancia de la prevención de la parasitosis en la conservación de especies cunícolas, y contribuye a entender la biología básica de esta parasitosis.

**Palabras clave:** *T. pisiformis*, dimorfismo, reproducción, conducta, respuesta inflamatoria

## ABSTRACT

In the host-parasite interaction, hosts have developed adaptations to evade infection, and parasites have evolved to thrive to defense mechanisms, often altering physiology, causing damage to target organs and modifying host behavior. Among the species, signs, prevalence and virulence of some parasitic may vary depending on the sex of the infected animal. In an economic context, parasitic diseases have a high negative impact on animal production, laboratory animals and pets. Specifically, in the parasitosis caused by *T. pisiformis*, it has been documented that the behavior of the host and its prolificacy are altered by reducing the number of rabbits at birth. For this reason, in this project we focus on analyzing reproductive and histological aspects and sexual dimorphism, associated with teniosis/cysticercosis by *T. pisiformis*. To evaluate the sexual dimorphism of *T. pisiformis* parasitosis, wild rabbits were obtained, capturing 31 rabbits in three municipalities of the state of Morelos, of which 21 were does and 10 bucks, with 67.7% of the total of animals infected with metacestodes. From these, 80% were infected (n=17) and of from the bucks 40% (n=4) ( $P=0.02$ ); from the pregnant does 77%, from the lactating does 100% and from non-pregnant 72% were parasitized with metacéstodos. It was concluded that the infection by *T. pisiformis* is a sex associated disease and to the physiological stage of the of rabbits, related to the hormonal environment; in addition, the finding of metacestodes in the ovarian region was documented, which has not previously been specifically mentioned. Besides, in New Zealand rabbits it was observed that the experimental infection with eggs of *T. pisiformis* during 21 days, decreased the locomotor activity ( $P=0.0001$ ), observing a decrease in the exploratory behavior at day 17 post infection ( $P=0.01$ ), and of the grooming behavior at day 14 post infection ( $P=0.01$ ). The experimental infection induced a decrease of 33% in the number of embryos implanted at 8 days post mounting ( $P=0.02$ ). In the histological analysis from the embryo implantation site, it was observed that the mucosa height in the infected group was higher in comparison with the control group ( $P=0.0001$ ), and there was a higher number of lymphocytes ( $P=0.0001$ ) and macrophages ( $P = 0.0001$ ) in the infected rabbits, concluding that the high frequency of infection and the impact that the infection has on reproduction can affect the population of wild rabbits, highlighting the relevance of the control of this

cysticercosis. Using the hamster model, the histological damage caused by the adult parasite of *T. pisiformis* in the anchoring site was observed. Two doses of infection were analyzed, three metacestodes or 6 metacestodes; a higher number of lymphocytes, macrophages and neutrophils were observed in animals infected with 3 metacestodes ( $P=0.01$ ) or with 6 metacestodes ( $P=0.001$ ) compared with the uninfected animals, while the amount of eosinophils was higher only in those infected with 6 metacestodes ( $P=0.001$ ). Another finding in the histological study was the observation of the mucosa, since at the anchorage site, the histoarchitecture was lost and the mucosa height decreased in the animals infected with 3 or 6 metacestodes compared to the control group ( $P=0.001$ ). The knowledge obtained in this project will be useful for the rabbit producers; In addition, it highlights the importance of the prevention of this parasitosis in the conservation of wild rabbit species, and contributes to understand the basic biology of this parasitosis.

**Key words:** *T. pisiformis*, dimorphism, reproduction, behavior, inflammatory response

## INTRODUCCIÓN GENERAL

Las enfermedades parasitarias disminuyen el potencial productivo y causan pérdidas económicas (Susan y Aiello, 1998). En algunas parasitosis existe el dimorfismo sexual donde los signos, la virulencia y la carga parasitaria de la enfermedad, se presentan de manera distinta dependiendo del sexo del hospedero. El efecto del sexo del hospedero en la infección por parásitos también es referido en humanos y se atribuye a diversos factores como la respuesta inmunitaria, la expresión de hormonas, o las diferencias en la microbiota (Duneau y Ebert, 2012).

Se ha planteado que el dimorfismo es resultado de la adaptación de los parásitos, surgiendo tres distintas hipótesis. La primera se denomina “dimorfismo específico del sexo del hospedero”, en la cual los parásitos se adaptan de forma distinta a cada sexo dando lugar al dimorfismo en la carga parasitaria; la segunda conocida como “especialización por un solo sexo”, en la que el parásito infecta a un único sexo; y la tercera es la “plasticidad específica del sexo en la expresión de la enfermedad”, en la cual son parásitos con plasticidad fenotípica y el establecimiento depende del sexo de su hospedero (Duneau y Ebert, 2012).

En las parasitosis causadas por *Taenia solium* (*T. solium*) y *Taenia crassiceps* (*T. crassiceps*) las hembras son más susceptibles que los machos; el criterio para definir esta susceptibilidad es principalmente la carga parasitaria, y el dimorfismo se atribuye al ambiente hormonal que prevalece en la hembra en la que estrógenos y progesterona favorecen el desarrollo del parásito; aunado a lo anterior existen factores inherentes a las tenias, como la capacidad de sintetizar hormonas o análogos de las hormonas ováricas que favorezcan su desarrollo (Presas *et al.*, 2008). La mayoría de los datos disponibles son obtenidos de infecciones experimentales tanto en ratones (Larralde *et al.*, 1995). En cerdos infectados naturalmente y se encontró que en los machos castrados y las hembras gestantes presentan un mayor porcentaje de infección, lo que señala que probablemente los niveles bajos de andrógenos y niveles

altos de estrógenos se relacionan con la susceptibilidad de los cerdos castrados y las hembras gestantes (Morales *et al.*, 2002).

La cisticercosis cunícola, parasitosis causada por metacéstodos de *T. pisiformis* es una de las enfermedades parasitarias más comunes en los conejos (Yang *et al.*, 2012). En este trabajo se analizó el dimorfismo sexual de la infección por metacéstodos de *T. pisiformis* en la susceptibilidad y carga parasitaria en conejos silvestres (*Oryctolagus cuniculus*) obtenidos de tres municipios del estado de Morelos en la temporada de caza. El ciclo biológico del parásito comprende el consumo de huevos por parte de los huéspedes intermediarios que son la liebre y el conejo, cuando se alimentan de hierbas contaminadas con los huevos que se expulsan en las heces de animales carnívoros como perros y zorros (Yang *et al.*, 2012). Una vez que los huevos llegan al tracto digestivo del huésped intermediario, eclosionan y migran a distintos órganos, desarrollándose la fase de metacéstodo. El ciclo se completa, cuando los carnívoros se alimentan con los conejos o las vísceras que contienen metacéstodos, y se diferencian en el intestino a céstodo adulto o tenia (Flatt y Moses, 1975).

Recientemente se ha referido que la presencia del metacéstodo en conejas de raza Nueva Zelanda infectadas experimentalmente con huevos de *T. pisiformis* disminuye la prolificidad (Hallal-Calleros *et al.*, 2016) y altera su comportamiento (Betancourt-Alonso *et al.*, 2011). Falta aún definir las causas específicas que inducen la alteración en el hospedero donde pudieran verse afectadas las etapas desde la cubrición de la coneja hasta el parto. En este trabajo se analizó el efecto de la infección con huevos de *T. pisiformis* sobre la implantación embrionaria en la coneja y su comportamiento previo a la monta. Respecto al comportamiento, se han analizado parámetros como el consumo de agua, actividad locomotora, consumo de alimento, etc., y se ha demostrado que los patógenos pueden modificar algunas conductas (Klein, 2003), a menudo aumentando su susceptibilidad a la depredación, e incrementando así sus posibilidades de transmisión (Santos y Santos, 2013; Raveh *et al.*, 2011; Walsh *et al.*,

2013). Estas observaciones sustentan la propuesta de detectar infecciones estudiando el comportamiento (González *et al.*, 2008).

Por otra parte, existen aspectos poco estudiados con relación a la biología del céstodo adulto de *T. pisiformis*, como es el efecto del anclaje del parásito en el intestino. A nivel experimental. Se han utilizado hámsteres infectados con el parásito *T. solium* para observar el sitio de implantación de la tenia por microscopia electrónica en distintos días post-infección, con la finalidad de describir morfológica y estructuralmente la unión de *T. solium* a la pared intestinal, observando que la tenia está fijada al intestino por sus 4 ventosas simultáneamente, las cuales se encuentran a un nivel diferente, con vellosidades intestinales atrapadas en su cavidad (Merchant *et al.*, 1998).

Para observar la respuesta inflamatoria en el intestino de hámsteres y jerbos utilizaron una prueba competitiva de inmunoabsorción ligada a una enzima, y los resultados sugieren que la expulsión de *T. solium* en jerbos y hámsteres podría estar relacionada con el aumento de las células caliciformes y células cebadas, aunque estas células podrían tener diferentes roles en cada modelo de roedor de la teniasis (Ávila *et al.*, 2002).

En investigaciones realizadas por nuestro grupo de trabajo, se ha establecido y desarrollado la fase adulta de *T. pisiformis* en el intestino delgado de hámsteres dorados *Mesocricetus auratus*, con una previa inmunodepresión con dosis única de 4 mg de Acetato de metil-prednisolona (AMP), basándonos en un trabajo donde ya se había observado que la inmunodepresión con AMP es necesaria para el establecimiento del parásito (Toral-Bastida *et al.*, 2011). En este trabajo planteamos describir histológicamente el sitio de anclaje de *T. pisiformis* en el intestino del hámster.

## **HIPÓTESIS GENERAL**

En la infección por *Taenia pisiformis* existe dimorfismo sexual, la infección disminuye la implantación embrionaria, modifica el comportamiento de conejos infectados por el metacéstodo, y provoca alteraciones histológicas en el sitio de anclaje de la tenia en el intestino delgado del hámster.

## **OBJETIVO GENERAL**

Evaluar aspectos dimórficos, reproductivos, conductuales e histológicos asociados a la teniosis cisticercosis por *Taenia pisiformis*

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Definir si existe dimorfismo sexual en la parasitosis por *Taenia pisiformis* en conejos silvestres (*Sylvilagus floridanus*) infectados naturalmente (Experimento 1).
2. Evaluar el efecto de la infección en el comportamiento y sobre la mucosa uterina a nivel morfométrico en el sitio de implantación embrionaria en conejas Nueva Zelanda (Experimento 2).
3. Describir histológicamente la mucosa del intestino delgado en el sitio de establecimiento de *Taenia pisiformis* en el modelo del hámster (Experimento 3).



## EXPERIMENTO 1

### **Definir si existe dimorfismo sexual en la parasitosis por *Taenia pisiformis* en conejos silvestres (*Sylvilagus floridanus*) infectados naturalmente**

#### INTRODUCCIÓN

El dimorfismo sexual es un fenómeno bien documentado que se observa en todos los niveles del reino animal, donde las hormonas sexuales, entre otros factores involucrados en este fenómeno, han sido consideradas como actores clave en una amplia gama de patologías que muestran dimorfismo sexual en su etiología y progresión (Quinn *et al.*, 2014). Los machos y las hembras difieren en un amplio espectro de características morfológicas, fisiológicas y de comportamiento. Además, las parasitosis y el dimorfismo sexual también se han asociado con alteraciones en el comportamiento.

Con respecto a las parasitosis, en varias especies animales, los signos de la enfermedad y su patogenicidad pueden variar según el sexo del huésped, tanto en animales como en humanos se han atribuido a factores tan diversos como la acción de las hormonas, la respuesta inmunitaria, o incluso a diferencias en la microbiota (Duneau y Ebert, 2012). En la cestodiosis causada por *T. solium* y *T. crassiceps*, se ha demostrado que las hembras son más susceptibles a la infección experimental que los machos, tomando en cuenta la carga parasitaria. Este dimorfismo se ha atribuido al entorno hormonal prevaleciente en la hembra, en el que los estrógenos y la progesterona favorecen el desarrollo del parásito, junto con factores inherentes a los parásitos, como la capacidad de sintetizar hormonas o análogos de hormonas ováricas que favorecen su desarrollo (Presas *et al.*, 2008), lo que puede dar como resultado la feminización del huésped masculino en ratones (Larralde *et al.*, 1995, Morales *et al.*, 2002). La identificación del dimorfismo en las infecciones naturales contribuye de manera importante al control de las enfermedades, centrando las

estrategias de prevención en el huésped del género susceptible (Duneau y Ebert, 2012).

La cisticercosis por *T. pisiformis* en conejos ha adquirido relevancia, ya que afecta su bienestar, su comportamiento (Betancourt-Alonso *et al.*, 2011) y su producción al disminuir la cantidad de gazapos al nacimiento (Hallal-Calleros *et al.*, 2016).

La cisticercosis por *T. pisiformis* involucra conejos o liebres como huéspedes intermediarios y zorros, coyotes o perros como huéspedes definitivos. En el continente americano, específicamente en México, no existen reportes sobre la existencia del metacéstodo de *T. pisiformis* en poblaciones de conejos silvestres, a pesar de ser el país con más especies endémicas de conejos, con alrededor de 15 especies. Entre ellos, el conejo del istmo y el conejo de los volcanes, también llamados zacatuche o teporingo (*Romerolagus diazi*) están en peligro de extinción (Farias-González, 2011). Se ha reconocido que la presencia del hombre y la devastación del hábitat son factores que limitan el crecimiento de la población de conejos silvestres (Cervantes *et al.*, 1990). Sin embargo, se sabe poco sobre las enfermedades parasitarias que afectan a los conejos silvestres y que podría inducir alteraciones reproductivas, como la cisticercosis por *T. pisiformis*, y contribuir así a la extinción de especies susceptibles (Yang *et al.*, 2012).

El objetivo de este estudio fue explorar la infección con metacéstodos de *T. pisiformis* en conejos silvestres en el estado de Morelos, México, y establecer si existe una mayor carga de parásitos en los machos o en las hembras infectados naturalmente.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Animales

Los conejos silvestres fueron obtenidos durante las temporadas de caza por cazadores de la región que tienen licencia para cazar. De cada conejo sacrificado, se registraron el sexo y la etapa fisiológica. Los conejos fueron recolectados desde diciembre de 2013 hasta febrero de 2016, en los municipios de Temixco (1,299 msnm, 18 ° 51'16 "N 99 ° 13'38"O), Tepalcingo (1,100 msnm, 18 ° 25 '59.88" N, 98 ° 18 '0 ") y Tlaltizapán (945 msnm, 18 ° 41'00" N 99 ° 07'04"O), en el estado de Morelos. Se registró la ubicación exacta donde cada conejo fue capturado mediante sistemas de posicionamiento geográfico (GPS V, Garmin Ltd), obteniendo información automática sobre rutas detalladas y mapas.

### Etapa fisiológica de la hembra

Las conejas fueron clasificadas en: conejas gestantes cuando tuvieran presencia de vesículas embrionarias o fetos en los cuernos uterinos a la necropsia; conejas lactantes cuando se observaba desarrollo de glándulas mamarias (turgente o con leche); y conejas vacías cuando no tuvieran desarrollo de glándulas mamarias ni embriones o fetos (Zamora-Huerta *et al.*, 2005; Portales-Betancourt *et al.*, 2010).

### Carga parasitaria

Para determinar la carga parasitaria se evaluó la presencia de metacéstodos. Se realizó una incisión en la línea media abdominal de los conejos, y se inspeccionaron macroscópicamente las regiones abdominal, pélvica y torácica. Se obtuvieron imágenes fotográficas de metacéstodos *in situ*, se contaron macroscópicamente y se registró la ubicación anatómica.

## Análisis estadístico

El análisis de los datos se realizó utilizando una prueba Z para la diferencia entre las poblaciones de conejos infectados y no infectados considerando el sexo (hembras y machos); para comparar la proporción de hembras infectadas entre cada etapa fisiológica (gestante, lactante y vacía) se utilizó una prueba exacta de Fisher; para comparar el número de metacéstodos en cada grupo, se utilizó una prueba de T.

## RESULTADOS

Se obtuvieron en total 31 conejos silvestres, la especie fue *Sylvilagus floridanus*, una especie no en peligro de extinción (Figura 1), de los cuales 21 eran hembras y 10 machos.



Figura 1. Imagen de conejo silvestre *Sylvilagus floridanus* capturado en el municipio de Temixco del Estado de Morelos, México.

El 67.7% del total de animales estaban infectados con metacéstodos. De las hembras, el 80% (n=17) estaban infectadas y en los machos el 40% (n=4) ( $P=0.02$ ) (Figura 2A).

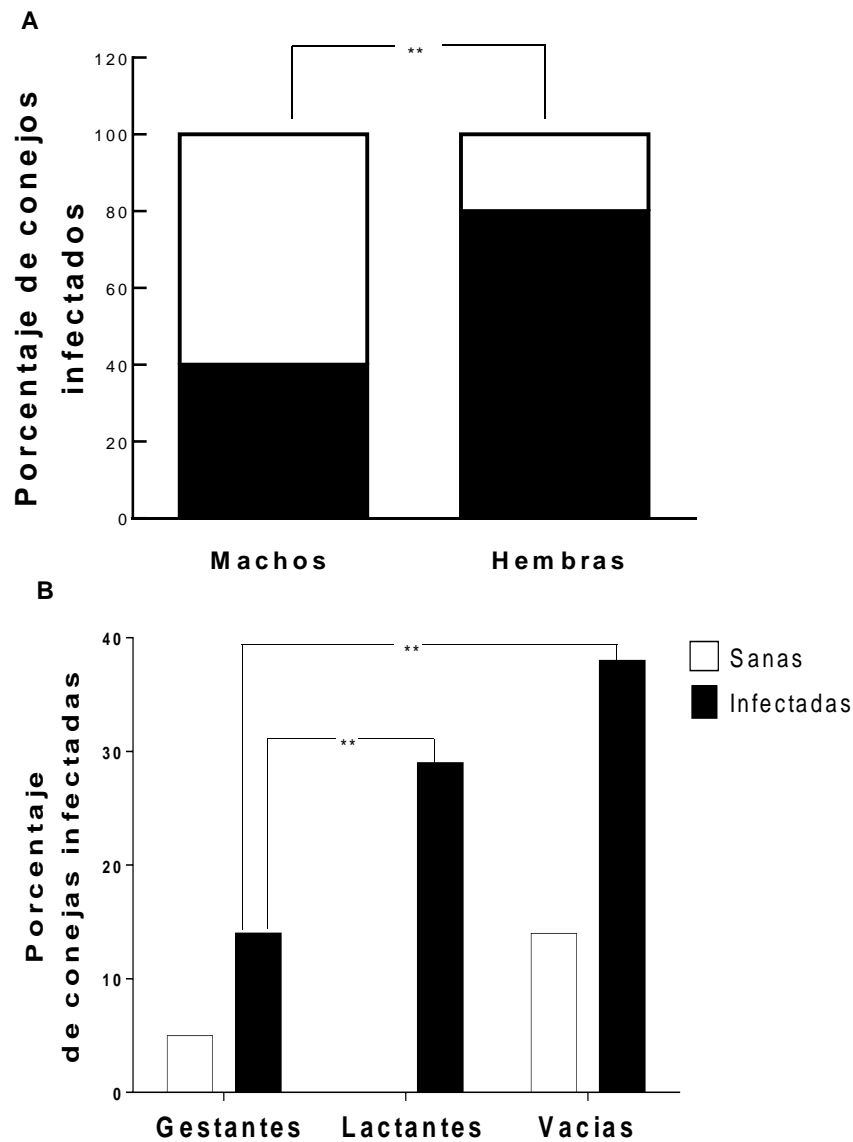


Figura 2. Porcentaje ( $\pm$ EE) de metacístodos de *T. Pisiformis* en conejos silvestres: A) Conejos por sexo  $**P=0.02$  (machos  $n=10$ , hembras  $n=21$ ); sanos (zona blanca) e infectados (zona negra), B) Hembras sanas e infectadas de acuerdo a su etapa fisiológica  $**P=0.009$  (gestantes  $n=4$ , lactantes  $n=6$ , vacías  $n=11$ ).

De las 21 hembras capturadas, cuatro estaban gestantes, seis lactantes y 11 vacías. El 77% de las gestantes, el 100% de las lactantes y el 72% de las vacías estaban infectadas con metacístodos (Figura 2B).

En los 21 conejos infectados se localizaron un total de 279 metacéstodos, de los cuáles el 66.3% se encontraban en la cavidad peritoneal, 25.8% en el mesenterio y 7.5% en la región pélvica (de una hembra vacía y una hembra lactante) (Figura 3), y 0.4% estaban en el área torácica (un macho).

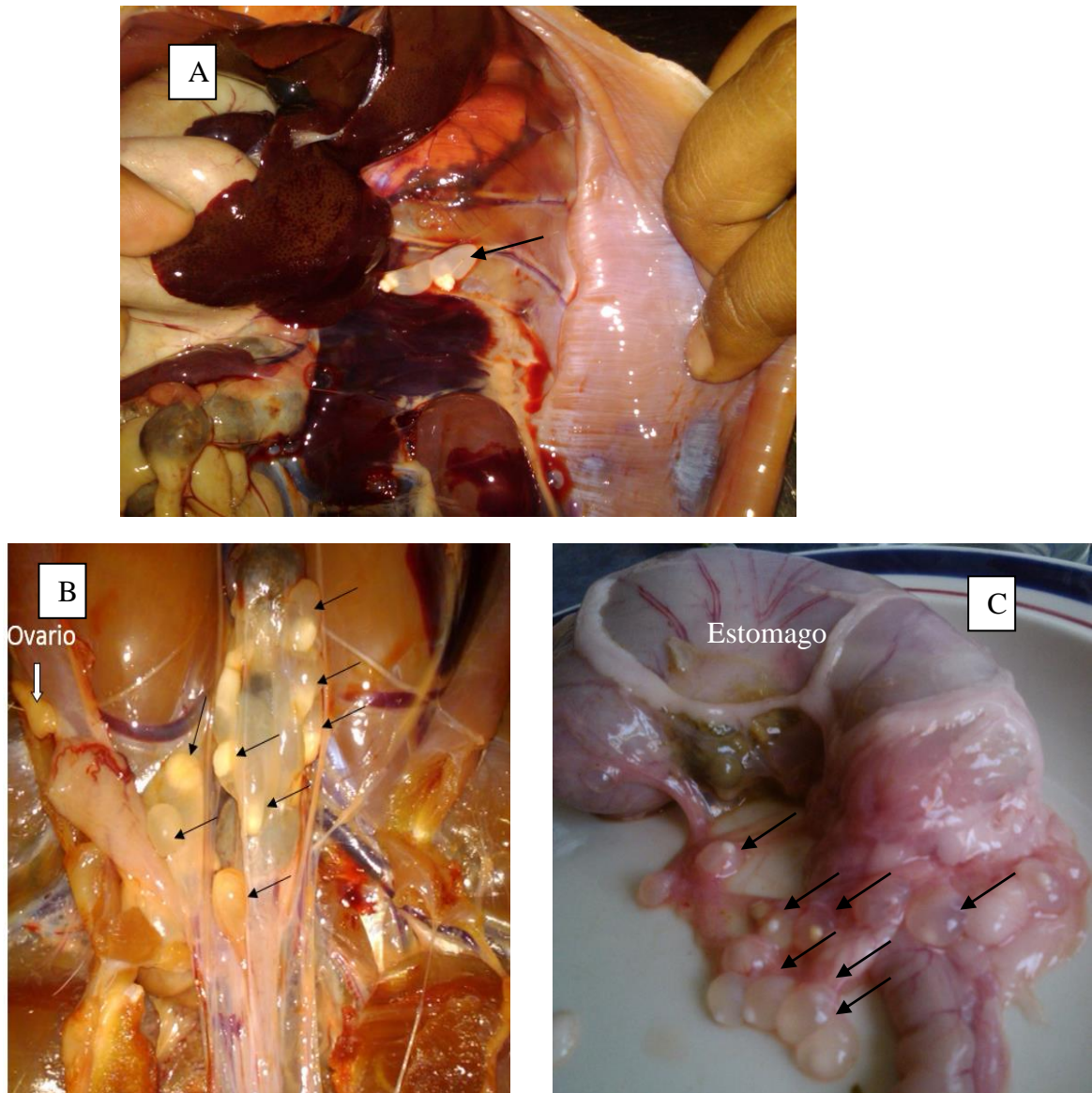


Figura 3. Metacéstodos de *Taenia pisiformis* (flechas negras) en conejos silvestres infectados naturalmente A) Cavidad peritoneal, B) Región pélvica y C) Mesenterio.

Se encontraron 44 metacéstodos en machos en un rango que va desde seis hasta catorce por conejo, mientras que en las hembras se encontraron 235 metacéstodos, en un rango de 2 a 31 por coneja (Cuadro 1).

Cuadro 1. Promedio ( $\pm$ EE) del número de metacéstodos de *Taenia pisiformis* en conejos silvestres

<b>Machos</b>	<b>Gestantes</b>	<b>Lactantes</b>	<b>Vacías</b>
11 $\pm$ 3.4	15 $\pm$ 6.0	13 $\pm$ 9.3	13 $\pm$ 9.6
(6, 12, 12, 14)	(9, 16, 21)	(2, 5, 11, 15, 17, 28)	(27, 7, 13, 31, 10, 5, 10, 8)

Las 18 cacerías se llevaron a cabo en tres municipios del estado de Morelos, 12 se realizaron en Temixco, donde fueron capturados 25 conejos (siete machos, dos hembras gestantes, 5 lactantes y 11 vacías). Se recolectaron tres conejos en Tepalcingo (un macho, una hembra preñada y una lactante), y tres conejos fueron capturados en Tlaltizapán (dos machos y una hembra preñada). La infección fue del 68% en Temixco, 67% en Tepalcingo y 67% en Tlaltizapán.



## DISCUSIÓN

El entorno endócrino del hospedador tiene un papel importante en el establecimiento y desarrollo de enfermedades parasitarias, ya que de acuerdo al género existe susceptibilidad o resistencia. En este trabajo, se observó que las hembras son más susceptibles a la infección que los machos, basándose en su carga parasitaria es mayor y está influenciada por el estado fisiológico de la hembra. Se ha demostrado que en otros parásitos como *T. crassiceps* y *Toxoplasma gondii*, la infección es favorecida por el ambiente hormonal de las hembras (estrógenos) (Pung y Iuster, 1986; Huerta *et al.*, 1992; Morales-Montor *et al.*, 2002).

Hay evidencia de que el ambiente hormonal se modula durante la infección por céstodos; se sabe que la cisticercosis por *T. crassiceps* induce un proceso de feminización en ratones machos durante la infección crónica, caracterizado por un aumento de 100 veces el valor normal de estradiol en suero, mientras que los de testosterona y dihidrotestosterona disminuyen en 85 y 95% respectivamente. Los niveles de hormona foliculoestimulante aumentan 70 veces sus valores normales en los ratones machos infectados (Morales-Montor *et al.*, 2001). En este estudio observamos que las hembras se infectan en mayor proporción que los machos (80% en hembras vs 40% en machos), lo cual concuerda con un trabajo realizado en el norte de la península Ibérica en el que obtuvieron una prevalencia del 38.1% en 63 hembras y 25.5% en 51 machos; en el sur se encontró una prevalencia del 20% de 35 hembras y 11.5% en 26 machos de conejos silvestres infectados por metacéstodos de *T. pisiformis* (Blasco *et al.*, 1996).

El 100 por ciento de las hembras lactantes estaban infectadas con cisticercos de *T. pisiformis*, al respecto se ha informado que la prolactina causa un aumento en la susceptibilidad de algunos parásitos. Por ejemplo, en el ganado lechero se observa que una mayor cantidad de prolactina los hace más susceptibles a las infecciones por *Trichostrongylidae* (Płociński *et al.*, 2006). En cuanto a las infecciones por céstodos, se sabe que en las primeras etapas de la cisticercosis murina experimental causada

por *T. crassiceps*, hay una respuesta inmune Th-1 transitoria inicial que se asocia con una baja tasa de reproducción del parásito, convirtiéndose en una respuesta Th-2 asociada a un incremento en la tasa de reproducción de parásitos. Una de las principales citocinas involucradas en la respuesta inmune Th-2 es IL-6, una molécula pleiotrópica que estimula la liberación de prolactina desde la glándula pituitaria anterior (Yamaguchi *et al.*, 1990). No se han reportado estudios sobre los niveles de prolactina en animales parasitados con céstodos, pero se sabe que la IL-6 es una citocina cuyo nivel aumenta 90 veces sus niveles normales con la infección (Morales-Montor *et al.*, 2001).

La resistencia y la susceptibilidad a diferentes enfermedades parasitarias se han asociado con el predominio de respuestas inmunes de tipo Th1 o Th2. La respuesta inmune Th1 juega un papel fundamental en la protección contra la cisticercosis de *T. crassiceps*, mientras que Th2 favorece el establecimiento del parásito, y también es bien sabido que los cerdos vacunados muestran un incremento en la producción de citocinas Th1 (IL-2 e IFN- $\gamma$ ) pero no de las citocinas Th2 (IL-4 e IL-10), posiblemente interfiriendo con el establecimiento exitoso de los parásitos (Díaz *et al.*, 2003). Entonces, la prolactina también podría ser beneficiosa en el establecimiento de céstodos en el huésped, haciendo a los animales lactantes más susceptibles a la infección.

Nuestros resultados deben evaluarse centrándose en la capacidad del céstodo para afectar la función reproductiva, ya que se ha informado que en conejos domésticos la infección disminuye el tamaño de la camada al 50%, lo que se acompaña con un aumento en los niveles de progesterona (Hallal-Calleros *et al.*, 2016). En nuestro trabajo, se encontraron metacéstodos de *T. pisiformis* en la tuba uterina, una situación que no ha sido previamente documentada, lo cual podría relacionarse con la preferencia del parásito por zonas con mayor cantidad de estrógenos. Al respecto, Gemmell en 1965 refirió que los metacéstodos tienen afinidad para alojarse en la región genital, pero no especifica la región, ni tampoco si es en hembras o machos.

La alta frecuencia de esta infección podría afectar a las poblaciones de conejos silvestres, además de disminuir la producción en conejos de granja, principalmente de traspatio.

## CONCLUSIONES

Se observó una alta frecuencia de infección por huevos de *T. pisiformis* en conejos silvestres, con una mayor susceptibilidad y una mayor carga de parásitos en las hembras. De acuerdo con la etapa fisiológica, el porcentaje de infección fue mayor en las hembras lactantes.

## EXPERIMENTO 2

### **Evaluar el efecto de la infección en el comportamiento y sobre la mucosa uterina a nivel morfométrico en el sitio de implantación embrionaria en conejas Nueva Zelanda**

#### INTRODUCCIÓN

Algunos patógenos pueden explotar los mecanismos que modulan el comportamiento del huésped con el objetivo de aumentar sus posibilidades de transmisión (Klein, 2003). Un ejemplo lo constituye el virus de inmunodeficiencia en felinos y primates que causan una respuesta inmunitaria inflamatoria en el sistema nervioso central (Gardner y Dandekar, 1995), o alterando las señales químicas que subyacen a la expresión del comportamiento (Klein, 2003).

Se ha observado que conejos machos Nueva Zelanda infectados experimentalmente con cisticercos prefieren estar más tiempo postrados y consumir menos agua en comparación con los sanos (Betancourt-Alonso *et al.*, 2011). Por otro lado, conejos infestados con *Psoroptes cuniculli* (*P. cuniculli*) disminuyen conductas normales asociadas a la locomoción y exploración (Hallal-Calleros *et al.*, 2013).

En los conejos, la conducta de frotamiento del mentón (*chinning*) es propia de la especie y está asociada con la madurez sexual y con territorialidad, al reflejar la activación y el mantenimiento de este comportamiento por la secreción endógena de testosterona o de estradiol en machos y hembras respectivamente (González-Mariscal *et al.*, 1992). En las hembras, se desconocen las modificaciones que la infección con huevos de *T. pisiformis* pudiera inducir sobre el *chinning*.

Se ha establecido que las modificaciones conductuales pueden ser útiles para diagnosticar diversas patologías, por lo que alteraciones en el *chinning* podrían orientar el diagnóstico de infección por *T. pisiformis* en conejos (Weary *et al.*, 2009).

Desde un punto de vista práctico es importante resaltar que, si las conductas reproductivas se inhiben, se impactará de manera negativa la producción animal. Las modificaciones que las infecciones con parásitos inducen a nivel reproductivo se han observado en ratones infectados con tres cepas diferentes del parásito *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*). En esta parasitosis la infección aguda pone en peligro el resultado de la gestación, ya que después de la implantación del embrión en el útero (infectando al ratón cuatro días antes del apareamiento) induce retraso del crecimiento intrauterino, y en la última fase de la gestación la infección induce mortalidad de las crías (Cencig *et al.*, 2013).

En ratonas infectadas congénitamente con *T. cruzi* se observó un retraso del desarrollo embrionario asociado con divisiones insuficientes de los blastómeros, dando como consecuencia el desarrollo de blastocitos anormales que puede explicar el fracaso de la implantación, este trabajo muestra claramente que la infección por *T. cruzi* impide drásticamente el desarrollo embrionario (Boufker *et al.*, 2006).

Se han generado datos en los que se observa que la infección con huevos de *T. pisiformis* reduce al 62% el número de gazapos al nacimiento (Hallal-Calleros *et al.*, 2016). Sin embargo, se desconoce el mecanismo por el cual éste parásito provoca el efecto, por tal motivo en este trabajo se analizó el efecto de la infección con huevos de *T. pisiformis* sobre el comportamiento de las conejas y sobre la implantación embrionaria.

El conejo es un excelente modelo de estudio de la implantación embrionaria al actuar como ovulador obligado, iniciando en la región antisometrial a los seis días con 18 horas post coito, y continuando en la región mesometrial corioalantoidea a los ocho días post coito (Fischer *et al.*, 2012), logrando establecerse de manera precisa el tiempo de preñez (Schencke *et al.*, 2008).

Se ha progresado en el estudio de las interacciones moleculares, celulares y de mecanismos fisiológicos involucrados desde el inicio de la gestación (Anzualda-Arce *et al.*, 2001; 2008); en este diálogo entre el embrión y el útero se encuentran involucrados varios factores como prostaglandinas, leucotrienos, factores de crecimiento, citocinas, hormonas esteroides ováricas y la apoptosis (Betancourt-Alonso *et al.*, 2006), cabe señalar la importancia de realizar una vista sobre los contextos morfológicos y morfométricos en el momento de la implantación, y lograr observar aspectos de la relación tisular embrio-uterina.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Animales

Se utilizaron 14 hembras Nueva Zelanda con un peso de  $1.800\pm 200$  gr, divididas en dos grupos:

Grupo 1: Se les administró solución salina fisiológica (grupo testigo) y se gestaron 50 días después.

Grupo 2: Se infectaron con 1,000 huevos de *T. pisiformis*, por vía oral con una sonda estéril, y se gestaron a los 50 días post infección (Hallal-Calleros *et al.*, 2016).

### Infección experimental

Los proglótidos grávidos maduros de *T. pisiformis* se maceraron utilizando un mortero. El macerado se observó al microscopio (40x) para la identificación morfológica de los huevos y se contaron en una cámara de Neubauer (Flores-Pérez *et al.*, 2003).

### Alojamiento y alimentación de los animales

Durante todo el experimento, las conejas fueron alojadas en jaulas individuales de tipo comercial de 60x90x40 cm, cada una con un comedero tipo tolva y bebedero. Las conejas fueron alimentadas con concentrado comercial (Conejina N, Purina® con 15.5% de proteína cruda) y agua administrados a libre demanda.

### Pruebas conductuales

Se aplicó la prueba de campo abierta en una arena de 120 cm por 120 cm, dividida con líneas pintadas en el piso en nueve cuadrantes de 40 cm (Figura 4). El conejo se colocó en el cuadrante inferior central. La actividad locomotora (ambulante) se evaluó contando el número de veces que el conejo pasó sus dos patas delanteras de un cuadrante a otro; la conducta de chinning se midió contando el número de veces que

los conejos frotaban el mentón en los ladrillos colocados en el cuadrante medio superior; la conducta de exploración se midió contando el número de veces que el conejo elevó las patas delanteras (Hallal-Calleros *et al.*, 2013); y se registró el número de veces que el conejo se acicaló, lamiendo alguna parte de su cuerpo (Kronh *et al.*, 1999).



Figura 4. Dispositivo para la medición del comportamiento mediante la prueba de campo abierto

### Montas con eyaculación

Se utilizaron dos arenas circulares, colocando en cada una un macho sexualmente experimentado de la raza Nueva Zelanda. En cada arena se introdujo una hembra nulípara, que fue retirada de la arena después de recibir dos montas.

### Sacrificio humanitario

A los 8 días post monta, las conejas se tranquilizaron con Ketamina (35 mg/Kg) y Xilazina (10 mg/Kg) vía IM, y se sacrificaron de manera humanitaria utilizando una sobredosis de pentobarbital sódico (100 mg/Kg de peso) vía intracardiaca (AVMA, 2011).



## Necropsias

Se registraron los hallazgos de la necropsia de cada animal en un protocolo diseñado para este fin, en el que se describieron las lesiones, la cantidad de cisticercos encontrados y en qué lugar estaban establecidos (Betancourt-Alonso *et al.*, 2011), la cantidad de embriones implantados, y el análisis morfométrico del útero. En todos los casos se obtuvieron imágenes representativas de estos hallazgos anatomopatológicos con una cámara digital.

## Obtención de tejidos y procesamiento histológico

Una vesícula embrionaria se obtuvo del tercio medio de la tuba uterina derecha de cada coneja. Las vesículas se fijaron en una solución de Paraformaldehído al 4% durante 72 horas. Los segmentos fijados se procesaron con la técnica de inclusión en parafina y se llevaron a cabo secciones histológicas semiseriadas de 6  $\mu\text{m}$  de grosor que fueron teñidas con hematoxilina y eosina (Rosas-Velasco *et al.*, 2007).

## Área de análisis histológico

En cada vesícula embrionaria se analizaron 3 sitios de implantación, y de cada sitio de implantación se analizaron 3 cortes semiseriados. En cada corte se analizaron el tejido epitelial y la lámina propia de la mucosa uterina, midiendo la altura de la mucosa uterina en el sitio de implantación, y cuantificando las poblaciones celulares del infiltrado inflamatorio presentes en el sitio de implantación (linfocitos y macrófagos). Se cuantificaron un total de 18 campos microscópicos con el objetivo de 40X (630  $\mu\text{m}$  x 470  $\mu\text{m}$ ), cada uno con un área de 2,960  $\mu\text{m}^2$ , para lo cual se utilizó una cámara MOTICAM 10+, 10 MP, USB 3.0, Motic (Schencke *et al.*, 2004; Drews *et al.*, 2013).

## Análisis estadístico

Para el análisis de los datos se utilizó el programa In Vivo Stat versión 3.7. Los datos obtenidos de la prueba de campo abierto se analizaron utilizando un ANOVA de mediciones repetidas, observando el efecto del tratamiento a lo largo de los 49 días post infección con una previa transformación de los resultados en la actividad locomotora con Log 10, y la conducta de *chinning*, actividad exploratoria y acicalamiento fueron transformados con raíz cuadrada para estabilizar la varianza (Clark *et al.*, 2012).

Para el análisis de la cantidad de embriones implantados, el peso y la medida del útero, el análisis de la altura de la mucosa en el sitio de implantación y el conteo de las poblaciones celulares del infiltrado inflamatorio presentes en el sitio de implantación se utilizó una prueba de T.

## RESULTADOS

### Prueba de campo abierto

La actividad locomotora de animales infectados con cisticercos de *T. pisiformis* se analizó durante los 21 días post infección ( $P=0.0001$ ), observándose una disminución desde la primera evaluación, que fue al día tres post infección, y los días 14,18 y 20 ( $P=0.05$ ), a partir del día 10 al 12. A partir del día 23 se mantuvo una disminución del 50 % con respecto al grupo testigo ( $P=0.0001$ ) (Figura 5).

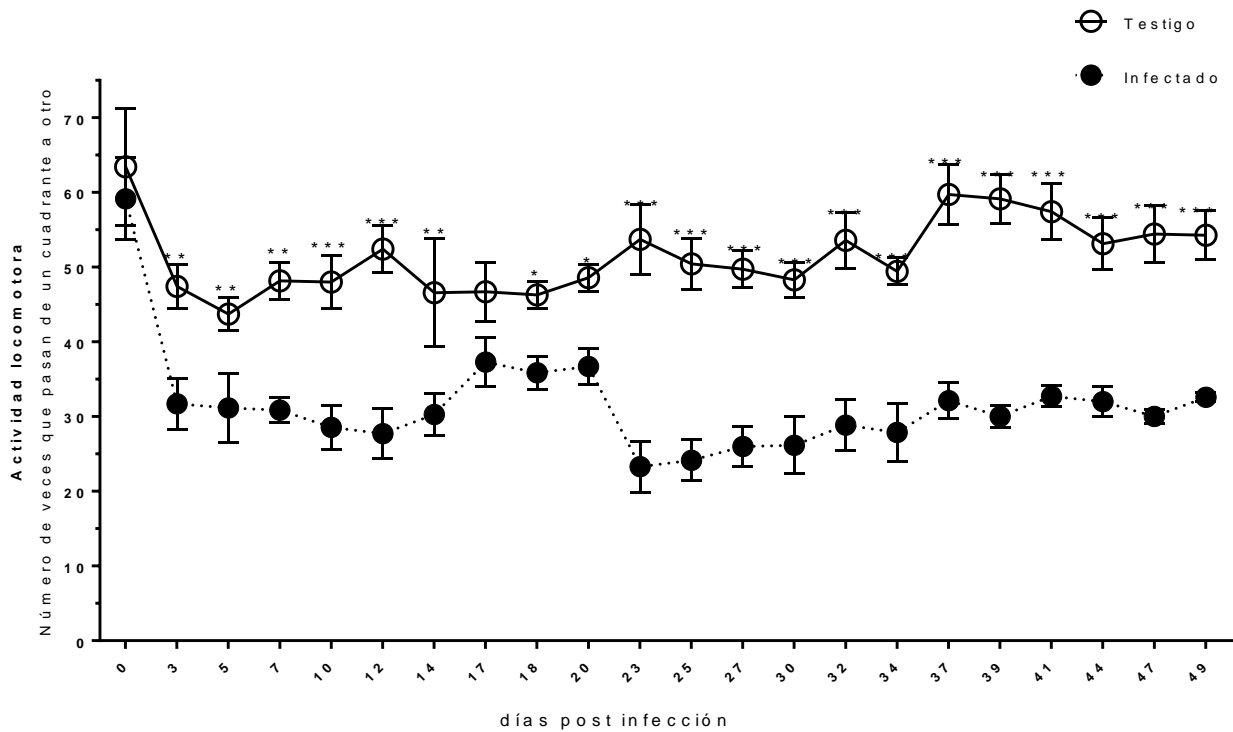


Figura 5. Promedio ( $\pm$ EE) de la actividad locomotora evaluada durante 49 días post infección.

\* $P=0.05$ , \*\* $P=0.001$ , \*\*\* $P=0.0001$ ; ANOVA de mediciones repetidas.

La conducta de marcaje por frotamiento del mentón (*Chinning*) en el grupo infectado ( $\bar{X}=3.4\pm 0.19$  EE) no tuvo diferencias con respecto al grupo testigo ( $\bar{X}=3.4\pm 0.22$  EE) durante los 49 días post infección en que se evaluó.

La conducta exploratoria en esta investigación mostró diferencia el día 17 con un aumento del 30% ( $5.5\pm 0.76$  EE) en relación del grupo testigo ( $3.7\pm 1.14$ EE) ( $P=0.01$ ), y el día 18 en donde el grupo infectado ( $7.3\pm 0.80$ EE) realizó dos veces más la conducta de sentado con respecto al grupo testigo ( $4.1\pm 1.58$ EE) ( $P=0.0001$ ) (Figura 6).

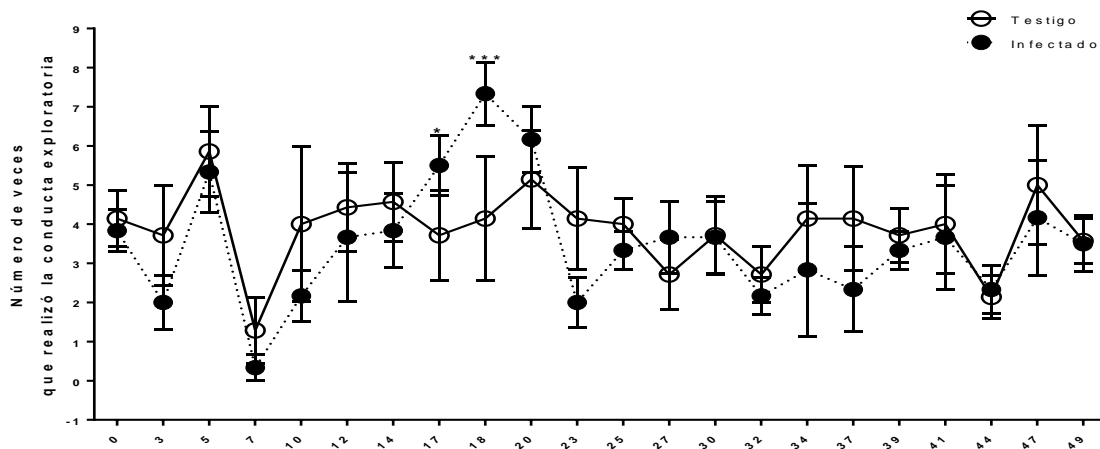


Figura 6. Promedio ( $\pm$ EE) de la conducta exploratoria evaluada durante los 49 días post infección. \* $P=0.05$ , \*\*\* $P=0.0001$ ; ANOVA de mediciones repetidas.

La conducta de acicalamiento tuvo cambios el día 14 post infección, donde el grupo infectado no realizó la conducta mientras que el grupo testigo tuvo una media de  $1.71\pm 0.68$ EE acicalamientos; el día 32 post infección la conducta disminuyó un 80% con una media de  $0.16\pm 0.16$ EE en relación al grupo testigo con una media de  $2.71\pm 0.71$ EE. Finalmente, el día 39 post infección el comportamiento del grupo infectado disminuyó un 70% vs el grupo testigo ( $P=0.01$ ) (Figura 7).

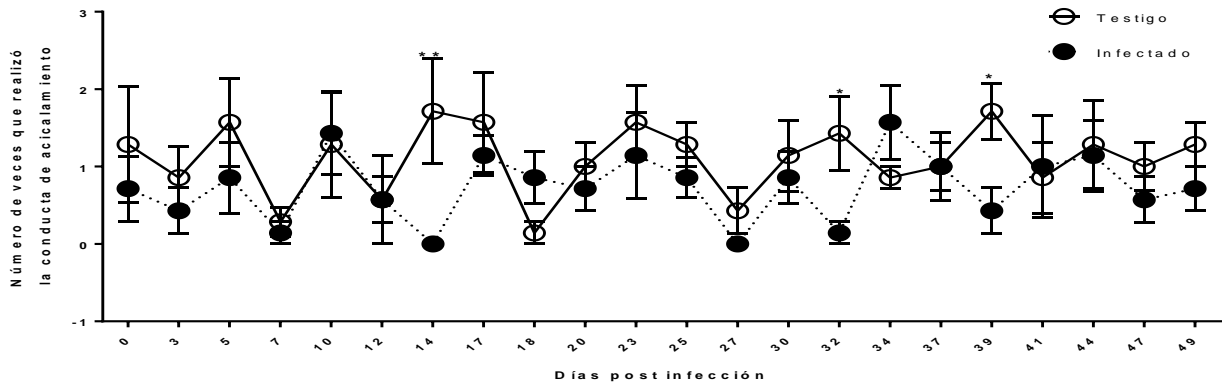


Figura 7. Promedio ( $\pm$ EE) de la conducta de acicalamiento durante los 49 días post infección.

\* $P=0.05$ , \*\* $P=0.00$ ; ANOVA de mediciones repetidas.

### Embriones implantados

La infección experimental con huevos de *T. pisiformis* indujo un 33% de disminución ( $6.2 \pm 1.06$ ) en la cantidad de embriones implantados a los 8 días post monta ( $P=0.02$ ), observándose un rango de 0 a 8 embriones por coneja en comparación con el grupo testigo ( $9.0 \pm 0.45$ ) con un rango de 8 a 11 embriones por coneja (Figura 8 y 9).

Con relación al útero, no se observaron modificaciones en la longitud en el grupo infectado ( $44.6 \pm 1.85$  cm) vs la media del grupo testigo ( $48.8 \pm 2.3$  cm). Tampoco el peso del útero se afectó por la infección ( $21 \pm 1.81$  gr) en comparación con el grupo testigo ( $24 \pm 2.04$  gr) (datos expresados en  $\bar{X} \pm EE$ ).

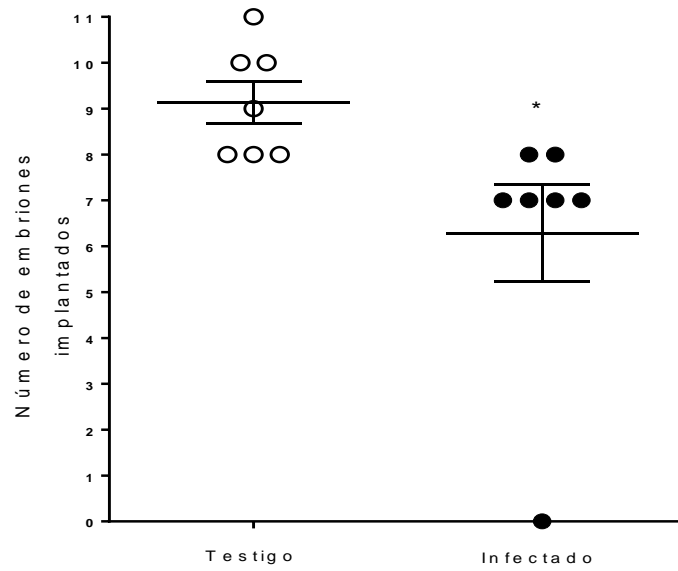


Figura 8. Promedio del número de embriones implantados en cada coneja a los 8 días post monta. (Testigo n=7, Infectado n=7). \* $P=0.02$ ; prueba de T.

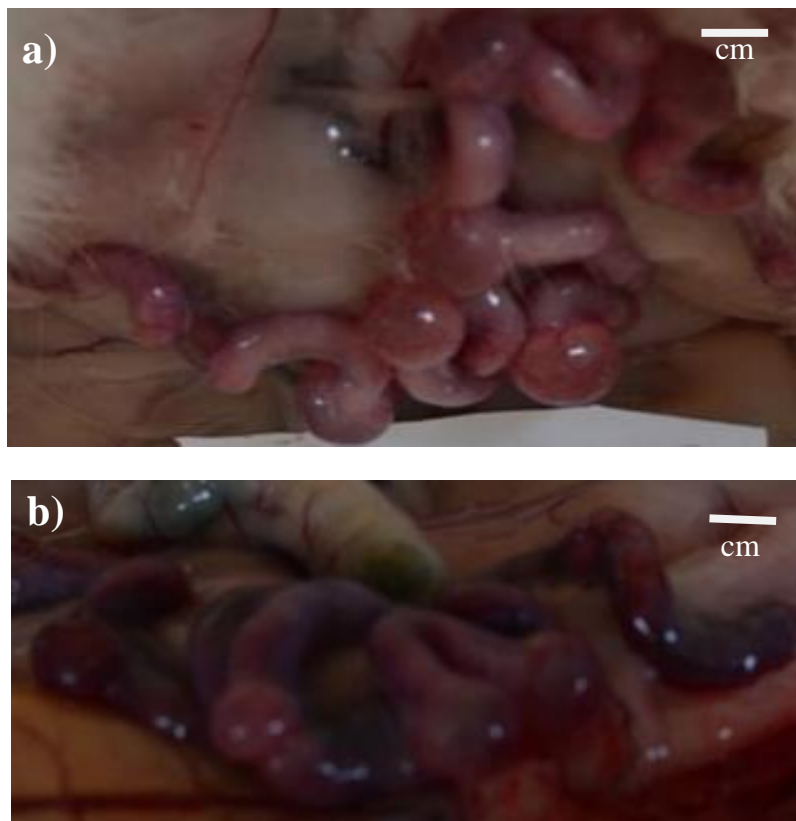


Figura 9. Embriones implantados en conejas Nueva Zelanda a los 8 días post monta. a) Testigo, b) Infectado.

## Carga parasitaria

A la necropsia se observó un promedio de  $3.85 \pm 1.14$  EE de metacístodos por animal infectado (rango 1-8) y  $17 \pm 5.81$  EE de granulomas hepáticos (rango 5-42); 51.9% de los metacístodos fueron recuperados en la cavidad peritoneal, 33.3% en la región pélvica y 14.8% en el mesenterio.

## Análisis morfométrico de la mucosa uterina

En el sitio de implantación se observó que la altura de la mucosa uterina en el grupo infectado fue mayor con un promedio de  $774.3 \pm 29.14$  EE, en comparación con el grupo testigo con un promedio de  $521.6 \pm 13.91$  EE ( $P=0.0001$ ) (Figuras 10 y 11).

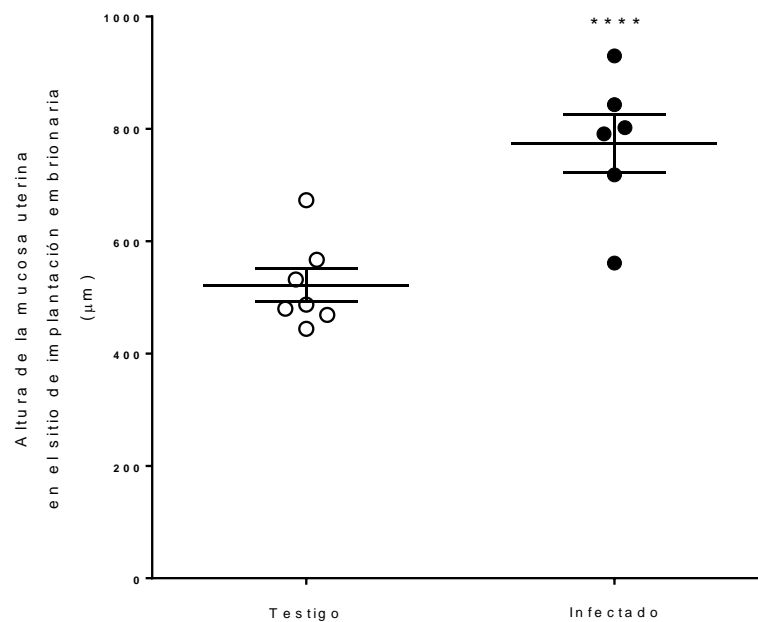


Figura 10. Promedio ( $\pm$ EE) de la altura de la mucosa uterina en el sitio de implantación embrionaria en conejas Nueva Zelanda. (Testigo  $n=7$ , Infectado  $n=6$ ). \*\*\*\* $P=0.0001$ ; prueba de T.



Figura 11. Microfotografía representativa de la mucosa uterina en el sitio de implantación embrionaria en conejas Nueva Zelanda; objetivo 10X, a) Testigo, b) Infectado. Las flechas rojas muestran el sitio de implantación embrionaria.



## Infiltrado inflamatorio en la mucosa uterina

Con respecto al infiltrado inflamatorio en el sitio de implantación, se observó que La cantidad de linfocitos en el grupo infectado ( $2.45 \pm 0.25$  EE) fue dos veces mayor que en el grupo testigo ( $0.76 \pm 0.07$  EE) ( $P=0.0001$ ) (Figura 12a y 13); la cantidad de macrófagos presentes en la lámina propia de la mucosa uterina en el sitio de implantación fue mayor en el grupo infectado ( $1.78 \pm 0.19$  EE) en comparación al grupo testigo ( $0.38 \pm 0.07$  EE) ( $P= 0.0001$ ) (Figura 12b y 14).

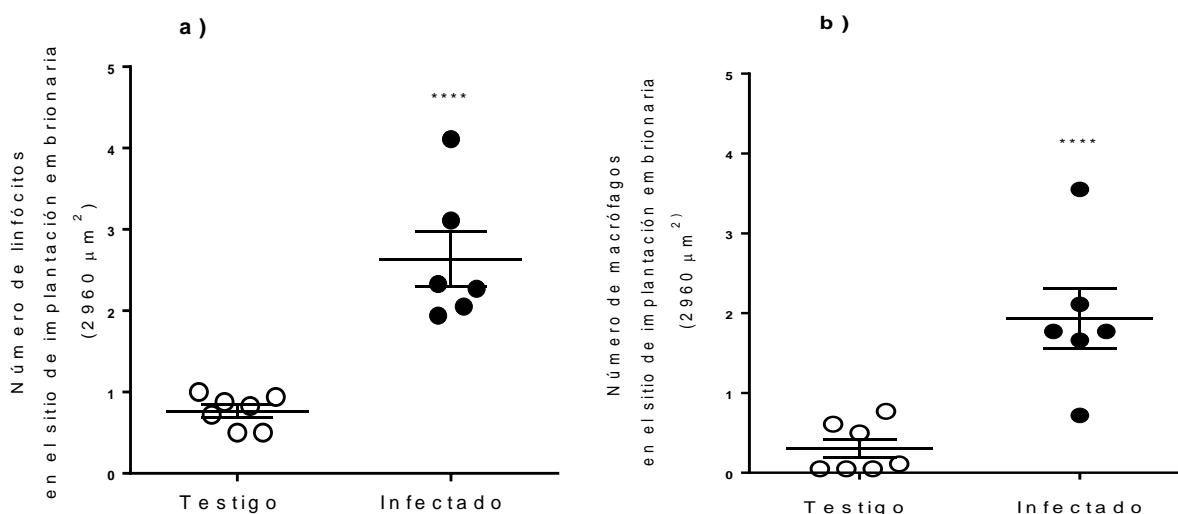


Figura 12. Promedio ( $\pm$ EE) del Infiltrado inflamatorio en la mucosa uterina en el sitio de implantación embrionaria en conejas Nueva Zelanda. a) Linfocitos, b) Macrófagos.

\*\*\*  $P= 0.0001$ ; prueba de T.

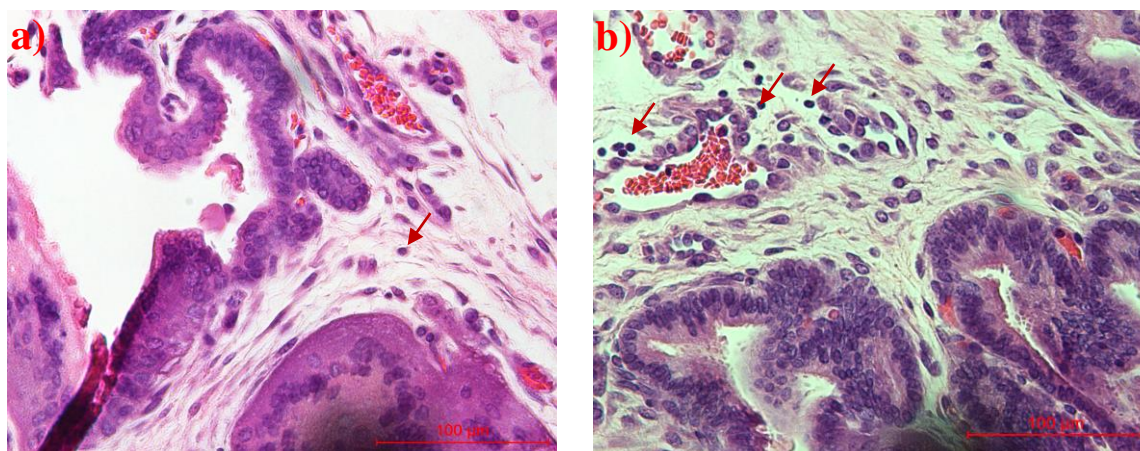


Figura 13. Linfocitos presentes en la mucosa uterina en el sitio de implantación embrionaria en conejas Nueva Zelanda 40X a) Testigo, b) Infectado, las flechas rojas indican los linfocitos.

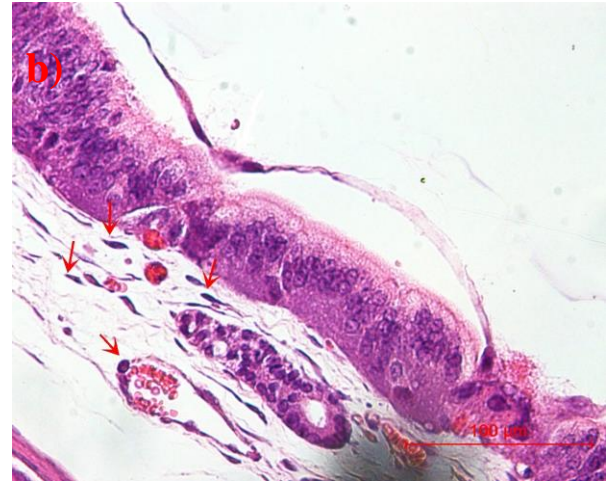
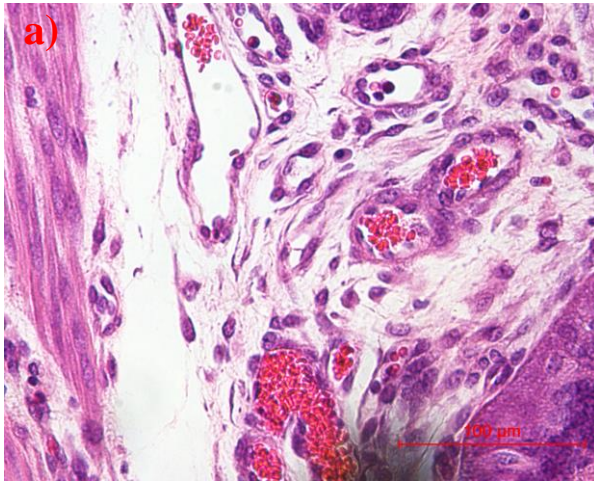


Figura 14. Macrófagos presentes en la mucosa uterina en el sitio de implantación embrionaria en conejas Nueva Zelanda 40X a) Testigo, b) Infectado, las flechas rojas indican los macrófagos.

## DISCUSIÓN

Los cambios ocasionados en el huésped infectado pueden ser mediados por los patógenos o por la respuesta del mismo huésped. Estos cambios pueden ser adaptativos por parte del huésped, o favorecer la supervivencia y la reproducción de los mismos patógenos (Klein, 2003). En este trabajo se observó que el comportamiento en los animales infectados fue modificado con respecto al grupo testigo en los cuales la actividad locomotora disminuyó por la infección con cisticercos de *T. pisiformis*. Estas alteraciones también se observaron en conejos infectados con *P. cuniculi* (Hallal-Calleros *et al.*, 2013) en donde los conejos disminuyeron su actividad exploratoria. En este trabajo observamos una disminución en la frecuencia de la conducta de acicalarse, mientras que en el trabajo de Betancourt-Alonso *et al.*, 2011 las conejas infectadas con 3,000 huevos de *T. pisiformis* aumentaron el tiempo de acicalamiento, la diferencia entre ambos estudios consiste en que cuantificamos la frecuencia con la que realizó la conducta.

Los cambios en el comportamiento modifican la susceptibilidad y la resistencia a la infección (Klein, 2000); en ocasiones el parásito restringe la función de órganos afectados al comprimirlos (Anderson *et al.*, 1981), generando una respuesta inmunológica adaptativa la cual producirá citocinas pro inflamatorias que actúan sobre eje hipotálamo-hipófisis-adrenal, regulando neurotransmisores que median los cambios en el comportamiento de los animales infectados (Connor *et al.*, 2005) a fin de facilitar su transmisión (Klein, 2003; Vargas-Villavicencio *et al.*, 2006). Los órganos diana también se ven afectados de manera diferencial por la respuesta inflamatoria en

las infecciones naturales o experimentales, la presencia de lesiones hepáticas es observada en infecciones por el parásito de *T. pisiformis*, estas lesiones suelen ser causadas por granuloma. Los granulomas consisten en grupos de células inflamatorias bien definidos, integrados en una matriz extracelular rica en colágeno que se forma alrededor de los huevos del parásito (Lenzi *et al.*, 2006; Hams *et al.*, 2013). Los granulomas causados por *Schistosoma mansoni* desencadenan fibrosis severa que interrumpe el flujo sanguíneo, y dependiendo el daño ocasionado, puede ser mortal (Ross *et al.*, 2002; Gryseels *et al.*, 2006).

Como se había mencionado anteriormente, no todas las modificaciones conductuales posteriores a la infección están mediadas por patógenos (Combes, 2001), los cambios de comportamiento posteriores a la infección que son beneficiosos para la supervivencia y la reproducción del huésped, suelen ser mediadas por el huésped. Los animales infectados a menudo exhiben un repertorio de respuestas conductuales adaptativas que ayudan en la recuperación y la supervivencia después de la infección. Estos comportamientos se han denominado colectivamente "comportamientos de enfermedad" y son de interés en las interacciones sociales, parentales y sexuales (Hart, 1988).

En este trabajo se observa una modificación a nivel reproductivo durante la infección, donde las conejas infectadas tienen menor cantidad de embriones implantados en comparación con el grupo testigo. En este nivel reproductivo se sabe que en infecciones con el parásito *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*), principalmente en la infección

aguda, se pone en peligro el resultado de la gestación, afectando después de la implantación del embrión en el útero (infectando al ratón cuatro días antes del apareamiento) induciendo retraso del crecimiento intrauterino, y en la última fase de la gestación la infección induce mortalidad de las crías (Cencig *et al.*, 2013), y retrasa el desarrollo embrionario (Boufker *et al.*, 2006).

Por otra parte, se ha encontrado que en hembras gestantes (tanto en cerdos como en ratones), la infección con *Taenia solium* o *crassiceps* se incrementa de manera muy marcada (Morales *et al.*, 2002).

El endometrio desde los primeros días de gestación experimenta múltiples cambios morfológicos y funcionales que le permiten proporcionar al producto el microambiente necesario para que se inicie el proceso de implantación (Anzualda-Arce *et al.*, 2008).

Durante el periodo de pre implantación de la coneja, los procesos de proliferación celular y apoptosis que tienen lugar son eventos inter-relacionados observándose que el día 8 post coito, el índice de mitosis celular es 0.25% y el índice de apoptosis es 7 veces mayor, de modo que cuando predomina uno el otro se inhibe, este comportamiento se observa tanto en el epitelio de revestimiento como en el glandular (Anzualda-Arce *et al.*, 2001). En la mucosa uterina se encontró que las conejas infectadas tienen mayor cantidad de células en el sitio de implantación, pudiendo atribuirlo a que la regulación normal del proceso de apoptosis que se tiene que llevar a cabo en este momento importante de la implantación está siendo alterada.

En la mayoría de las especies estudiadas existe un período restringido del ciclo uterino durante el cual puede ocurrir la implantación, y cualquier falla al inicio de este evento crítico durante la ventana implantacional resultara en un fracaso (Carson *et al.*, 2000).

Durante el periodo previo a la implantación, los estrógenos provocan algunos eventos en el epitelio uterino para que produzca algunas citocinas, incluyendo miembros del factor de crecimiento epidermal (EGF), factor de crecimiento insulínico tipos I y II (IGF). Este último se ha observado que estimula el crecimiento del embrión durante su transporte por el oviducto en bovinos (Cann *et al.*, 1997) y permiten que la implantación inicie. Cabe señalar que una elevada concentración de IGF y de Insulina provocan un descontrol en el proceso de apoptosis que conducen a la reabsorción embrionaria (Chi *et al.*, 2000). El factor de crecimiento transformante alfa (TGF- $\alpha$ ) que se expresa en epitelio glandular y luminal participa en la proliferación celular, diferenciación celular, modificación de integrinas y proteínas de la matriz extra celular, reparación de tejidos, angiogénesis e inmunosupresión (Gupta *et al.*, 1998).

La progesterona estimula la síntesis del factor inhibidor de la leucemia (LIF) que empieza a incrementarse en la coneja al día 3 post coito y alcanza sus niveles más altos durante los días cinco y seis de gestación, participando en el desarrollo del embrión (Liu *et al.*, 2001). Se ha propuesto que la progesterona juega un papel relevante como molécula inmunomoduladora en el sitio de implantación, pues se han identificado receptores específicos en linfocitos de hembras gestantes (Szekeres-Bartho *et al.*, 2001).

Entre el dialogo del útero y el embrión participa el complejo principal de histocompatibilidad (MHC), como HLA-G el cual protege la invasividad del trofoblasto contra el ataque de linfocitos citotóxicos y células NK (Schmidt *et al.*, 1997; Soderstrom *et al.*, 1997).

La implantación no solo depende de los eventos maternos que abren la ventana implantacional sino también de los eventos secundarios expresados por el embrión, por ejemplo, la IL-1 y el factor de crecimiento insulínico tipo I y II (Simon *et al.*, 1994), la interacción de estas acciones asegurará no solo la sobrevivencia del embrión si no también su crecimiento.

Respecto a la capacidad del sistema inmunológico para diferenciar entre lo propio y extraño está basada en un amplio espectro de especificidad expresada por las células inmunológicas, esta característica del sistema inmunológico implica que puede percibir una imagen interna de los componentes del organismo y reaccionar a las distorsiones particulares de esta (Coutinho *et al.*, 2001).

En este estudio se observó un aumento en la cantidad de linfocitos y de macrófagos en el sitio de implantación de la mucosa en el grupo de conejas infectadas. La respuesta inmunológica, como una respuesta homeostática bajo control fisiológico, contribuye al mantenimiento de la integridad de las células corporales y de los tejidos (Armstrong y Klein, 2001).

Esto sugiere que factores biológicos producidos durante la gestación que regulan la respuesta inmunológica (como la progesterona) pueden afectar importantemente el establecimiento y la velocidad de reproducción del parásito a través de distintos mecanismos: ya sea afectando la respuesta inmunológica específica del huésped contra el parásito, o sirviendo como factores de crecimiento positivos para el cisticerco, donde los parásitos pueden producir y alterar las concentraciones de las hormonas en su huésped (Klein, 2004).

## CONCLUSIONES

En este estudio, la infección por *T. pisiformis* alteró el comportamiento de las conejas, disminuyendo su actividad locomotora y aumentando su conducta exploratoria y disminuyó la cantidad de embriones implantados, con mayor altura de la mucosa uterina y mayor cantidad de linfocitos y macrófagos.



## EXPERIMENTO 3

### Describir histológicamente la mucosa del intestino delgado en el sitio de establecimiento de *Taenia pisiformis* en el modelo del hámster

#### INTRODUCCIÓN

Cuando un individuo es infectado por un agente patógeno como un virus, bacteria o parásito, se inicia una respuesta inmune destinada a evitar el establecimiento del patógeno. En esta respuesta participan un conjunto de células inflamatorias, entre ellas los linfocitos y macrófagos (Weary *et al.*, 2009; Dantzer, 2004).

Las parasitosis modifican diferentes aspectos de la fisiología del huésped, incluyendo la expresión de algunas moléculas como citocinas y hormonas, lo que resulta en la modulación de la respuesta inmune inducida contra los mismos, que a veces favorece la supervivencia del parásito en un hospedero inmunocompetente (Escobedo y Roberts, 2005; Dantzer, 2004).

La Teniasis causada por *T. pisiformis* afecta a zorros, coyotes y perros, estos depredadores son infectados al consumir cisticercos que se encuentran en las vísceras de conejos o liebres. Los cisticercos evaginan por la acción enzimática y biliar y emerge el escólex el cual se ancla a su intestino delgado y se desarrolla la tenia que se alimenta de nutrientes, glucosa y agua del intestino delgado del huésped, utilizando su estróbilo a través del tegumento por el proceso de endocitosis y transporte activo en contacto directo con la mucosa intestinal, ingiriendo partículas de moco o detritus celulares por pinocitosis (Quiroz, 2005; Cornford *et al.*, 2001). Al madurar la tenia produce proglótidos grávidos maduros que contienen huevos que son liberados al ambiente en las excretas del depredador. Los conejos son hospederos intermediarios y se infectan al consumir los huevos liberados con los proglótidos (Quiroz, 2005). El estudio del sitio de anclaje en estos depredadores es complicado por cuestiones humanitarias y de manejo.

De manera experimental se demostró que con distintas dosis de inmunodepresión los metacéstodos de *T. pisiformis* son capaces de crecer en el intestino del hámster dorado, e incluso llegan a su madurez (Toral-Bastida *et al.*, 2011). Así, considerando que los hámsteres generalmente presentan pocos problemas de salud, y que su tamaño facilita su manejo, además de que en su intestino pueden desarrollar la fase adulta de cestodos de *T. pisiformis* y *T. solium* (Vester, 1974; Toral-Bastida *et al.*, 2011) se propone como un modelo experimental adecuado.

El propósito del presente estudio fue identificar cambios celulares en la mucosa del intestino delgado de hámsteres infectados experimentalmente con el cisticerco de *T. pisiformis*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Alojamiento y alimentación de los animales

Se emplearon 9 hámsteres dorados (*Mesocricetus auratus*) hembras nulíparas de 10 a 13 semanas de edad, obtenidas del Bioterio del Hospital Infantil de México “Federico Gómez” y mantenidos en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos (UAEM). Se formaron tres grupos, un grupo testigo y dos grupos infectados con diferentes dosis de cisticercos. Cada grupo fue alojado en jaulas para hámsteres de tipo comercial, con comedero y un bebedero graduado, alimentados con alimento comercial nutri-cubos Purina® con 23% de proteína cruda y agua, administrados a libre demanda.

### Obtención de los metacéstodos de *T. pisiformis*

Los metacéstodos de *T. pisiformis* se obtuvieron de la cavidad peritoneal de conejos infectados experimentalmente y se depositaron en un recipiente estéril con solución salina fisiológica al 4° C. Se procedió a su identificación a nivel macroscópico, tomando en cuenta sus características morfológicas, seleccionando los metacéstodos en estado vesicular que se encontraron íntegros.

### Infección por vía oral con metacéstodos de *T. pisiformis*

Un grupo de hámsteres se inoculó por vía oral con 3 metacéstodos de *T. pisiformis* y otro grupo con 6, utilizando unas pinzas de disección (Flores-Pérez *et al.*, 2002). Se observaron durante 5 minutos con la finalidad de asegurar que ingirieron la dosis infectante administrada. Todos los animales fueron inmunodeprimidos 24 hrs post infección con una dosis única de 4 mg de Acetato de Metil Prednisolona (AMP) (Pfizer) vía intramuscular (Flores-Pérez *et al.*, 2002).

## Sacrificio humanitario

Los hámsteres se sacrificaron de manera humanitaria 21 días post infección, utilizando una sobredosis de pentobarbital sódico (100 mg/kg de peso).

## Necropsias

Se registraron los hallazgos de la necropsia de cada animal en un protocolo diseñado para este fin, principalmente a nivel del intestino delgado en el sitio de fijación de la tenia. En todos los casos se obtuvieron imágenes representativas de los hallazgos anatomopatológicos.

## Obtención de tejidos y procesamiento histológico

El sitio de anclaje de la tenia en el intestino delgado de cada animal fue obtenido y fijado durante 72 horas en una solución de Paraformaldehído (PFA) al 4%. Los segmentos de tejido fijados se procesaron conforme a la técnica de inclusión en parafina y se llevaron a cabo secciones histológicas semiseriadas de 6  $\mu\text{m}$  de grosor (Rosas-Velasco *et al.*, 2007) que fueron teñidas con hematoxilina y eosina.

## Determinación del área de estudio

De cada tenia anclada al intestino delgado del hámster se analizaron nueve cortes histológicos semiseriados con un total de 27 microfotografías cada una con un área de 2,400  $\mu\text{m}^2$  con el objetivo de 40X.

Para los tejidos testigos se analizó un segmento de intestino delgado sano, utilizando el área semejante donde fue encontrada la tenia en el intestino infectado.

## Cuantificación de poblaciones celulares

Se contaron las células del sistema inmune presentes en el área analizada mediante el uso de un microscopio acoplado a un analizador de imágenes que cuenta con programas de cómputo especializados Motic Images Plus 3.0 (MIP 3.0), encontrando linfocitos, macrófagos, neutrófilos y eosinófilos que fueron cuantificados (Betancourt-Alonso *et al.*, 2011),

## Análisis de la mucosa intestinal

Se realizó una descripción detallada de las características de las capas que se encuentran en la mucosa y se midió la altura de la mucosa del intestino.

## Análisis estadístico

Los datos fueron analizados con una prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis para comparar las células presentes con el software estadístico GraphPad InStat.

## RESULTADOS

A la necropsia se observó que las tenias se encontraban en la parte media del duodeno. De los tres hámsteres infectados con tres metacéstodos, cada uno tenía un céstodo anclado, y de los tres hámsteres infectados con seis metacéstodos, dos céstodos se encontraron en un hámster, uno en otro hámster y uno de los hámsteres no desarrolló ningún céstodo.

De las seis tenias que se encontraron cinco se desprendieron y solo una se logró quedar anclada al intestino del hámster, esta última se encontró en el hámster que se infectó con seis metacéstodos en el que se desarrollaron dos tenias (Figura 15).

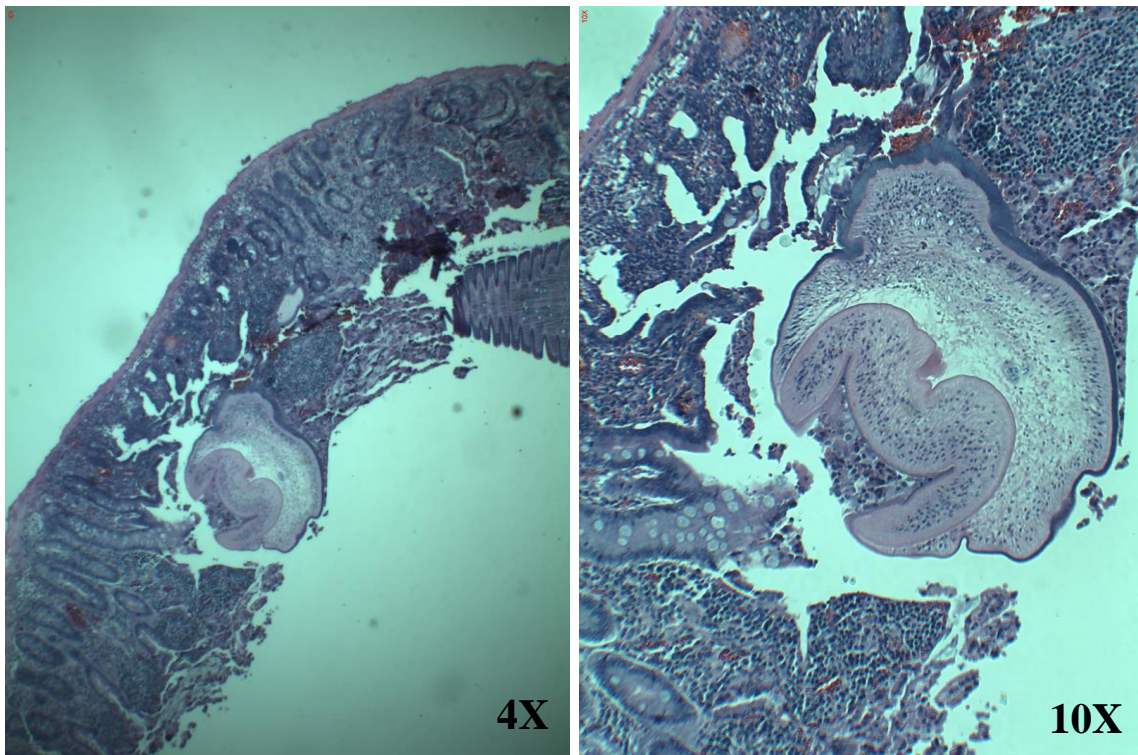


Figura 15. Tenia anclada al intestino delgado del hámster infectado con seis metacéstodos de *T. pisiformis* a los 21 días post infección. Tinción con H y E.

## Cuantificación de poblaciones celulares

El número de linfocitos en los intestinos de hámsteres infectados con 6 metacéstodos fue nueve veces mayor en relación al grupo testigo y cinco veces mayor en relación al grupo infectado con 3 metacéstodos ( $P=0.001$ ) (Figura 16), el número promedio máximo de linfocitos observados fue  $9.05 \pm 4.34EE$  y se apreció en el grupo infectado con 6 cisticercos, en tanto que el número promedio mínimo de linfocitos fue de  $0.73 \pm 0.43EE$  y se encontró en el grupo control que no fue infectado, el patrón de número de linfocitos que se observó fue dependiente de la dosis ya que a mayor dosis de infección la cantidad de linfocitos observada se incrementó ( $P=0.01$ ) (Figura 16).

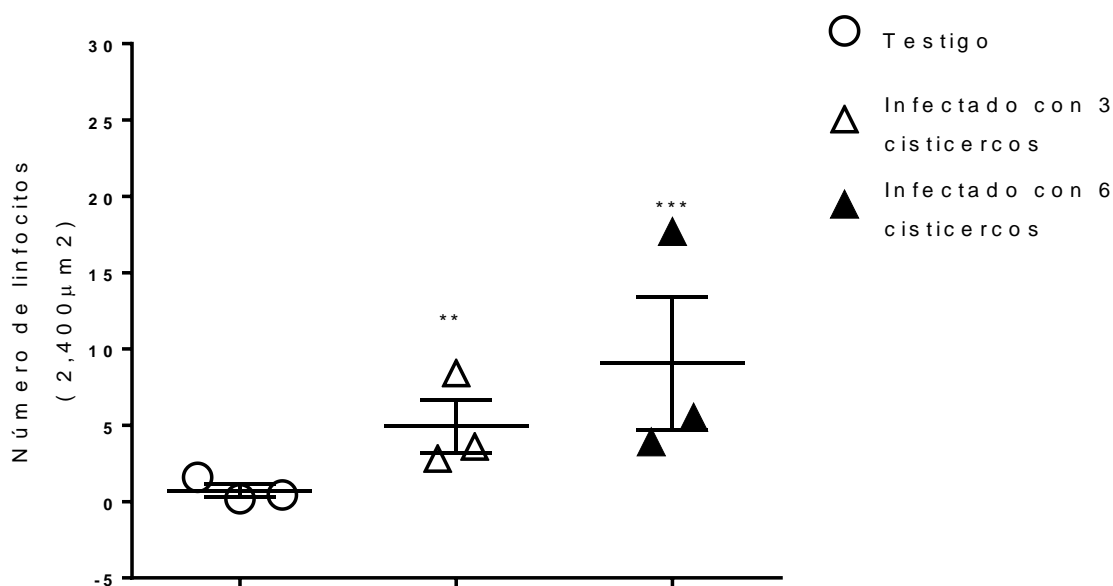


Figura 16. Promedio ( $\pm EE$ ) de linfocitos presentes en el sitio de anclaje en el intestino delgado de los hámsteres sin infectar (testigo), infectado con 3 cisticercos o infectado con 6 cisticercos, a los 21 días post infección.

\*\*\*  $P=0.001$ , \*\*  $P=0.01$ ; prueba de Kruskal-Wallis seguida por prueba de Dunn's.

Con respecto a la cuantificación de macrófagos, se observó un aumento del  $5.40 \pm 4.28$  en promedio para el grupo infectado con 3 metacéstodos y  $5.78 \pm 3.46EE$  el promedio

del infectado con 6 metacéstodos comparado con  $0.91 \pm 0.85EE$  de promedio en el grupo control ( $P= 0.001$ ) (Figura 17).

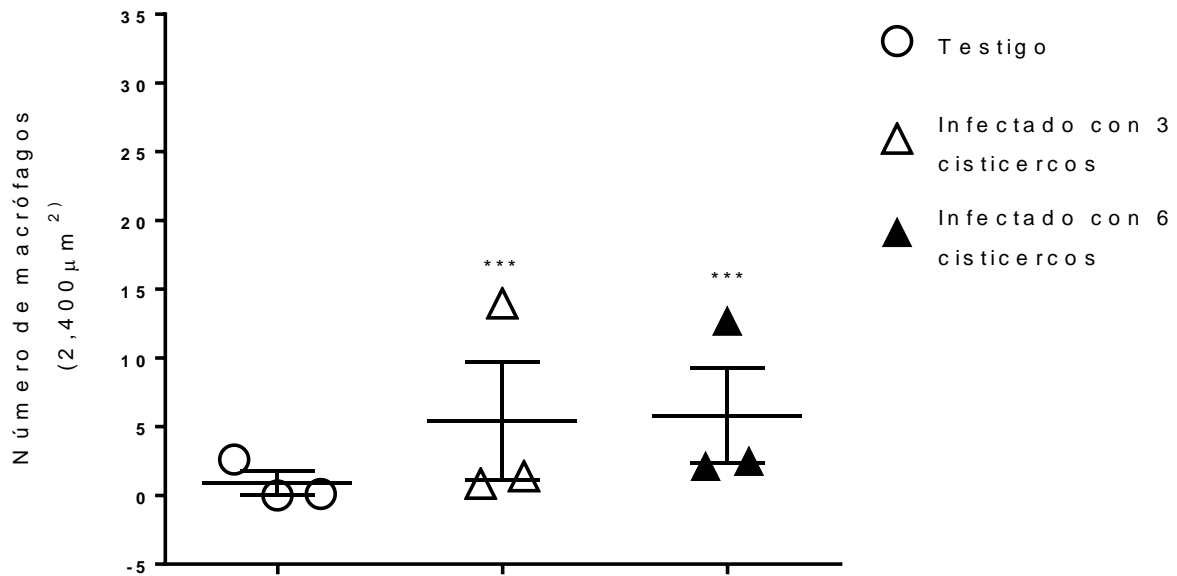


Figura 17. Promedio ( $\pm EE$ ) de macrófagos presentes en el sitio de anclaje en el intestino delgado de los hámsteres sin infectar (testigo), infectado con 3 cisticercos e infectado con 6 cisticercos a los 21 días post infección.

\*\*\*  $P=0.001$ ; prueba de Kruskal-Wallis seguida por prueba de Dunn's.

En el grupo control se encontraron escasos neutrófilos ( $0.02 \pm 0.02EE$ ), en el infectado con 3 metacéstodos se encontró un promedio de  $0.54 \pm 0.16EE$  ( $P=0.01$ ), y en el infectado con seis se observó un promedio de  $1.14 \pm 0.24EE$  ( $P= 0.001$ ) (Figura 18).



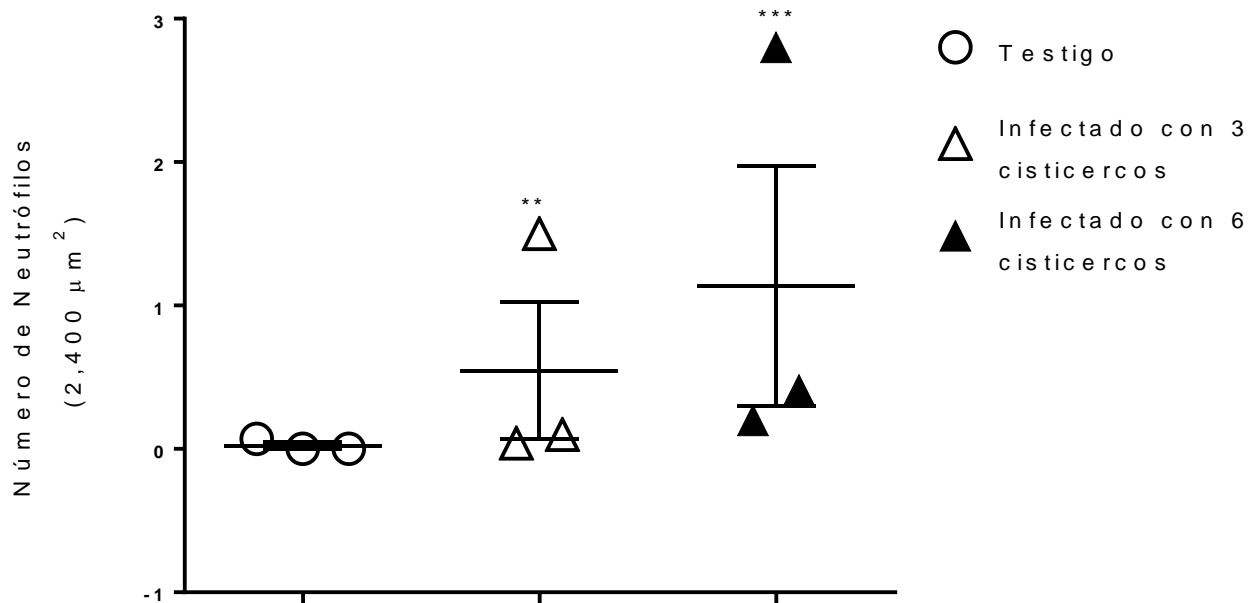


Figura 18. Promedio ( $\pm$ EE) de neutrófilos presentes en el sitio de anclaje en el intestino delgado de los hámsteres sin infectar (testigo), infectado con 3 cisticercos e infectado con 6 cisticercos a los 21 días post infección.

\*\*\*  $P=0.001$ , \*\*  $P=0.01$ ; prueba de Kruskal-Wallis seguida por prueba de Dunn's.

En el infiltrado inflamatorio (Figura 20), también se encontraron eosinófilos, células del sistema inmunológico comúnmente presentes en infecciones parasitarias. Estas células se encontraron en el tejido infectado con 3 metacéstodos ( $0.02 \pm 0.02$ EE), y en el infectado con seis metacéstodos ( $0.19 \pm 0.07$ EE) ( $P=0.05$ ) (Figura 19).

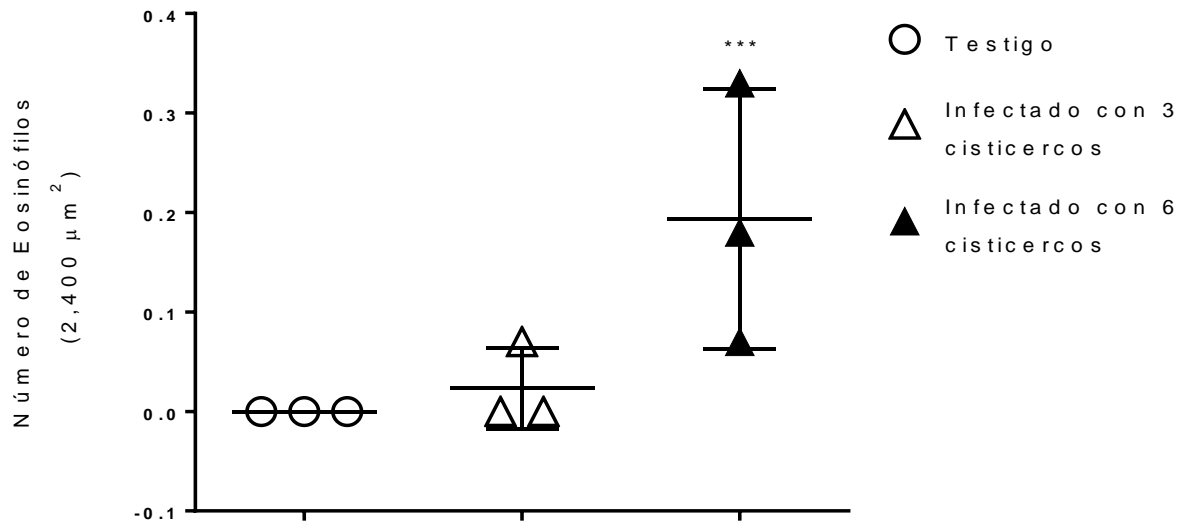


Figura 19. Promedio ( $\pm$ EE) de eosinófilos presentes en el sitio de anclaje en el intestino delgado de los hámsteres sin infectar (testigo), infectado con 3 cisticercos e infectado con 6 cisticercos a los 21 días post infección.

\*\*\*  $P=0.001$ , \*\*  $P=0.01$ ; prueba de Kruskal-Wallis seguida por prueba de Dunn's.

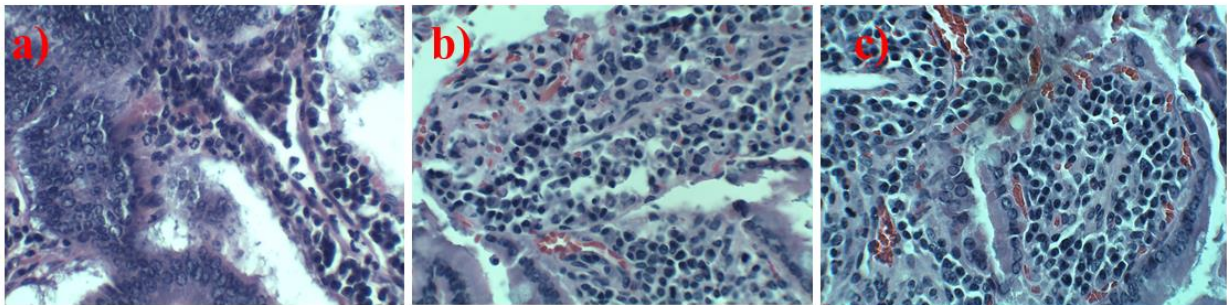


Figura 20. Microfotografías representativas de leucocitos presentes en el sitio de anclaje en el intestino delgado de los hámsteres. Objetivo 40X (linfocitos, macrófagos, neutrófilos y eosinófilos): (a) Testigo, (b) Infectado con 3 cisticercos, (c) Infectado con 6 cisticercos a los 21 días post infección.

## Análisis de la mucosa intestinal

La histoarquitectura de la mucosa del tejido sano fue normal con las vellosidades bien definidas, al contrario de la mucosa de los intestinos infectados donde se perdió su estructura normal, ya que se encontraron deformidades en las vellosidades y un retraso en su crecimiento, así como ruptura de criptas de Lieberkuhn (Figura 21 y 22).

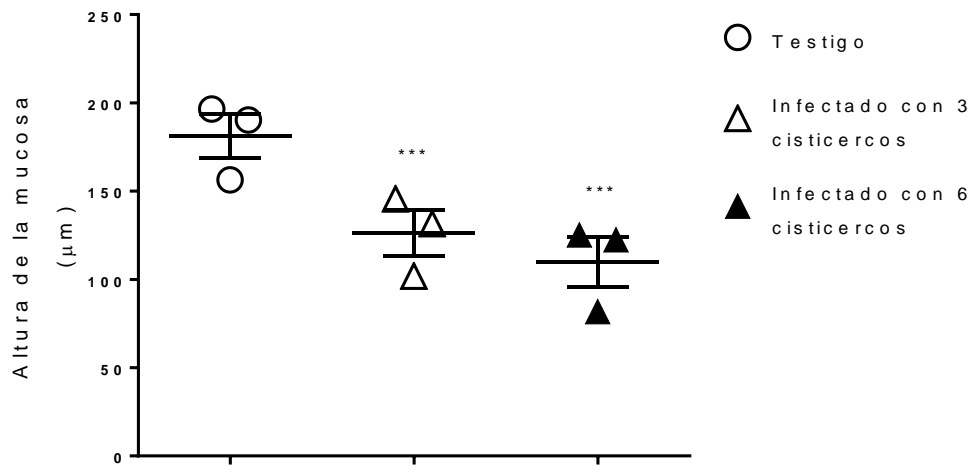


Figura 21. Promedio ( $\pm$ EE) de la medición del grosor de la mucosa intestinal de hámsteres testigos, infectados con tres cisticercos e infectados con 6 cisticercos a los 21 días post infección.

\*\*\* $P=0.001$ ; prueba de Kruskal-Wallis seguida por prueba de Dunn's.

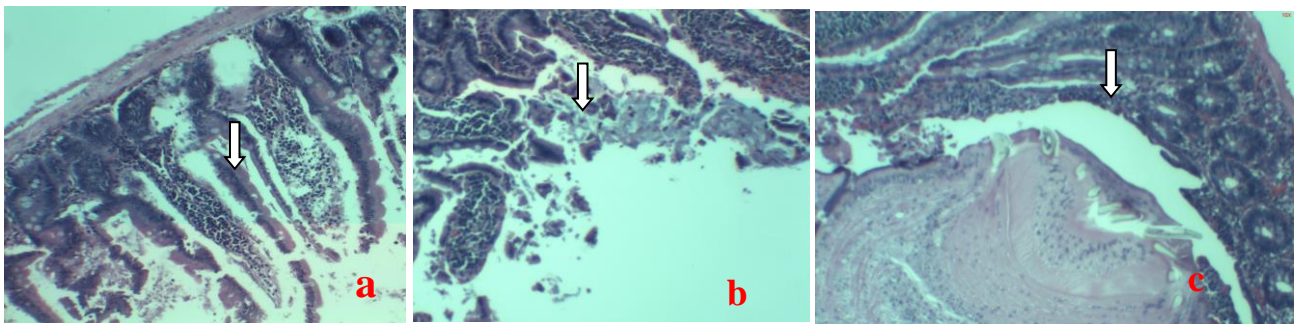


Figura 22. Microfotografías de la mucosa del intestino delgado de hámsteres: (a) testigo, (b) infectado con tres metacéstodos, (c) infectado con 6 metacéstodos, a los 21 días post infección. Objetivo 10X.

Las flechas indican el aspecto de la mucosa donde estaba anclada la tenia.

## DISCUSIÓN

El incremento de los macrófagos en los grupos infectados puede ser atribuido a la fisiología que poseen estas células, consistente en la exclusión de patógenos principalmente a través de la fagocitosis, función que llevan a cabo en conjunto con otros tipos celulares como los eosinófilos y mastocitos. Además, tienen una función relevante en el proceso inflamatorio al sintetizar mediadores químicos como las citocinas pro inflamatorias que promueven diversos eventos tisulares como el reclutamiento de células (Kreider *et al.*, 2007). Los macrófagos y neutrófilos pueden matar a los parásitos mediante la generación de metabolitos reactivos de oxígeno y óxido nítrico y secreción de citocinas pro-inflamatorias IL-6 y TNF- $\alpha$  (Klein, 2004).

En el infiltrado inflamatorio, también se encontraron eosinófilos, que son células del sistema inmunológico presentes en infecciones parasitarias. Estas células se encontraron en el tejido infectado con 3 metacéstodos y aún más cantidad en el infectado con seis metacéstodos ( $P=0.05$ ). Los eosinófilos se les considera como células asociadas a microorganismos de defensa contra organismos grandes como los helmintos (Behm y Ovington, 2000).

La histoarquitectura de la mucosa del tejido sano presentó las vellosidades características bien definidas, al contrario de la mucosa de los intestinos infectados donde se perdió la estructura normal, encontrándose deformidades en las vellosidades, así como ruptura de las criptas de Lieberkuhn. Esto concuerda con el aspecto de la mucosa estudiada en hámsteres infectados con el cisticerco de *T. solium* de manera experimental (Ávila *et al.*, 2002). Adicionalmente, logramos medir el grosor de la mucosa, encontrando un adelgazamiento progresivo dependiente de la dosis de infección que no se había referido en otra teniosis.

La pérdida de la histoarquitectura de la mucosa del intestino delgado del hámster pudiera ser debido a la muerte celular, que es el resultado más común de las infecciones, proceso que tiene un papel importante en la interacción huésped-parasito.

Actualmente se han descrito varias formas de muerte celular que dependen de diferentes factores, que incluyen la naturaleza del patógeno, la carga parasitaria y el sitio de infección (Labbe y Saleh, 2008). Si una célula infectada es proclive a cometer apoptosis y privar al invasor de la oportunidad de multiplicarse y diseminarse, entonces para que el agente patógeno pueda reproducirse, éste debe encontrar formas de evitar esta proclividad de la célula huésped.

Hay muchos ejemplos de virus y bacterias que pueden interferir en numerosos puntos de las vías extrínseca e intrínseca de apoptosis, para prevenir la muerte de la célula huésped (Hacker y Fischer, 2002; Benedict *et al.*, 2002). Los helmintos viven extracelularmente y podría esperarse que se beneficien al inducir la apoptosis en las células que el huésped moviliza para atacarlos. Estudios recientes con filarias (Jenson *et al.*, 2002), esquistosomas (Chen *et al.*, 2002), cestodo *T. crassiceps* (Lopez-Briones *et al.*, 2003) y nemátodos intestinales (Kuroda *et al.*, 2002), indican que estos helmintos se dirigen a las células inmunes del huésped interfiriendo con la apoptosis a través de mecanismos que incluyen la interacción FasL-FasR. En ratas infectadas por el nematodo intestinal *Nippostrongylus brasiliensis* se observan células intestinales desprendidas mostrando fragmentación nuclear, activación de caspasa-3 y ruptura específica de la polimerasa (ADP-ribosa). Este nemátodo intestinal induce la aceleración de la apoptosis en las células epiteliales de las pequeñas vellosidades intestinales *in vivo*, indicando que *N. brasiliensis* produce y secreta moléculas biológicamente activas que desencadenan la apoptosis en las células epiteliales intestinales junto con la regulación positiva de la expresión de Fas, sin dilucidar claramente el mecanismo de inducción de la apoptosis (Kuroda *et al.*, 2002). La apoptosis de las células vellosas puede ser desencadenada por células NK o células T citotóxicas a través del ligando Fas o por las interacciones del receptor del TNF- $\alpha$  (Green, 1998).

Por parte del huésped, la apoptosis mejorada en las células epiteliales intestinales podría ser relevante para la eliminación rápida de las células dañadas y la

remodelación de las células epiteliales intestinales a células que producen mucinas específicas, facilitando la expulsión de los helmintos (Kuroda *et al.*, 2002).

Se han reconocido varios mecanismos mediante los cuales los helmintos prolongan sus infecciones, incluido un aumento de las células inmunorreguladoras, la inhibición de las respuestas Th1 o Th2, dirigiéndose a los receptores de reconocimiento de patrones (PRR), o reduciendo la cantidad de células inmunitarias mediante la inducción de la apoptosis (Zakeri, 2017).

La apoptosis provocada por helmintos en las células inmunes agota la inmunidad del huésped, lo que iguala el camino para generar un ambiente permisivo y una infección crónica (Zakeri, 2017). Por otra parte, la destrucción de los tejidos infectados a menudo es concomitante con la muerte del agente infeccioso promoviendo la eliminación eficaz del parásito, dificultando su replicación y diseminación (Labbe y Saleh, 2008).

Otra posible vía de la pérdida del tejido pudiera atribuirse a las metaloproteinasas (MMP), las cuales regulan el crecimiento, proliferación, degradación de colágeno de la matriz extracelular, y son pieza clave en la apoptosis (Mukherjee y Swarnakar, 2015; Rempe *et al.*, 2016), ya que observamos una mayor cantidad de macrófagos y linfocitos que son células que liberan grandes cantidades de MMP de sus gránulos (Bruschi y Pinto, 2013; Yin *et al.*, 2011).

## CONCLUSIONES

En los tejidos analizados, se observa una pérdida de la histoarquitectura de la mucosa intestinal de animales infectados, y la cantidad de células inflamatorias, células como linfocitos, macrófagos, neutrófilos y eosinófilos, fue mayor en los animales infectados en comparación con el grupo control.

## LITERATURA CITADA

AVMA American Veterinary Medical Association (2001) Report of the AVMA panel on euthanasia. *J Am Vet Assoc* 218: 669-696

Anderson P H, Mathews J G, Berret S, Brush P J, Patterson D S (1981) Change in plasma enzyme activities and other blood components in response to acute and chronic liver damage in cattle. *Res Vet Sci* 31: 1-4

Anzualda-Arce S R, Pérez-Martínez M, Castro-Romero J I (2001) Variación en los índices de mitosis y apoptosis del epitelio uterino de la coneja durante los días previos a la implantación. *Téc Pec Méx* 39(1): 59-68

Anzualda-Arce S R, Villaseñor-Gaona H, Pérez-Martínez M (2008) Variación en la distribución de linfocitos epiteliales e intersticiales en tubas uterinas de la coneja al inicio de la gestación. *Téc Pec Méx* 46(5): 333-344

Armstrong M D, Klein J R (2001) Immune-endocrine interactions of the hypothalamus-pituitary-thyroid axis: integration, communication and homeostasis. *Archib immunol Therap Experimen* 49(3): 231-237

Ávila G, Aguilar L, Benitez S, Yopez-Mulia L, Lavenat L, Flisser A (2002) Inflammatory responses in the intestinal mucosa of gerbils and hamsters experimentally infected with the adult stage of *Taenia solium*. *Inter J Parasitol* 32(10): 1301-1308

Behn C A, Ovington K S (2000) The role of eosinophils in parasitic helminth infections: insights from genetically modified mice. *Parasitol Today* 16(5): 202-209

Benedict C A, Norris P S, Ware C F (2002) To kill or be killed: viral evasion of apoptosis. *Nat Immunol* 3: 1013-1018



Betancourt-Alonso M Á, Flores-Pérez F I, Rosas-Velasco C, Pérez-Martínez M (2006) Role of cytokines in embryo implantation in domestic mammals. *Vet Méx* 37(3): 335-350

Betancourt-Alonso M A, Orihuela A, Aguirre V, Vázquez R, Flores-Pérez F I (2011) Changes in behavioural and physiological parameters associated with *Taenia pisiformis* infection in rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) that may improve early detection of sick rabbits. *World Rabbit Sci* 19(1): 21-30

Blasco S, Torres J, Feliu C, Casanova J C, Miquel J, Moreno S (1996) The helminthfauna of *Oryctolagus cuniculus* (Linnaeus, 1758) in the Iberian Peninsula. Faunistic and ecological considerations. *Parasite* 3(4): 327-333

Boufker H I, Alexandre H, Carlier Y, Truyens C (2006) Infertility in murine acute *Trypanosoma cruzi* infection is associated with inhibition of pre-implantation embryo development. *Ame J Pathol* 169(5): 1730-1738

Bruschi F, Pinto B (2013) The significance of matrix metalloproteinases in parasitic infections involving the central nervous system. *Pathogens* 2: 105–129

Cann C H, Fairclough R J, Sutton R, Gow C B (1997) Endo-metrial expression of mRNA encoding insuline-like growth factors I and II and IGF-binding proteins 1 and 2 in early pregnant ewes. *J Reprod Fertil* 111 7-13

Carson D D, Bagchi I, Sudhandsu K D, Enders A C, Fazleabas A T, Lessey B A, Yoshigana K (2000) Embryo implantation. *Develop Biol* 223(2): 217-237

Cencig S, Coltel N, Truyens C, Carlier Y (2013) Fertility, gestation outcome and parasite congenital transmissibility in mice infected with TcI, TcII and TcVI genotypes of *Trypanosoma cruzi*. *PLoS Negl Trop Dis* 7(6): e2271

Cervantes F, González F X, Martínez J (1990) Importancia de los conejos y liebres silvestres de México. En: Memorias del VIII Simposio sobre Fauna Silvestre México 99

Chen L, Rao K V, Yi-Xun H, Ramaswamy K (2002) Skin-stage schistosomula of *Schistosoma mansoni* produce an apoptosis-inducing factor that can cause apoptosis of T cells. *J Biol Chem* 1-29

Chi M M, Schelein A I, Moley K H (2000) High insuline like growth factor-I (IGF-I) and insulin concentra- tions trigger apoptosis in the mouse blastocyst via down- regulation of the igf-1 receptor. *Endocrinology* 141: 4784-4792

Clark R A, Shoaib M, Hewitt K N, Stanford S C, Bate S T (2012) A comparison of InVivoStat with other statistical software packages for analysis of data generated from animal experiments. *J Psycho* 26(8): 1136-1142

Combes C (2001) Parasitism: the ecology and evolution of intimate interactions. *Chicago: University of Chicago Press* 576-614

Connor T J, Brewer C, Kelly J P, Harkin A (2005) Acute stress suppresses pro-inflammatory cytokines TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  independent of a catecholamine-driven increase in IL-10 production. *J Neuroimmunol* 159(1-2): 119-128

Cornford, E M, Cornford M E, Wright E M, Bruckner D A, Sampogna S, Hirayama B A (2001) Human cerebral cysticercosis: immunolocalization of a sodium-dependent glucose cotransporter (SGLT) in larval and adult tapeworms, *J Parasitol* 87(3): 510-521

Coutinho A, Hori S, Carvalho T, Caramalho I, Demengeot J (2001) Regulatory T cells: the physiology of autoreactivity in dominant tolerance and “quality control” of immune responses. *Immunol Rev* 182(1): 89-98

Dantzer R. (2004) Cytokine-induced sickness behaviour: a neuroimmune response to activation of innate immunity. *Europ J Pharmacol* 500 (1): 399-411

Díaz MA, Villalobos N, de Aluja A, Rosas G, Gómez-Conde E, Hernández P, Larralde C, Sciutto E, Fragoso G (2003) Th1 and Th2 indices of the immune response in pigs vaccinated against *Taenia solium* cysticercosis suggest various host immune strategies against the parasite. *Vet Immunol Immunopathol* 93(3): 81-90

Drews B, Ringleb J, Waurich R, Bernd T, Schroder K, Roellig K (2013) Free blastocyst and implantation stages in the European brown hare: correlation between ultrasound and histological data. *Reprod Fertil Develop* 25: 866-878

Duneau D, Ebert D (2012) Host sexual dimorphism and parasite adaptation. *PLoS Biol* 10(2): e1001271

Escobedo G, Roberts C W (2005) Parasite regulation by host hormones: an old mechanism of host exploitation?. *Trends Parasitol* 21(12): 588-593

Farías-González V (2011) Conceptos ecológicos, métodos y técnicas para la conservación de conejos y liebres. Temas sobre conservación de vertebrados silvestres en México, *INE-SEMARNAT* 229-248

Fischer B, Chavatte-Palmer P, Viebahn C, Navarrete S A, Duranthon V (2012) Rabbit as a reproductive model for human health. *Reproduction* 144(1): 1-10

Flatt R E, Moses R W (1975) Lesions of experimental cisticercosis in domestic rabbits. *Lab Animal Sci* 25(2): 162-167

Flores-Pérez I, Fragoso G G, Sciutto E, de Aluja A S (2002) Apoptosis induced by gamma irradiation of *Taenia solium* metacestodes. *Parasitol Res* 90: 203-208

Flores-Pérez FI, Rosas- Velasco Cesar, Lavielle Rosa E, Pérez- Martínez Mario (2003) Daños histológicos en hígados de conejos infectados experimentalmente con el metacestodo de *Taenia psiformis*: resultados preliminares, III Congreso internacional de Epidemiología. Oaxaca 656-662

Gardner M B, Dandekar S (1995) Neurobiology of simian and feline immunodeficiency virus infections. *Curr Top Immunol* 202: 135-150

Gemmell M A (1965) Immunological responses of the mammalian host against tapeworm infections. II. Species specificity of hexacanth embryos in protecting rabbits against *Taenia pisiformis*. *Immunol* 8(3): 270-280

González-Mariscal G, Melo A I, Zavala A, Beyer C (1992) Chin marking behavior in male and female New Zealand rabbits: onset, development and activation by steroids. *Physiol Behav* 52:889–893

González L A, Tolkamp B J, Coffey M P, Ferret A, Kyriazakis I (2008) Changes in feeding behavior as possible indicators for the automatic monitoring of health disorders in dairy cows. *J Dairy Sci* 91: 1017-1028

Green D R (1998) Apoptotic pathways: the roads to ruin. *Cell* 94: 695-698

Gryseels B, Polman K, Clerinx J, Kestens L (2006) Human schistosomiasis. *Lancet* 368(9541): 1106-1118

Gupta A, Dekaney C M, Bazer F W, Madrigal M M (1998) Beta transforming growth factors (TGF $\beta$ ) at the porcine conceptus-maternal interface. Part II: Uterine

TGF $\beta$  bioactivity and expression of immunoreactive TGF $\beta$ s (TGF $\beta$ 1, TGF $\beta$ 2, and TGF $\beta$ 3) and their receptors (Type I and Type II). *Biol Reprod* 59: 911-917

Hacker G, Fischer S F (2002) Bacterial anti-apoptotic activities. *FEMS Microbiol Lett* 211: 1-6

Hallal-Calleros C, Morales-Montor J, Vázquez-Montiel J A, Hoffman K L, Nieto-Rodríguez A, Flores-Pérez F I (2013) Hormonal and behavioral changes induced by acute and chronic experimental infestation with *Psoroptes cuniculi* in the domestic rabbit *Oryctolagus cuniculus*. *Parasit Vectors* 6(1): 361-371

Hallal-Calleros C, Morales-Montor J, Orihuela-Trujillo A, Togno-Peirce C, Murcia-Mejía C, Bielli A, Hoffman-Kurt L, Flores-Pérez F I (2016) *Taenia pisiformis* cysticercosis induces decreased prolificacy and increased progesterone levels in rabbits. *Vet Parasitol* 229: 50-53

Hams E, Aviello G, Fallon P G (2013) The schistosoma granuloma: friend or foe? *Front Immunol* 4: 89

Hart B L (1988) Biological basis of the behavior of sick animals. *Neurosci Biobehav Rev* 12(2): 123-137

Huerta L, Terrazas L I, Sciutto E, Larralde C (1992) Immunological mediation of gonadal effects on experimental murine cysticercosis caused by *Taenia crassiceps* metacestodes. *J Parasitol* 78: 471-476

Jenson J S, O'Connor R, Osborne J, Devaney E (2002) Infection with *Brugia microfilariae* induces apoptosis of CD4+ T lymphocytes: a mechanism of immune unresponsiveness in filariasis. *Eur J Immunol* 32(3): 858-867

Klein S L (2000) Hormones and mating system affect sex and species differences in immune function among vertebrates. *Behav Process* 51(1-3): 149-166.

Klein S L (2003) Parasite manipulation of the proximate mechanisms that mediate social behavior in vertebrates. *Physiol Behav* 79(3): 441-449

Klein S L (2004) Hormonal and immunological mechanisms mediating sex differences in parasite infection. *Parasite Immunol* 26(6-7): 247-264

Kreider T, Anthony R M, Urban J F, Gause, W C (2007) Alternatively activated macrophages in helminth infections. *Current Opinion in Immunol* 19(4): 448-453

Kronh TC, Ritskes-Hottinga J, Svendsen P (1999) Los efectos de la alimentación y la vivienda sobre el comportamiento del conejo de laboratorio. *Lab Anim* 33: 101-107

Kuroda A, Uchikawa R, Matsuda S, Yamada M, Tegoshi T, Arizono N (2002) Up-regulation of Fas (CD95) and induction of apoptosis in intestinal epithelial cells by nematode-derived molecules. *Infect Immun* 70(8): 4002-4008

Labbe K, Saleh M (2008) Cell death in the host response to infection. *Cell death Differ* 15(9): 1339-1349

Larralde C, Morales J, Terrazas I, Govezensky T, Romano M C (1995) Sex hormone changes induced by the parasite lead to feminization of the male host in murine *Taenia crassiceps* cysticercosis. *J Ster Bioch Mol Biol* 52(6): 575-580

Lenzi H L, Romanha W S, Santos R M, Rosas A, Mota E M, Manso P P (2006) Four whole-istic aspects of schistosome granuloma biology: fractal arrangement, internal regulation, autopoietic component and closure. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 101 (Suppl 1):219–231

Liu C Q, Yuan Y, Wang Z X (2001) Effects of leukaemia inhibitory factor on endometrial receptivity and its hormonal regulation in rabbits. *Cell Biol Int* 25: 1029-1032

López-Briones S, Sciutto E, Ventura J L, Zentella A, Fragoso G (2003) CD4+ and CD19+ splenocytes undergo apoptosis during an experimental murine infection with *Taenia crassiceps*. *Parasitol Res* 90(2): 157-163

Merchant M T, Aguilar L, Ávila G, Robert L, Flisser A, Willms K (1998) *Taenia solium*: description of the in intestinal implantation sites in experimental hamster infections. *J Parasitol* 84(4): 681-685

Morales J, Velasco T, Tovar V, Fragoso G, Fleury A, Beltran C, Larralde C (2002) Castration and pregnancy of rural pigs significantly increase the prevalence of naturally acquired *Taenia solium* cysticercosis. *Vet parasitol* 108(1): 41-48

Morales-Montor J, Baig S, Hallal-Calleros C, Damian R T (2002) *Taenia crassiceps*: androgen reconstitution of the host leads to protection during cysticercosis. *Exp Parasitol* 100(4): 209-216

Morales-Montor J, Baig S, Mitchell R, Deway K, Hallal-Calleros C, Damian R T (2001) Immunoendocrine interactions during chronic cysticercosis determine male mouse feminization: role of IL-6. *Jl Immunol* 167: 4527-4533

Mukherjee A, Swarnakar S (2015) Implication of matrix metalloproteinases in regulating neuronal disorder. *Mol Biol Rep* 42: 1–11

Płociński P, Dzitko K, Długońska H (2006) Prolactin as a modulator of antiparasitic immunity. *Wiado Parazytol* 53(4): 263-270

Portales-Betancourt G L, Cervantes F A, Uribe M C (2010) Estudio histológico comparado del ovario de lagomorfos mexicanos (*Sylvilagus y Lepus*). En 60 Años de la Colección Nacional de Mamíferos del Instituto de Biología, UNAM 125–128

Presas A M F, Valdez R A, Willms K, Romano M C (2008) The key steroidogenic enzyme 3 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase in *Taenia solium* and *Taenia crassiceps* (WFU). *Parasitol Res* 103(4): 847-852

Pung O J, Luster M I (1986) *Toxoplasma gondii*: decreased resistance to infection in mice due to estrogen. *Exp Parasitol* 61: 48-56

Quinn M, Ramamoorthy S, Cidlowski J A (2014) Sexually dimorphic actions of glucocorticoids: beyond chromosomes and sex hormones. *Ann N Y Acad Sci* 1317: 1-6

Quiroz R H (2005) parasitología y enfermedades parasitarias de animales domésticos, editorial LIMUSA pp 261-320

Raveh S, Heg D, Dobson F S, Coltman D W, Gorrell J, Blamer A, Rööslí S, Nuehaus P (2011) No experimental effects or parasite load on male mating behaviour and reproductive succes. *Animal Behav* 82:673-682

Rempe R G, Hartz A M, Bauer B (2016) Matrix metalloproteinases in the brain and blood-brain barrier: Versatile breakers and makers. *J Cereb. Blood Flow Metab* 36: 1481–1507

Rosas-Velasco C, Pérez-Martínez M, Castillo-Juárez H, Flores-Pérez F I (2007) Cambios histológicos inducidos por el acetato de medroxiprogesterona en el útero de conejas ovariectomizadas\* Histological changes induced by medroxyprogesterone acetate on the uterus of ovariectomized rabbits. *Vet Méx* 38(2): 207-215

Ross A G, Bartley P B, Sleight A C, Olds G R, Li Y, Williams G M (2002) Schistosomiasis. *N Engl J Med* 346(16): 1212–1220



Santos E G N, Santos C P (2013) Parasite-induced and parasite development-dependent alteration of the swimming behavior of fish hosts. *Acta Trop* 127: 56-62

Schencke C, del Sol M, Rojas M (2004) Relación útero-embriónica y su variación morfológica durante el periodo implantacional en conejo. *Int J Morphol* 22(4): 313-322

Schenke C, Rojas M, Del Sol M (2008) Evaluación morfométrica de la relación embrio-uterina de las etapas pre y post implantacional en conejo (*Oryctolagus cuniculus*). *Int J Morphol* 26(4): 995-1004

Schmidt C M, Garret E, Orr H T (1997) Cytotoxic T lymphocyte recognition of HLA-G in mice. *Hum Immunol* 55: 127-139

Simon C, Frances A, Piquette G N, El Danasouri, I, Zurawski G, Dang W, Polan M L (1994) Embryonic implantation in mice is blocked by interleukin-1 receptor antagonist. *Endocrinol* 134(2): 521-528

Soderstrom K, Corliss B, Lanier L L, Phillips J H (1997) CD94/ NKG2 is the predominant inhibitory receptor involved in recognition of HLA-G by decidual and peripheral blood NK cells. *J Immunol* 159: 1072-1075

Susan E A, Aiello B S (1998) The Merck veterinary manual. *Merck and Company Inc., USA, ISBN-13, 1271377300* 165-173

Szekeres-Bartho J, Barakonyi A, Par G, Polgar B, Palkovics T, Szereday L (2001) Progesterone as an immunomodulatory molecule. *Int Immunopharmacol* 1: 1037-1048

Toral-Bastida E, Garza-Rodríguez A, Jimenez-Gonzalez D E, García-Cortes R, Avila-Ramirez G, Maravilla P, Flisser A (2011) Development of *Taenia pisiformis* in golden hamster (*Mesocricetus auratus*). *Parasit Vectors* 4: 147-150

Vargas-Villavicencio J A, Larralde C, Morales-Montor J (2006) Gonadectomy and progesterone treatment induce protection in murine cysticercosis. *Parasite immunol* 28(12): 667-674

Vester A (1974) The golden hamster as a definitive host of *Taenia solium* and *Taenia saginata*. *Onderstepoort J Vet Res* 41: 23-28

Walsh P T, McCreless E, Pedersen A B (2013) Faecal avoidance and selective foraging: do wild mice have the luxury to avoid faeces?. *Animal Behav* 86: 559-566

Weary D M, Huzzey J M, Von Keyserlingk M A G (2009) Board-invited review: Using behavior to predict and identify ill health in animals. *J Animal Sci* 87(2): 770-777

Yamaguchi M, Matsuzaki N, Hirota K, Miyake A, Tanizawa O (1990) Interleukin 6 possibly induced by interleukin 1 $\beta$  in the pituitary gland stimulates the release of gonadotropins and prolactin. *Act Endocrinol (Copenh)* 122(2): 201-205

Yang D, Fu Y, Wu X, Xie Y, Nie H, Chen L, Nong X, Gu X, Wang S, Peng X, Yan N, Zhang R, Zheng W, Yan G (2012) Annotation of the transcriptome from *Taenia pisiformis* and its comparative analysis with three Taeniidae species. *PLoS One* 7(4): e32283

Yin P, Yang L, Zhou H Y, Sun R P (2011) Matrix metalloproteinase-9 may be a potential therapeutic target in epilepsy. *Med Hypotheses* 76(2): 184-186

Zakeri A (2017) Helminth-induced apoptosis: a silent strategy for immunosuppression. *Parasitol* 144(13): 1663-1676

Zamora-Huerta V X, Villaseñor-Gaona H, Anzaldúa-Arce S R, Pérez-Martínez M  
(2005) Reduction of total lymphocyte migration to the uterus during the first day of pregnancy and pseudopregnancy of the rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *Vet Méx* 36(1): 63-73



# High frequency of *Taenia pisiformis* metacestodes and high sex-associated susceptibility to cysticercosis in naturally infected wild rabbits

R. Domínguez-Roldán<sup>1</sup> · M. Pérez-Martínez<sup>2</sup> · M. F. Rosetti<sup>3</sup> · D. Arias-Hernández<sup>1</sup> · G. Bernal-Fernández<sup>4</sup> · F. I. Flores-Pérez<sup>1</sup> · C. Hallal-Calleros<sup>1</sup> 

Received: 18 January 2018 / Accepted: 1 May 2018 / Published online: 10 May 2018  
© Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature 2018

## Abstract

Sexual dimorphism is a well-documented phenomenon observed at all levels of the animal kingdom, with the inclusion of both sexes in clinical trials and basic research becoming mandatory. Regarding parasitosis, in several animal species, the signs and virulence of the disease may change depending on the sex of the affected animal. In the cestodiasis caused by *Taenia solium* and *Taenia crassiceps*, females are more susceptible to experimental infection than males. Cysticercosis by *Taenia pisiformis* in rabbits has acquired relevance due to its economic impact, namely affecting welfare and production. In America, specifically in Mexico, there are no formal reports on the infection with *T. pisiformis* metacestodes in populations of wild rabbits, despite being the country with more endemic species (about 15 species), among them, the volcanoes rabbits or the endangered teporingo (*Romerolagus diazi*). In this study, 31 wild rabbits were obtained by hunters of some regions of Morelos state during several hunting seasons, and sex, physiological stage, and number of metacestodes were recorded. A high frequency of infection by *T. pisiformis* metacestodes (67.7%) was found. Also, a higher susceptibility to this infection was observed in does (80% infected) compared to bucks (40%), finding 84.2% of metacestodes (235 metacestodes) in does and 15.8% of metacestodes (44 metacestodes) in bucks. The percentage of infection was higher in lactating compared with pregnant and non-pregnant does, with metacestodes lodging mainly in the uterus. Increasing our knowledge regarding parasitic infections can help us better understand transmission circles as well as the parasite-host interaction of these increasingly at risk rabbit species.

**Keywords** Metacestodes · Rabbits · Dimorphism · Infection

## Introduction

Parasitic infections in animals can lead to significant economic losses, alterations in animal welfare and may even

contribute to the extinction of species when they affect reproduction or induce mass death (Harris and Dunn 2013; Heard et al. 2013). Parasites can induce modifications in the behavior of their hosts by facilitating their transmission and allowing

F. I. Flores-Pérez and C. Hallal-Calleros contributed equally to this work.

Section Editor: David Bruce Conn

**Electronic supplementary material** The online version of this article (<https://doi.org/10.1007/s00436-018-5907-6>) contains supplementary material, which is available to authorized users.

✉ F. I. Flores-Pérez  
ivan.flores@uam.mx

✉ C. Hallal-Calleros  
challac@gmail.com

<sup>1</sup> Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Av. Universidad 1,001, Col. Chamilpa, 62209 Cuernavaca, Morelos, Mexico

<sup>2</sup> Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, Av. Universidad 3,000, Col. Ciudad Universitaria, 04510 Mexico City, Mexico

<sup>3</sup> Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México, Av. Universidad 3,000, Col. Ciudad Universitaria, 04510 Mexico City, Mexico

<sup>4</sup> Facultad de Farmacia, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Av. Universidad 1,001, Col. Chamilpa, 62209 Cuernavaca, Morelos, Mexico

parasites life cycle to continue (Berdoy et al. 2000), for instance by modifying host tropism in response to stimuli such as light, gravity, and moisture or modifying the host's reactions to threat stimuli as a lack of reaction to predators (Moore 2002) or altering hormone levels to facilitate their establishment and reproduction (Larralde et al. 1995).

Sexual dimorphism is a well-documented phenomenon observed at all levels of the animal kingdom. Historically, sex hormones had been implicated as key players in a wide array of pathologies displaying sexual dimorphism in their etiology and progression. While sex hormones clearly contribute to sexually dimorphic diseases, other factors may be involved in this phenomenon as well (Quinn et al. 2014). Males and females differ across a broad spectrum of morphological, physiological, and behavioral characteristics. In fact, sex-related dimorphic features are generally the component of the highest phenotypic variance in most of the taxa that reproduce sexually. In addition to the most conspicuous sexual dimorphism directly associated with primary reproductive organs and morphology, there is sexual dimorphism associated with behavior and physiology in different species. While research has mainly focused on unraveling the specific genetic and environmental effects of sex, there is an intriguing possibility that innate physiological differences between females and males play an important role in the onset of disease, susceptibility, prevalence, and treatment responses (Rigby and Kulathinal 2015). The importance of sexual dimorphism has recently been highlighted with the inclusion of both sexes in clinical trials and basic research becoming mandatory (Palmer and Clegg 2015).

Naturally derived from sexual dimorphism is the sex-biased skew in the occurrence of several illnesses, and the myriad of differences expressed as behavioral effects. For example, a sex-associated susceptibility has been reported for multiple sclerosis, for which a genetic association has been demonstrated (Bourguiba-Hachemi et al. 2016), while another study looking at sex differences in drug susceptibility using methadone-associated QTc prolongation in heroin-dependent patients found that men are more susceptible than women (Chang et al. 2012). A study of the profile of proteins associated with susceptibility or resistance to diet-induced obesity proposed sex-specific medical treatment of obesity (Choi et al. 2012). Furthermore, sex differences in the nucleus accumbens transcriptome profiles had been associated with susceptibility versus resilience to sub chronic variable stress in an animal model of depression, where behavioral effects were observed in females but not in males (Hodes et al. 2015).

With regard to parasitosis, the signs of the disease and its virulence can vary depending on the host sex. Both in animals and humans, variability in the response to parasite infection has been attributed to factors as diverse as the expression of hormones, the immune response, or even differences in the microbiota (Dunau and Ebert 2012). In the cestodiasis caused

by *Taenia solium* and *Taenia crassiceps*, the parasitic loads in females are larger than those of males. This dimorphism has been attributed to the hormonal environment prevailing in the female in which estrogen and progesterone favor the development of the parasite, coupled with factors inherent to the parasites such as the ability to synthesize hormones or analogs of ovarian hormones that favor their development (Presas et al. 2008), which may result in the feminization of the male host in mice (Larralde et al. 1995; Morales et al. 2002). Identifying the dimorphism in natural infections contributes importantly to the control of diseases, focusing the strategies of prevention to the host of the susceptible sex (Dunau and Ebert 2012).

Cysticercosis by *Taenia pisiformis* (*T. pisiformis*) in rabbits has acquired economic relevance due to its effect on animal welfare and production. Behavioral alterations in experimentally infected New Zealand rabbit males include a decreased physical condition being prostrate and a reduction in their water intake (Betancourt-Alonso et al. 2011), while experimentally infected New Zealand does display a decreased prolificacy (Hallal-Calleros et al. 2016). *T. pisiformis* cysticercosis involves rabbits as intermediate host and foxes, and coyotes or dogs as definitive hosts. In America, specifically in Mexico, there are no formal data on the existence of *T. pisiformis* metacestode in populations of wild rabbits, despite being the country with about 15 species, which is the largest number of endemic species of rabbits in any country; among them, the rabbit of the isthmus and the rabbit of the volcanoes also called zacatuche or teporingo (*Romerolagus diazi*) are endangered (Fariás-González 2011). *T. pisiformis* is widely distributed across the world, but is unknown whether it is a native or introduced species. The presence of man and the devastation of the habitat are factors that can limit the growth of the population of wild rabbits. However, little is known about the parasitic diseases affecting populations of wild rabbits and the reproductive alterations they entail, which may in turn play a role in the extinction of susceptible species (Yang et al. 2012). The aim of this study was to explore the infection with *T. pisiformis* metacestodes in wild rabbits in the state of Morelos, Mexico, by evaluating parasite loads of naturally infected males and females.

## Material and methods

### Animals

The wild rabbits were captured by local hunters with a hunting license during the seasons allowed for hunting. Hunters conducted legal hunting in order to obtain food, allowing us to examine hunted animals immediately after. The species of the hunted wild rabbit was *Sylvilagus floridanus*, a non-endangered species. From each slaughtered rabbit, the sex and the physiological stage were recorded, considering

pregnant does those whose uterus had fetuses in the uterine horns, lactating does those whose mammary glands were developed but without the presence of fetuses, and non-pregnant, those does without development of mammary glands or fetuses (Zamora-Huerta et al. 2005; Portales-Betancourt et al. 2010). Rabbits were collected from December 2013 to February 2016, in the municipalities Temixco (1299 m.s.n.m., 18° 51' 10" N, 99° 13' 38" W), Tepalcingo (1100 m.s.n.m., 18° 35' 42" N, 98° 50' 0" W), and Tlaltizapan (945 m.s.n.m., 18° 41' 00" N, 99° 07' 04" W), at the state Morelos. We recorded the exact location where each rabbit was slaughtered by mean of geographic positioning systems (GPS V, Garmin Ltd), obtaining automatic information on detailed routes and maps.

### Parasitic load

To determine the presence of metacestodes, an incision was made in the abdominal midline of the rabbits, and the abdominal, pelvic, and thoracic regions were macroscopically inspected. Photographic images of metacestodes in situ were obtained, they were macroscopically counted, and the anatomical location was recorded.

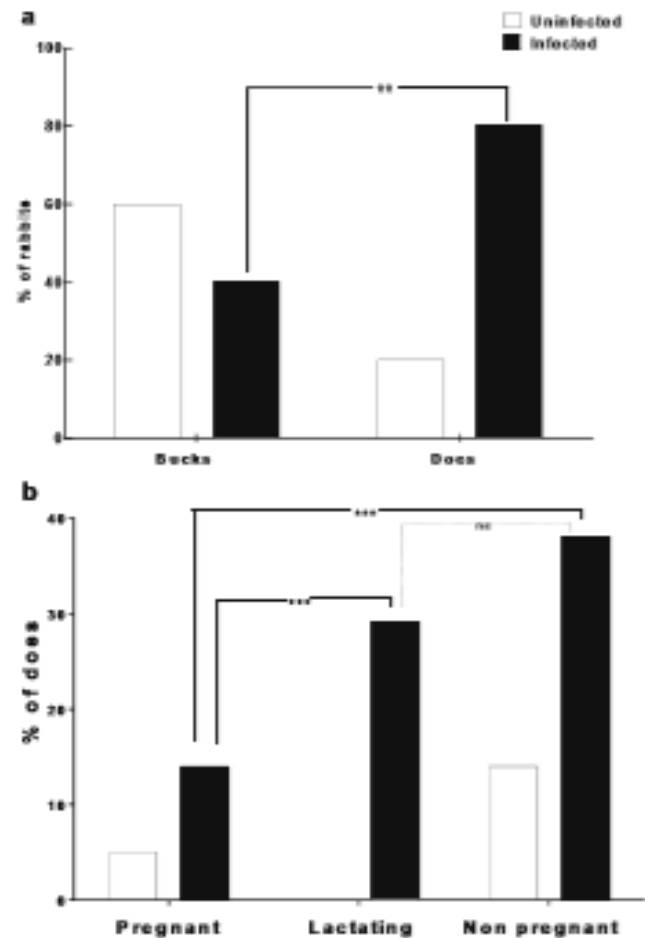
### Statistical analysis

Data analysis was performed using a Fisher's exact test comparing proportions of infected and uninfected rabbits (females and males); also, it was used to compare the proportion of infected females between each physiological stage (pregnant, lactating, and non-pregnant). To compare the number of metacestodes in each group, a *t* test was used. The tests were considered significant at the 5% level of significance, with a *P* value less than 0.05. The statistical software in vivo stat 3.7 was used.

### Results

The 18 hunts were carried out in three municipalities of the state of Morelos, 12 were performed in the municipality Temixco, where 25 rabbits were captured (seven bucks, two pregnant, five lactating, and 11 non pregnant and not lactating does). Three rabbits were collected in the municipality Tepalcingo (one buck, one pregnant, and one lactating does), and three rabbits were captured in Tlaltizapan (two bucks and one pregnant doe). From the rabbits captured in each municipality, the percentage of infection was 68% in Temixco, 67% in Tepalcingo, and 67% in Tlaltizapan.

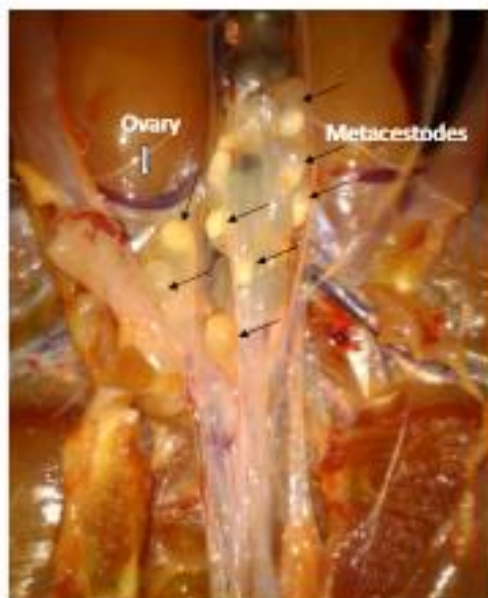
During the study, 31 rabbits were examined (21 does and 10 bucks), with 67.7% of the total animals infected by metacestodes. Eighty percent of does ( $n=17$ ) and 40% of bucks ( $n=4$ ) were infected ( $P=0.02$ ) (Fig. 1a). From the 21



**Fig. 1** Percentage of infection with *T. pisiformis* metacestodes in wild rabbits. **a** Uninfected (empty bar) or infected (full bar) buck ( $n=10$ ) and does ( $n=21$ );  $*P\leq 0.05$ , Fisher's exact test. **b** Percentage of uninfected or infected does according to the physiological stage (pregnant  $n=4$ , lactating  $n=6$ , non-pregnant and no-lactating  $n=11$ );  $***P\leq 0.001$ ,  $**P\geq 0.05$ , Fisher's exact test

does slaughtered, four were pregnant, six lactating, and 11 that were neither pregnant nor lactating. Seventy-five percent of total pregnant does, 100% of lactating, and 72% of neither pregnant nor lactating were infected with metacestodes (Fig. 1b). The percentage of infection was higher in lactating ( $P=.007$ ) and non-pregnant ( $P=0.001$ ) than in pregnant does. The comparison between lactating and non-pregnant was no significant ( $P\geq 0.05$ ) (Fig. 1b).

The anatomical location of the 279 metacestodes recovered in does and bucks was as follows: 185 (66%) were found in the peritoneum, 72 (26%) in mesentery, 21 (7.5%) in the pelvic region, and 1 (0.5%) in the thoracic cavity. In males, 39 (80%) metacestodes were found in peritoneum, 9 (18%) in mesentery, and 1 (2%) in thoracic cavity. In the does, 151 (64%) were found in the peritoneum, 63 in the mesentery (27%), and 21 (9%) in the pelvic region. In pregnant does, 15 (32.6%) were found in the peritoneum, 15 (32.6%) in the mesentery, and 16 (34.8%) in the pelvic region (Fig. 2). In lactating does, we found 21 (75%) in the peritoneum and 7



**Fig. 2** *T. pisiformis* metacestodes (arrows) in the pelvic region of a naturally infected wild rabbit

(25%) in mesentery. In non-lactating females, we found 79 (71%) in the peritoneum and 32 (29%) in mesentery. Also, in addition to the fact that the does were found infected more frequently (Fig. 1a,  $P=0.04$ ), the parasitic load in them was higher than in males. In bucks, 15.8% (44 metacestodes) were found, ranging from six to 14 per rabbit with a mean of  $4.4 \pm 1.9$ , while 84.2% (235 metacestodes) were found in does, ranging from 2 to 31 and a mean of  $11.19 \pm 2.06$  ( $P=0.02$ ).

## Discussion

The host endocrine system has an important role in the establishment and development of parasitic diseases, where the sex of an individual can result in either susceptibility or resistance. In the current work, it was observed that females are more frequently infected with *T. pisiformis* metacestodes, presenting 80% of infection ( $n=21$ ). This infection could be favored by the hormonal environment of the does as suggested by studies on parasites such as *T. crassiceps* and *Toxoplasma gondii*, which show that estrogen influences their establishment favorably (Pung and Luster 1986; Huerta et al. 1992; Morales-Montor et al. 2002).

All captured lactating females were infected with *T. pisiformis* cysticerci. The hormone prolactin, which mainly enables lactation, also participates in the regulation of immune functions against parasitic infections in rabbits (Moncomble et al. 2005). During infection with *Toxoplasma Gondii* or *Leishmania* sp., prolactin stimulates the production of antibodies and TH1 interleukins. Likewise, in humans suffering from arthritic diseases, prolactin promotes the activation of macrophages (Płociński et al. 2007). It has also been reported

that prolactin causes an increase in the susceptibility of some parasites, for example, in dairy cattle, a greater amount of prolactin makes them more susceptible to infections by *Trichostrongylidae* (Płociński et al. 2007).

Regarding cestode infections, it is known that during early stages of experimental murine cysticercosis caused by *Taenia crassiceps*, there is an initial transient Th-1 immune response that associates with a low rate of parasite reproduction, turning into a Th-2 response associated with an increment in the rate of parasite reproduction. One of the main cytokines involved in the Th-2 immune response is IL-6, a pleiotropic molecule that stimulates the release of prolactin from the anterior pituitary gland (Yamaguchi et al. 1990). To our knowledge, no studies have been reported about prolactin levels in animals parasitized with cestodes, but it is known that IL-6 is a cytokine whose levels increase with infection (Morales-Montor et al. 2001). Thus, an increment in prolactin could favor the establishment of the parasite. Resistance and susceptibility to different parasitic diseases have been associated with the predominance of Th1- or Th2-type immune responses. Th1 immune response also plays a fundamental role in protection against *Taenia crassiceps* cysticercosis, whereas Th2 favors parasite establishment, and also it is well known that vaccinated pigs show an increment in the production of Th1 cytokines (IL-2 and IFN- $\gamma$ ) but not of Th2 cytokines (IL-4 and IL-10), possibly interfering with the successful establishment of parasites (Díaz et al. 2003). Therefore, an increment in circulating prolactin could also be beneficial in the establishment of cestodes in the host, lactating animals becoming more susceptible to infection.

Hormonal environment is modulated during cestodes infection. For instance, *Taenia crassiceps* cysticercosis induces an impressive feminization process in male mice during chronic infection, characterized by increased serum estradiol levels 100 times their normal values, while seeing those of testosterone and dihydrotestosterone reduced by 85 and 95% respectively. Concomitantly, the levels of follicle-stimulating hormone and IL-6 are increased by 70 and 90 times their normal values in the infected male mice (Morales-Montor et al. 2001).

In this study, we observed that does are infected in a higher proportion than bucks (80% in does vs 40% in bucks, which is in agreement with a work done in the Iberian Peninsula in which they obtained a prevalence of 38.1% in does and 25.5% in bucks (63 does and 51 bucks) in the North, and in the South, 20% of 35 does and 11.5% in 26 bucks of wild rabbits infected by *T. pisiformis* metacestodes (Blasco et al. 1996). Our findings should be evaluated while focusing on the ability of the cestode to affect reproduction, since it has been reported that in domestic rabbits, this infection in does decreases the size of the litter to 50%, being related with an increase in progesterone levels (Hallal-Calleros et al. 2016). In our work, metacestodes of *T. pisiformis* were found near the ovary, a situation that has not been previously documented. Gemmell (1965) only

referred that the metacestodes have an affinity to lodge in the genital region but does not specify the region or if they are in does or bucks. This circumstance could affect the populations of wild rabbits, in addition diminishing the production in rabbit farms, as well as those raised in backyards.

## Conclusions

*T. pisiformis* infection is a sex-associated parasitosis. A high frequency of infection by *T. pisiformis* eggs was observed in wild rabbits, with a higher susceptibility and a higher parasite loads in does. With respect to the physiological stage, the prevalence of infection was higher in lactating does.

**Funding** This study was partially funded by Programa para el Desarrollo Profesional Docente 2016, granted to FIFP.

## Compliance with ethical standards

**Conflict of interest** The authors declare that they have no conflict of interest.

**Ethical approval** This article does not contain any studies with animals performed by any of the authors.

## References

- Bendoy M, Webster JP, Macdonald DW (2000) Fatal attraction in rats infected with *Toxoplasma gondii*. *Proc Biol Sci* 267(1452):1591–1594. <https://doi.org/10.1098/rspb.2000.1182>
- Betancourt-Alonso MA, Orihuela A, Aguirre V, Vázquez R, Flores-Pérez FI (2011) Changes in behavioural and physiological parameters associated with *Taenia pisiformis* infection in rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) that may improve early detection of sick rabbits. *World Rabbit Sci* 19(1):21–30. <https://doi.org/10.4995/wrs.2011.801>
- Blasco S, Torres J, Felín C, Casanova JC, Miquel J, Moreno S (1996) The helminthfauna of *Oryctolagus cuniculus* (Linnaeus, 1758) in the Iberian Peninsula. Faunistic and ecological considerations. *Parasite* 3(4):327–333. <https://doi.org/10.1051/parasite/1996034327>
- Bourguiba-Hachemi S, Ashkanani TK, Kadhem FI, Almawi WY, Alroughani R, Fathallah MD (2016) ZPAT gene variant association with multiple sclerosis in the Arabian Gulf population: a genetic basis for gender-associated susceptibility. *Mol Med Rep* 14(4):3543–3550. <https://doi.org/10.3892/mmr.2016.5692>
- Chang KC, Huang CL, Liang HY, Chang SS, Wang YC, Liang WM, Lane HY, Chen CH, Stephen Huang SK (2012) Gender-specific differences in susceptibility to low-dose methadone-associated QTc prolongation in patients with heroin dependence. *J Cardiovasc Electrophysiol* 23(5):527–533. <https://doi.org/10.1111/j.1540-8167.2011.02231.x>
- Choi JW, Liu H, Choi DK, Oh TS, Mukherjee R, Yan JW (2012) Profiling of gender-specific rat plasma proteins associated with susceptibility or resistance to diet-induced obesity. *J Proteome* 75(4):1386–1400. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2011.11.012>
- Díaz MA, Villalobos N, de Aluja A, Rosas G, Gómez-Conde E, Hernández P, Larralde C, Sciutto E, Fragoso G (2003) Th1 and Th2 indices of the immune response in pigs vaccinated against *Taenia solium* cysticercosis suggest various host immune strategies against the parasite. *Vet Immunol Immunopathol* 93(3–4):81–90
- Dancu D, Ebert D (2012) Host sexual dimorphism and parasite adaptation. *PLoS Biol* 10(2):e1001271. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1001271>
- Fariás-González V (2011) Conceptos ecológicos, métodos y técnicas para la conservación de conejos y liebres. Temas sobre conservación de vertebrados silvestres en México, INE-SEMARNAT pp 229–248
- Gemmell MA (1965) Immunological responses of the mammalian host against tapeworm infections. II. Species specificity of hexacanth embryos in protecting rabbits against *Taenia pisiformis*. *Immunology* 8(3):270–280
- Hallal-Calleros C, Morales-Montor J, Orihuela-Trujillo A, Tognio-Peirce C, Murcia-Mejía C, Bielli A, Hoffman-Kurt L, Flores-Pérez FI (2016) *Taenia pisiformis* cysticercosis induces decreased prolificacy and increased progesterone levels in rabbits. *Vet Parasitol* 229:50–53. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2016.09.015>
- Harris NC, Dunn RR (2013) Species loss on spatial patterns and composition of zoonotic parasites. *Proc R Soc B* 280:20131847. <https://doi.org/10.1098/rspb.2013.1847>
- Head MJ, Smith KF, Ripp KJ, Berger M, Chen J, Dittmeier J, Goter M, McGarvey ST, Ryan E (2013) The threat of disease increases as species move toward extinction. *Conserv Biol* 27(6):1378–1388. <https://doi.org/10.1111/cobi.12143>
- Hodes GE, Pflu ML, Parushothaman I, Alm HF, Golden SA, Christoffel DJ, Magida J, Brancato A, Takahashi A, Flanagan ME, Ménard C, Aleyasin H, Koo JW, Lorsch ZS, Feng J, Heshmati M, Wang M, Turocki G, Neve R, Zhang B, Shen L, Nestler EJ, Russo SJ (2015) Sex differences in nucleus accumbens transcriptome profiles associated with susceptibility versus resilience to subchronic variable stress. *J Neurosci* 35(50):16362–16376. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1392-15.2015>
- Haerta L, Terrazas LJ, Sciutto E, Larralde C (1992) Immunological mediation of gonadal effects on experimental murine cysticercosis caused by *Taenia crassiceps* metacestodes. *J Parasitol* 78(3):471–476. <https://doi.org/10.2307/3283646>
- Larralde C, Morales J, Terrazas I, Govezensky T, Romano MC (1995) Sex hormone changes induced by the parasite lead to feminization of the male host in murine *Taenia crassiceps* cysticercosis. *J Steroid Biochem Mol Biol* 52(6):575–580. [https://doi.org/10.1016/0960-0760\(95\)00062-5](https://doi.org/10.1016/0960-0760(95)00062-5)
- Moncombe AS, Coureaud G, Quemodey B, Langlois D, Perrier G, Schaal B (2005) The mammary pheromone of the rabbit: from where does it come? *Anim Behav* 69(1):29–38. <https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2004.05.006>
- Moore J (2002) Parasites and the behavior of animals. Oxford University Press
- Morales J, Velasco T, Tovar V, Fragoso G, Fleury A, Beltran C, Larralde C et al (2002) Castration and pregnancy of rural pigs significantly increase the prevalence of naturally acquired *Taenia solium* cysticercosis. *Vet Parasitol* 108(1):41–48. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(02\)00168-1](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(02)00168-1)
- Morales-Montor J, Baig S, Mitchell R, Deway K, Hallal-Calleros C, Damian RT (2001) Immunoendocrine interactions during chronic cysticercosis determine male mouse feminization: role of IL-6. *J Immunol* 167:4527–4533. <https://doi.org/10.4091/jimmunol.167.8.4527>
- Morales-Montor J, Baig S, Hallal-Calleros C, Damian RT (2002) *Taenia crassiceps*: androgen reconstitution of the host leads to protection during cysticercosis. *Exp Parasitol* 100(4):209–216. [https://doi.org/10.1016/S0014-4894\(02\)00028-0](https://doi.org/10.1016/S0014-4894(02)00028-0)
- Palmer BF, Clegg DJ (2015) The sexual dimorphism of obesity. *Mol Cell Endocrinol* 402:113–119. <https://doi.org/10.1016/j.mec.2014.11.029>
- Płociński P, Dzińko K, Dhugońska H (2007) Prolactin as a modulator of antiparasitic immunity. *Wiad Parasitol* 53(4):263–270
- Portales-Betancourt GL, Cervantes FA, Uribe MC (2010) Estudio histológico comparado del ovario de lagomorfos mexicanos



- (*Sylvilagus y Lepus*). En 60 años de la colección nacional de mamíferos del Instituto de biología, UNAM, Aportaciones al conocimiento y conservación de los mamíferos Mexicanos 60: 125–138
- Presas AMF, Valdez RA, Willms K, Romano MC (2008) The key steroidogenic enzyme 3 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase in *Taenia solium* and *Taenia crassiceps* (WFU). Parasitol Res 103:847–852. <https://doi.org/10.1007/s00436-008-1066-5>
- Pang OJ, Luster MI (1986) *Toxoplasma gondii*: decreased resistance to infection in mice due to estrogen. Exp Parasitol 61:48–56. [https://doi.org/10.1016/0014-4894\(86\)90134-7](https://doi.org/10.1016/0014-4894(86)90134-7)
- Quinn M, Ramamoorthy S, Cidlowski JA (2014) Sexually dimorphic actions of glucocorticoids: beyond chromosomes and sex hormones. Ann N Y Acad Sci 1317:1–6. <https://doi.org/10.1111/nyas.12425>
- Rigby N, Kulathinal RJ (2015) Genetic architecture of sexual dimorphism in humans. J Cell Physiol 230(10):2304–2310. <https://doi.org/10.1002/jcp.24379>
- Yamaguchi M, Matsuzaki N, Hirota K, Miyake A, Tamizawa O (1990) Interleukin 6 possibly induced by interleukin 1 $\beta$  in the pituitary gland stimulates the release of gonadotropins and prolactin. Acta Endocrinol 122(2):201–205. <https://doi.org/10.1530/acta.0.1220201>
- Yang D, Fu Y, Wu X, Xie Y, Nie H, Chen L, Nong X, Gu X, Wang S, Peng X, Yan N, Zhang R, Zheng W, Yan G (2012) Annotation of the transcriptome from *Taenia pisiformis* and its comparative analysis with three Taeniidae species. PLoS One 7(4):e32283. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0032283>
- Zamora-Huerta VX, Villaseñor-Gaona H, Anzaldúa-Arce SR, Pérez-Martínez M (2005) Reduction of total lymphocyte migration to the uterus during the first day of pregnancy and pseudopregnancy of the rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). Rev Vet Méx 36(1):63–73



*"2019, a 100 años del asesinato del General Emiliano Zapata Salazar"*


Cuernavaca, Mor., a 10 de junio de 2019.

**M. en C. JOSÉ EDUARDO BAUTISTA RODRÍGUEZ**  
**DIRECTOR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS**  
**AGROPECUARIAS Y DESARROLLO RURAL**  
**P R E S E N T E.**

Por medio del presente informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis titulado: **Aspectos de dimorfismo sexual, reproductivos e histológicos asociados a la teniosis (*Taenia pisiformis*) cisticercosis en dos especies de lagomorfos y en el hámster dorado** que presenta: **ROSA DOMINGUEZ ROLDAN**, mismo que fue desarrollado bajo mi Co-dirección con la **DRA. CLAUDIA HALLAL CALLEROS** y que servirá como requisito parcial para obtener el grado de **Doctor en Ciencias Agropecuarias y Desarrollo Rural**, lo encuentro satisfactorio, por lo que emito mi **VOTO DE APROBACIÓN** para que la alumna continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento y agradeciendo de antemano su valiosa colaboración, quedo de usted.

Atentamente  
*Por una humanidad culta*  
*Una universidad de excelencia*



**DR. FERNANDO IVÁN FLORES PÉREZ**  
Comité Evaluador

C.i.p. Archivo

Av. Universidad 1001 Col. Chamilpa, Cuernavaca Morelos, México, 62209.  
Tel. (777) 329 70 46, 329 70 00, Ext. 3211 / fagropecuarias@uaem.mx

**UA  
EM**

*Una universidad de excelencia*

RECTORÍA  
2017-2023



*"2019, a 100 años del asesinato del General Emiliano Zapata Salazar"*

Cuernavaca, Mor., a 10 de junio de 2019.

**M. en C. JOSÉ EDUARDO BAUTISTA RODRÍGUEZ**  
**DIRECTOR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS**  
**AGROPECUARIAS Y DESARROLLO RURAL**  
**P R E S E N T E.**

Por medio del presente informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis titulado: **Aspectos de dimorfismo sexual, reproductivos e histológicos asociados a la teniosis (*Taenia pisiformis*) cisticercosis en dos especies de lagomorfos y en el hámster dorado** que presenta: **ROSA DOMINGUEZ ROLDAN**, mismo que fue desarrollado bajo la Co-dirección del **DR. FERNÁNDO IVÁN FLORES PÉREZ**, con la **DRA. CLAUDIA HALLAL CALLEROS**, y que servirá como requisito parcial para obtener el grado de **Doctor en Ciencias Agropecuarias y Desarrollo Rural**, lo encuentro satisfactorio, por lo que emito mi **VOTO DE APROBACIÓN** para que el alumno continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento y agradeciendo de antemano su valiosa colaboración, quedo de usted.

Atentamente  
**Por una humanidad culta**  
*Una universidad de excelencia*



**DR. JOSÉ AGUSTÍN ORIHUELA TRUJILLO**  
Comité Evaluador



"2019, a 100 años del asesinato del General Emiliano Zapata Salazar"

Cuernavaca, Mor., a 10 de junio de 2019.

**M. en C. JOSÉ EDUARDO BAUTISTA RODRÍGUEZ**  
**DIRECTOR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS**  
**AGROPECUARIAS Y DESARROLLO RURAL**  
**P R E S E N T E.**

Por medio del presente informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis titulado: **Aspectos de dimorfismo sexual, reproductivos e histológicos asociados a la teniosis (*Taenia pisiformis*) cisticercosis en dos especies de lagomorfos y en el hámster dorado** que presenta: **ROSA DOMINGUEZ ROLDAN**, mismo que fue desarrollado bajo la Co-dirección del **DR. FERNÁNDO IVÁN FLORES PÉREZ** con la **DRA. CLAUDIA HALLAL CALLEROS**, y que servirá como requisito parcial para obtener el grado de **Doctor en Ciencias Agropecuarias y Desarrollo Rural**, lo encuentro satisfactorio, por lo que emito mi **VOTO DE APROBACIÓN** para que el alumno continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento y agradeciendo de antemano su valiosa colaboración, quedo de usted.

Atentamente  
**Por una humanidad culta**  
*Una universidad de excelencia*



**DR. VIRGINIO AGUIRRE FLORES**  
Comité Evaluador

C.i.p. Archivo



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

Jefatura de programas educativos de posgrado



"2019, a 100 años del asesinato del General Emiliano Zapata Salazar"

Cuernavaca, Mor., a 10 de junio de 2019.

**M. en C. JOSÉ EDUARDO BAUTISTA RODRÍGUEZ**  
**DIRECTOR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS**  
**AGROPECUARIAS Y DESARROLLO RURAL**  
**P R E S E N T E.**

Por medio del presente informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis titulado: **Aspectos de dimorfismo sexual, reproductivos e histológicos asociados a la teniosis (*Taenia pisiformis*) cisticercosis en dos especies de lagomorfos y en el hámster dorado** que presenta: **ROSA DOMINGUEZ ROLDAN**, mismo que fue desarrollado bajo la Co-dirección del **DR. FERNÁNDO IVÁN FLORES PÉREZ**, con la **DRA. CLAUDIA HALLAL CALLEROS**, y que servirá como requisito parcial para obtener el grado de **Doctor en Ciencias Agropecuarias y Desarrollo Rural**, lo encuentro satisfactorio, por lo que emito mi **VOTO DE APROBACIÓN** para que el alumno continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento y agradeciendo de antemano su valiosa colaboración, quedo de usted.

Atentamente  
*Por una humanidad culta*  
*Una universidad de excelencia*

**DR. GUADALUPE PEÑA CHORA**  
**Comité Evaluador**

C.i.p. Archivo



"2019, a 100 años del asesinato del General Emiliano Zapata Salazar"

Cuernavaca, Mor., a 10 de junio de 2019.

**M. en C. JOSÉ EDUARDO BAUTISTA RODRÍGUEZ**  
**DIRECTOR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS**  
**AGROPECUARIAS Y DESARROLLO RURAL**  
**P R E S E N T E.**

Por medio del presente informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis titulado: **Aspectos de dimorfismo sexual, reproductivos e histológicos asociados a la teniosis (*Taenia pisiformis*) cisticercosis en dos especies de lagomorfos y en el hámster dorado** que presenta: **ROSA DOMINGUEZ ROLDAN**, mismo que fue desarrollado bajo la Co-dirección del **DR. FERNÁNDO IVÁN FLORES PÉREZ**, con la **DRA. CLAUDIA HALLAL CALLEROS**, y que servirá como requisito parcial para obtener el grado de **Doctor en Ciencias Agropecuarias y Desarrollo Rural**, lo encuentro satisfactorio, por lo que emito mi **VOTO DE APROBACIÓN** para que el alumno continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento y agradeciendo de antemano su valiosa colaboración, quedo de usted.

Atentamente  
*Por una humanidad culta*  
*Una universidad de excelencia*



**DR. MARIO PÉREZ MARTÍNEZ**  
Comité Evaluador

C.i.p. Archivo



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

Jefatura de programas educativos de posgrado



"2019, a 100 años del asesinato del General Emiliano Zapata Salazar"

Cuernavaca, Mor., a 10 de junio de 2019.

**M. en C. JOSÉ EDUARDO BAUTISTA RODRÍGUEZ**  
**DIRECTOR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS**  
**AGROPECUARIAS Y DESARROLLO RURAL**  
**P R E S E N T E.**

Por medio del presente informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis titulado: **Aspectos de dimorfismo sexual, reproductivos e histológicos asociados a la teniosis (*Taenia pisiformis*) cisticercosis en dos especies de lagomorfos y en el hámster dorado** que presenta: **ROSA DOMINGUEZ ROLDAN**, mismo que fue desarrollado bajo la Co-dirección del **DR. FERNÁNDO IVÁN FLORES PÉREZ**, con la **DRA. CLAUDIA HALLAL CALLEROS**, y que servirá como requisito parcial para obtener el grado de **Doctor en Ciencias Agropecuarias y Desarrollo Rural**, lo encuentro satisfactorio, por lo que emito mi **VOTO DE APROBACIÓN** para que el alumno continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento y agradeciendo de antemano su valiosa colaboración, quedo de usted.

Atentamente  
***Por una humanidad culta***  
*Una universidad de excelencia*

**DRA. EDDA LYDIA SCIUTTO CONDE**  
**Comité Evaluador**

C.i.p. Archivo

Av. Universidad 1001 Col. Chamilpa, Cuernavaca Morelos, México, 62209.  
Tel. (777) 329 70 46, 329 70 00, Ext. 3211 / fagropecuarias@uaem.mx

**UA  
EM**

*Una universidad de excelencia*

RECTORÍA  
2017-2023



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

Jefatura de programas educativos de posgrado



"2019, a 100 años del asesinato del General Emiliano Zapata Salazar"

Cuernavaca, Mor., a 10 de junio de 2019.

**M. en C. JOSÉ EDUARDO BAUTISTA RODRÍGUEZ**  
**DIRECTOR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS**  
**AGROPECUARIAS Y DESARROLLO RURAL**  
**P R E S E N T E.**

Por medio del presente informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis titulado: **Aspectos de dimorfismo sexual, reproductivos e histológicos asociados a la teniosis (*Taenia pisiformis*) cisticercosis en dos especies de lagomorfos y en el hámster dorado** que presenta: **ROSA DOMINGUEZ ROLDAN**, mismo que fue desarrollado bajo la Co-dirección del **DR. FERNÁNDO IVÁN FLORES PÉREZ**, con la **DRA. CLAUDIA HALLAL CALLEROS**, y que servirá como requisito parcial para obtener el grado de **Doctor en Ciencias Agropecuarias y Desarrollo Rural**, lo encuentro satisfactorio, por lo que emito mi **VOTO DE APROBACIÓN** para que el alumno continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento y agradeciendo de antemano su valiosa colaboración, quedo de usted.

Atentamente  
**Por una humanidad culta**  
*Una universidad de excelencia*

  
**DR. GERMAN BERNAL FERNÁNDEZ**  
Comité Evaluador

C.i.p. Archivo

Av. Universidad 1001 Col. Chamilpa, Cuernavaca Morelos, México, 62209.  
Tel. (777) 329 70 46, 329 70 00, Ext. 3211 / fagropecuarias@uaem.mx

**UA  
EM**

*Una universidad de excelencia*

RECTORIA  
2017-2023