



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS**

---

---

**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**

**POSGRADO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y  
DESARROLLO RURAL**

**EFFECTO DE LA INFECCIÓN EXPERIMENTAL CON HUEVOS DE *Taenia  
pisiformis* SOBRE PARÁMETROS CONDUCTUALES, FISIOLÓGICOS Y  
PRODUCTIVOS EN CONEJOS OBESOS**

**TESIS**

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

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

**M. C. DAVID ARIAS HERNÁNDEZ**

**DIRECTOR DE TESIS:**

**DR. FERNANDO IVÁN FLORES PÉREZ**

**CO-DIRECTOR DE TESIS:**

**DRA. CLAUDIA HALLAL CALLEROS**



FACULTAD DE CIENCIAS  
AGROPECUARIAS

**CUERNAVACA MOR. OCTUBRE DE 2019**

**Efecto de la infección experimental con huevos de *Taenia pisiformis* sobre parámetros conductuales, fisiológicos y productivos en conejos obesos**

Tesis realizada por David Arias Hernández bajo la dirección del comité revisor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito para obtener el título de:

DOCTOR EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y DESARROLLO RURAL

**COMITÉ REVISOR**

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

Dr. Fernando Iván Flores Pérez

Co-directora de tesis: \_\_\_\_\_

Dra. Claudia Hallal Calleros

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

Dr. Agustín Orihuela Trujillo

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

Dr. Virginio Aguirre Flores

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

Dra. Mariana Pedernera Romano

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

Dr. Mario Pérez Martínez

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

Dra. Natividad Sara C García Jiménez

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

Dr. Rubén Ramírez Aquino

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad Autónoma del estado de Morelos.

A la Facultad de Ciencias Agropecuarias.

Especialmente a los maestros por la formación obtenida.

A mis asesores Dr. Iván Flores Pérez y Claudia Hallal Calleros con respeto y admiración, por el apoyo y tiempo otorgado durante los 4 años de mi formación para así concluir este gran logro.

Al jurado revisor del presente trabajo: Dr. Agustín Orihuela Trujillo, Dr. Virginio Aguirre Flores, Dr. Mariana Pedernera Romano, Dr. Mario Pérez Martínez, Dra. Sara García Jiménez y Dr. Rubén Ramírez Aquino, por el tiempo dedicado a la revisión de mi tesis y sus valiosos comentarios encaminados a mejorar el producto final ¡muchas gracias!

Al Dr. Xavier Manteca Vilanova, al Dr. Pol Llonch Obiols y a la Dra. Eva Mainau Brunso de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Autónoma de Barcelona por permitirme la estancia de movilidad en la que pude conocer diferentes perspectivas en la investigación de la conducta y fisiología animal.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca 492304 otorgada durante la realización de mis estudios.

## **DEDICATORIA**

A mi madre Guadalupe y hermanos: Diego, Marisol y Armando.

A Isy y a mis amigos parlantes

## ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS.....	III
ÍNDICE DE CUADROS.....	V
ÍNDICE DE ANEXOS.....	V
RESUMEN.....	VI
ABSTRACT.....	VIII
INTRODUCCIÓN.....	1
HIPÓTESIS.....	6
OBJETIVO GENERAL.....	6
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	6
MATERIAL Y MÉTODOS.....	8
Primera fase o fase previa a la infección.....	8
Animales y alimentación.....	8
Segunda fase o fase post infección.....	9
Infección.....	9
Parámetros productivos .....	9
Peso corporal .....	9
Medidas zoométricas.....	10
Pruebas conductuales .....	10
Prueba de campo abierto .....	10
Conducta sexual.....	10
Espermatobioscopía .....	11
Parámetros fisiológicos.....	11
Glucosa sanguínea .....	11
Biometría hemática .....	12
Serología.....	12
Necropsia.....	12
Carga parasitaria.....	13
Obtención de tejidos.....	13
Análisis estadístico.....	13

RESULTADOS.....	14
Resultados de la fase de pre infección.....	14
Efecto de la dieta sobre el peso corporal.....	14
Efecto del peso sobre las conductas evaluadas en la prueba de campo abierta.....	14
Resultados de la fase de la post infección.....	16
Efecto de la infección de <i>T. pisiformis</i> sobre el peso y medidas zoométricas en conejos obesos.....	16
Cambios inducidos por la infección con huevos de <i>T. pisiformis</i> sobre la conducta en Conejos obesos.....	18
Disminución de la conducta sexual en conejos obesos infectados con huevos de <i>T. Pisiformis</i> .....	24
Evaluación seminal en conejos obesos infectados con huevos de <i>T. pisiformis</i> .....	24
Monitoreo de glucosa sanguínea durante la infección con <i>T. pisiformis</i> .....	26
Efecto de la infección con <i>T. pisiformis</i> sobre parámetros séricos en conejos obeso.....	26
Efecto de la infección crónica de <i>T. pisiformis</i> sobre el cortisol en conejos obesos .....	28
Cambios en el peso hepático, testicular y en las glándulas submandibulares asociadas a la infección por <i>T. pisiformis</i> en conejos obesos.....	28
Efecto de la infección con huevos de <i>T. pisiformis</i> sobre la redistribución de tejido graso en conejos obesos.....	31
Número de metacéstodos y granulomas de conejos infectados con huevos de <i>T. pisiformis</i> .....	33
DISCUSIÓN.....	34
CONCLUSIONES.....	43
REFERENCIAS.....	44

## ÍNDICE DE FIGURAS

<p><b>Figura 1. Peso corporal.</b> Conejos alimentados con una dieta alta en grasa durante 56 días; media±EE, ***P≤0.001, ****P≤0.0001; prueba de T. NP=normopeso; OB=obesos.....</p>	14
<p><b>Figura 2. Prueba de campo abierto.</b> a) Actividad locomotora, b) Actividad exploratoria, c) Chinning de conejos alimentados con una dieta alta en grasa durante 56 días. Media±EE, *P≤0.05, **P≤0.01, ***P≤0.001, ****P≤0.0001; prueba de T. NP=normopeso; OB=obesos.....</p>	15
<p><b>Figura 3. Peso, IMC y el índice zoométrico.</b> Peso corporal (a), índice de masa corporal (b) e índice zoométrico(c) de conejos infectados con huevos de <i>T. pisiformis</i> durante 56 días. NP vs NP<sub>i</sub> y OB vs OB<sub>i</sub>; media±EE; *P≤0.05, **P≤0.01, ***P≤0.001, ****P≤0.0001; prueba de ANOVA de dos vías. NP= testigo; NP<sub>i</sub>= normopeso infectado; OB= obeso; OB<sub>i</sub>= obeso infectado.....</p>	17
<p><b>Figura 4. Actividad locomotora.</b> Análisis del total de la actividad locomotora durante 56 días post-infección (a), media±EE, **P≤0.01, ***P≤0.001, ****P≤0.0001); prueba de ANOVA. Actividad locomotora a través de 56 días post-infección, en conejos normopeso (b), y en conejos obesos (c); media±EE, *P≤0.05, **P≤0.01, ***P≤0.001); prueba de ANOVA de dos vías. NP= testigo; NP<sub>i</sub>= normopeso infectado; OB= obeso; OB<sub>i</sub>= obeso infectado.....</p>	19
<p><b>Figura 5. Actividad exploratoria.</b> Análisis del total de número de parados durante 56 días post-infección (a), media±EE, **P≤0.01, ***P≤0.001, ****P≤0.0001; prueba de ANOVA. Actividad exploratoria a través de 56 días post-infección en conejos normopeso (b) y en conejos obesos (c); media±EE, *P≤0.05, ***P≤0.001); prueba de ANOVA de medidas repetidas de dos vías. NP= testigo; NP<sub>i</sub>= normopeso infectado; OB= obeso; OB<sub>i</sub>= obeso infectado.....</p>	21
<p><b>Figura 6. Conducta de <i>chinning</i>.</b> Análisis del total de marcas durante 56 días post-infección (a), media±EE, *P≤0.05, ** P≤0.01, prueba de ANOVA. Actividad locomotora a través de 56 días post-infección en conejos normopeso (b) y obesos</p>	

(c); media±EE, \*P≤0.05, \*\*P≤0.01, \*\*\*P≤0.001, \*\*\*\*P≤0.0001; prueba de ANOVA de dos vías. NP= testigo; NPi= normopeso infectado; OB= obeso; OBi= obeso infectado..... 23

**Figura 7. Conducta sexual total en conejos obesos infectados con huevos de *T. pisiformis* durante 56 días.** Tiempo de reacción (a), intentos de monta (b) periodo de latencia (c) y número de eyaculados (d); media±EE, \*P≤0.05, \*\*P≤0.01, \*\*\*P≤0.001); a-c, prueba de Kruskal-Wallis y d, prueba de ANOVA. NP= testigo; NPi= normopeso infectado; OB= obeso; OBi= obeso infectado..... 25

**Figura 8. Glucosa.** Glucosa sanguínea de conejos infectados con huevos de *T. pisiformis* a través de 56 días post infección; media±EE, prueba de ANOVA de medidas repetidas dos vías. \*P≤0.05. NP= testigo; NPi= normopeso infectado; OB= obeso; OBi= obeso infectado..... 26

**Figura 9. Cortisol sérico.** Niveles de cortisol de conejos infectados con huevos de *T. pisiformis* al día 56 post infección; media±EE, P<0.05; prueba de ANOVA. NP= testigo; NPi= normopeso infectado; OB= obeso; OBi= obeso infectado..... 28

**Figura 10. Peso de hígado, testículos y de glándulas submandibulares.** Peso del hígado (a), testículo derecho (b), testículo izquierdo (c) y glándulas submandibulares derecha (d) e izquierda (e) de conejos infectados con huevos de *T. pisiformis* durante 56 días; media±EE; \*P≤0.05, \*\*P≤0.01, \*\*\*P≤0.001, \*\*\*\*P≤0.0001; prueba de ANOVA. NP= testigo; NPi= normopeso infectado; OB= obeso; OBi= obeso infectado..... 30

**Figura 11. Distribución de la grasa corporal.** Peso de la grasa total (a), grasa supra-escapular (b), mesentérica (c), peri-renal (d) y peri-testicular (e); media±EE; \*P≤0.05, \*\*P≤0.01, \*\*\*P≤0.001 \*\*\*\*P≤0.0001; prueba de ANOVA. NP= testigo; NPi= normopeso infectado; OB= obeso; OBi= obeso infectado..... 32

**Figura 12. Número de metacéstodos (a) y granulomas (b)** encontrados a la necropsia en conejos infectados con huevos de *T. pisiformis* a los 56 días post infección; media±EE; \*P≤0.05; prueba de T. NPi= normopeso infectado; OBi= obeso infectado..... 33



## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro 1. Espermatobioscopía.</b> Evaluación seminal de parámetros obtenidos del total de eyaculados de conejos infectados con huevos de <i>T. pisiformis</i> durante 56 días.....	25
<b>Cuadro 2.</b> Hemograma, enzimas hepáticas y perfil lipídico de conejos infectados con huevos de <i>T. pisiformis</i> a los 56 días post infección.....	27

## ANEXOS

<b>Artículo 1.</b> Influence of the interaction between cysticercosis and obesity on rabbit behavior and productive parameters (Veterinary Parasitology 2019).....	52
<b>Artículo 2.</b> Metabolic changes during the host-parasite interaction between obese male rabbits and <i>Taenia pisiformis</i> metacestode (sometido a publicación).....	81
<b>Artículo 3.</b> High frequency of <i>Taenia pisiformis</i> metacestodes and high sex-associated susceptibility to cysticercosis in naturally infected wild rabbits. <i>Parasitol Res.</i> 117, 2201.....	83

## RESUMEN

La parasitosis por *Taenia pisiformis* es muy frecuente en conejos, causando importantes pérdidas económicas en condiciones de granja. Los parásitos inducen cambios de comportamiento en el huésped y la obesidad es un problema de salud que afecta a diferentes especies animales. En relación con la interacción obesidad y parásitos, los parásitos afectan el metabolismo de sus hospederos, específicamente el metabolismo energético. Los conejos no escapan de los trastornos metabólicos, ya que son animales de larga vida, útiles en la cría, investigación y como animales de compañía. Aquí, abordamos la interacción entre la parasitosis y la obesidad, y estudiamos cómo estas afecciones y la comorbilidad afectan parámetros de comportamiento, fisiológicos y productivos en conejos machos. Encontramos que la infección crónica disminuye el peso corporal, el índice de masa corporal y el índice zoométrico en conejos normopeso infectados (NPi) y en obesos infectados (OBi). La infección redujo la actividad locomotora en un 18.5% en los grupos NPi y un 47% en el grupo OBi, mientras que la obesidad disminuyó un 28.5% en el grupo obeso (OB) ( $P \leq 0.01$ ). La actividad exploratoria se redujo en un 48% en los OB, 68% en NPi y 42% en OBi ( $P \leq 0.001$ ). El *chinning* disminuyó 25% en los grupos NPi y OBi. Los parámetros de conducta sexual como el tiempo de reacción y latencia de montas aumentaron por la infección en NPi y OBi, mientras que los intentos de monta redujeron en un 23% en OBi, y el número de eyaculados disminuyó 42% en NPi, un 47% en OBi y 24% en OB ( $P \leq 0.05$ ). La infección aumentó 23% los eosinófilos en NPi y un 22% a los neutrófilos en OBi ( $P \leq 0.05$ ). El colesterol disminuyó un 13% en NPi y el 10% en OBi ( $P \leq 0.05$ ), mientras que los niveles de triglicéridos y VLDL aumentaron en un 23% y 45% en los OB ( $P \leq 0.05$ ). La infección aumentó los niveles séricos de cortisol en NPi ( $P \leq 0.05$ ). El peso del hígado fue 20% mayor en OB y OBi ( $P \leq 0.05$ ). El peso testicular fue un 46% mayor en OBi ( $P \leq 0.0001$ ). La infección redujo el peso de las glándulas submandibulares en los grupos NPi y OBi ( $P \leq 0.05$ ). La grasa corporal aumentó un 120% en OBi, 100% en OB y un 50% en NPi ( $P \leq 0.01$ ). Además, se encontraron un mayor número de metacéstodos en OBi (86% más) y redujo la formación de granulomas hepáticos comparado con NPi. En conclusión, la infección con *T. pisiformis* en animales obesos tiene un impacto en la conducta sexual, sobre algunos parámetros fisiológicos y

productivos, y la obesidad aumenta el impacto causado por la infección. Además, la obesidad conduce a una mayor susceptibilidad que facilita el desarrollo de metacéstodos de *T. pisiformis* en conejos.

**Palabras clave:** Infección; *Taenia pisiformis*; obesidad; comportamiento animal; parámetros fisiológicos.

## ABSTRACT

Parasitosis by *Taenia pisiformis* is very frequent in rabbits, causing important economic losses in farm conditions. Parasites induce behavioral changes in the host and obesity is a health problem affecting different animal species. In relation to the interaction obesity and parasites, the parasites affect the metabolism of their hosts, specifically the energy metabolism. Rabbits do not escape from metabolic disorders, being long-live animals useful in breeding, research and companion animals. Here, we addressed the interaction between parasitosis and obesity, and studied how these conditions or the comorbidity affect behavioral, physiology and productive parameters in buck rabbits. We found that the chronic infection decreases body weight, body mass index and the zoometric index in normal weight infected (NPi) and obese infected (OBi) rabbits. The infection reduced locomotor activity by 18.5% in NPi and 47% in OBi group, while obesity decreased by 28.5% in obese group (OB) ( $P \leq 0.01$ ). The exploratory activity reduced by 48% in NPi, 68% in OBi and 42% in OB ( $P \leq 0.001$ ). Chinning decreased by 25% in NPi and OBi. The parameters of sexual behavior like the reaction time and the mount latency increase by infection in NPi and OBi groups ( $P \leq 0.05$ ), while the mounting attempts reduced by 23% in OBi, and number of ejaculates decreased by 42% in NPi, 47% in OBi and 24% in OB groups ( $P \leq 0.05$ ). The infection increased by 23% the eosinophils in NPi and 22% the neutrophils in OBi ( $P \leq 0.05$ ). The cholesterol decreased by 13% in NPi and 10% in OBi ( $P \leq 0.05$ ), while triglycerides and VLDL levels were increased by 23% and 45% in OB ( $P \leq 0.05$ ). The infection increased serum cortisol levels only in NPi ( $P \leq 0.05$ ). Liver weight was 20% heavier in OB and OBi rabbits ( $P \leq 0.05$ ). Testicular weight was 46% heavier in OBi ( $P \leq 0.0001$ ). The infection reduced the weight of the submandibular glands in NPi and OBi groups ( $P \leq 0.05$ ). Body fat increased by 120% in OBi, 100% in OB and 50% in NPi ( $P \leq 0.01$ ). In addition, a greater number of metacestodes were found in OBi (86% more) and reduced the formation of hepatic granulomas compared to NPi. In conclusion, infection with *T. pisiformis* in obese animals have an impact on sexual behavior, some physiological and productive parameters, and obesity increase the impact caused by the infection. Also, obesity leads to major susceptibility facilitating the development of *T. pisiformis* metacestodes in rabbits.

**Keywords:** Infection; *Taenia pisiformis*; Obesity; Animal behavior; physiological parameters.

## INTRODUCCIÓN

El conejo es una especie animal productiva con características distintivas como su elevado índice de prolificidad, su intervalo generacional corto, rápido crecimiento, además de su diversidad genética y la habilidad para utilizar forrajes (Cheeke, 1986), también es utilizado como animal de experimentación en la investigación biomédica (Ficher *et al.*, 2012) y como animal de compañía, lo que incrementa su susceptibilidad al desarrollo de enfermedades no solo infecciosas, sino también metabólicas como la obesidad (Sweet *et al.*, 2013). Los conejos presentan particularidades como son la ovulación inducida y la cecotrofia (Morisse y Maurice, 1994).

La madurez sexual en conejos es entre los 4.5 y 6 meses de edad, dependiendo de la raza. La actividad reproductiva se manifiesta con el incremento de hormonas sexuales que ejercen efectos sobre las conductas sexuales. La exposición del macho a hembras receptivas permite la cópula *ad libitum* periodo en el cual el macho realiza montas, eyaculación e intromisión hasta que alcanza la saciedad sexual (Jiménez *et al.*, 2012). El comportamiento sexual en los machos consiste en la ejecución de una monta que es seguida por una serie de movimientos pélvicos con una frecuencia de 12 / s contra la grupa de la hembra con 1 a 2 s de duración (Contreras y Beyer, 1979), en los que se produce la intromisión y la eyaculación (Beyer *et al.*, 1980).

El conejo es susceptible a infecciones por diferentes agentes patógenos como bacterias, virus, protozoarios, parásitos entre otros. Así mismo, los parásitos son capaces de afectar diversas funciones de los hospederos como la conducta, reproducción, metabolismo y respuesta inmunitaria. Dentro de las parasitosis que afectan a los conejos están las coccidias, ácaros y helmintos. En conejos, *Taenia pisiformis* (*T. pisiformis*) es el céstodo más común (Yang *et al.*, 2012). El ciclo biológico involucra al perro o zorro como portadores de la etapa adulta y al conejo o liebre como hospedero de la etapa larvaria (Pritt *et al.*, 2012). La oncósfera se aloja en el hígado y promueve la formación de granulomas (Flatt y Moses, 1975).

En conejos, los sucesos hormonales ocurridos durante las distintas etapas fisiológicas influyen en la estructura y la fisiología de los órganos reproductivos, además en las interacciones sociales de esta especie y sobre diferentes conductas. El *chinning* es una conducta en la que los animales frota sus barbillas contra objetos y congéneres, depositando así sustancias odoríferas producidas por la glándula submandibular y es llevada a cabo por machos y hembras, tanto silvestres como domésticos, además se presenta dimorfismo ya que los machos la realizan con mayor frecuencia y tienen glándulas submandibulares de mayor tamaño. La frecuencia de *chinning* y el tamaño de la glándula se han correlacionado con el rango social, y se ha observado que las glándulas son más grandes y más activas durante la reproducción (Mykytowycz, 1962, 1965; González-Mariscal *et al.*, 1990, 1993).

Los cambios conductuales inducidos por parásitos se han considerado como una estrategia que favorece la continuidad del ciclo parasitario (Klein, 2003), además de ser una herramienta que puede ayudar a la detección de los parásitos, con la ventaja de que los cambios conductuales son previos a los signos clínicos de la infección (Weary *et al.*, 2009). Se ha propuesto que las diferencias conductuales en los conejos parasitados pueden ser empleadas en la orientación diagnóstica temprana de las infecciones por parásitos (Betancourt-Alonso *et al.*, 2011). Estudios en conejos permiten concluir que en la cisticercosis por *T. pisiformis* los animales presentan mayores periodos echados y pasan menos tiempo en los bebederos en comparación con los animales sanos (Betancourt-Alonso *et al.*, 2011). Además, En las hembras infectadas con metacéstodos de *T. pisiformis* de la raza nueva Zelanda se observó una disminución del 40% en el tamaño de las camadas (Hallal-Calleros *et al.*, 2016) y, por otra parte, la infección presenta dimorfismo sexual ya que se observaron en conejos silvestres mayor número de metacéstodos en hembras y en particular en hembras lactantes (Domínguez-Roldan *et al.*, 2018).

La monta del macho y los movimientos pélvicos estimula los flancos y el dorso de la hembra causando la adopción de la postura de lordosis, que en las hembras es una conducta sexual característica del estro (Rowley y Mollison, 1985), la cual es facilitada

por el estradiol de los folículos ováricos e inhibidos por la progesterona. Por otro lado, la cópula inhibe o reduce la frecuencia de marcaje por frotamiento del mentón (*chinning*), tanto en machos como en hembras (González-Mariscal *et al.*, 1997). En conejos infestados experimentalmente con *Psoroptes cuniculi* (*P. cuniculi*) disminuyó la frecuencia de la conducta de *chinning* y la actividad locomotora (Hallal-Calleros *et al.*, 2013). En el caso del ratón BALB/c, cuando se infecta con metacéstodos de *Taenia crassiceps* (*T. crassiceps*) hay modificaciones en la conducta sexual del macho que implican incluso trastornos en la eyaculación, estos animales sufren un proceso de feminización debido a cambios hormonales experimentados durante la infección (Morales *et al.*, 1996). Así mismo, ratones machos infectados, adoptan con mayor frecuencia una conducta de subordinación y presentan modificaciones en su comportamiento territorial y en agresividad (Larralde *et al.*, 1995). En el caso de céstodos, en animales del sexo masculino infectados con *T. crassiceps* un número significativo de macrófagos fueron encontrados en el espacio luminal y en los túbulos seminíferos. Además, se identificaron anomalías morfológicas y apoptosis en las células de Sertoli, Leydig y germinales (Zepeda *et al.*, 2011).

La obesidad está definida como la acumulación excesiva de tejido adiposo en el cuerpo y es una forma de malnutrición vista en animales domésticos como perros, gatos y conejos, entre otros (German, 2006). Los animales que tienen más del 20% sobre su peso ideal se consideran obesos (Mawby *et al.*, 2004); para el conejo, se ha propuesto un criterio zoométrico para estimar la cantidad de tejido adiposo (Sweet *et al.*, 2013). La obesidad está asociada a un grado de inflamación crónica en la que están presentes citocinas pro inflamatorias como FNT  $\alpha$ , IL-6 y CCL2, células inflamatorias como los linfocitos y los macrófagos que, en conjunto, favorecen el desarrollo del síndrome metabólico (Olefsky y Klass, 2010).

En producción animal, la condición corporal se refiere a la cantidad de músculo y grasa que rodea el cuerpo, y es un criterio para eliminar del hato a machos y hembras, sobre todo antes del inicio de un empadre (Cardinali *et al.*, 2007). Además, conejos que son animales de compañía pueden desarrollar obesidad, como ocurre en otras especies, ya



que tienen una rutina de vida sedentaria y son alimentados a libre acceso (Sweet *et al.*, 2013).

Las dietas con elevada cantidad energética o altas en grasa conducen a la obesidad y a resistencia a la insulina, en conejos, lo que posteriormente deriva en daños cardiovasculares y renales (Antic *et al.*, 1999; Zhao *et al.*, 2007). Experimentalmente, conejos adultos alimentados *ad libitum* con dietas altas en grasas, son inducidos a la obesidad rápidamente, al incrementar los depósitos de grasa visceral y promover cambios hemodinámicos y neuro hormonales similares a los que se presentan en la obesidad humana (Antic *et al.*, 1999; Zhao *et al.*, 2007). El aumento del tejido adiposo visceral se asocia a la intolerancia a la glucosa y a la resistencia a la insulina, que se correlaciona con los triglicéridos hepáticos (Korenblat *et al.*, 2008). En conejos que se alimentaron con una dieta obesogénica, por un periodo de 12 semanas se incrementó el peso corporal, tamaño del hígado y la grasa visceral, alteraciones que originaron cambios histométricos a nivel hepático y testicular (Mejía *et al.*, 2015).

Los cambios de comportamiento en la obesidad no están completamente entendidos. Sin embargo, en la conducta sexual de conejo machos con mayor peso se registró una disminución de la libido y un incremento en el tiempo que transcurre entre eyaculaciones (Rodríguez-De Lara *et al.*, 2015). En ratas inducidas a obesidad, con una dieta de cafetería, se redujo el número de ooquistes y de folículos preantrales, además se alteró la histoarquitectura de la capa folicular, y no se detectaron hormona luteinizante ni progesterona en la etapa preovulatoria (Sagae *et al.*, 2012), lo que confirma los posibles efectos de la obesidad a nivel conductual, reproductivo y hormonal.

En relación a la interacción obesidad y parásitos, los parásitos afectan el metabolismo de sus hospederos, específicamente el metabolismo energético, una condición que se ha visto con interés porque representa una estrategia potencial de tratamiento y prevención contra la diabetes tipo 2 y obesidad, ya que al utilizar al nematodo *Nippostrongylus brasiliensis*, en mono infección y multi infección, en un modelo murino en el cual los ratones knock out de RIP2-Opa1, que presentan un fenotipo de deficiencia Opa1 a nivel

de las células pancreáticas de los islotes  $\beta$ , y además ratones knock out STAT6 e IL-13, concluyeron que la infección con el nematodo tiene efectos preventivos y curativos contra el desarrollo de obesidad y alteraciones metabólicas asociadas (Yang *et al.*, 2013), lo que contradice el paradigma de que los parásitos solo causan efectos negativos en sus hospederos (Shea-Donohue *et al.*, 2017). El efecto protector en contra de diabetes y obesidad también ha sido referido en estudios con *Schistosoma mansoni* (*S. mansoni*) (Hussaarts *et al.*, 2015).

La relación existente entre los niveles séricos de colesterol y la infección con parásitos ha sido estudiada en modelos murinos y el humano, y se ha propuesto que parásitos como *Giardia lamblia*, *Plasmodium falciparum*, *S. mansoni*, entre otros pueden reducir los niveles séricos de colesterol total (Bansal *et al.*, 2005), sin embargo, se desconocen los mecanismos moleculares involucrados en provocar la disminución en los niveles séricos de colesterol.

Hasta la fecha no ha sido evaluada la interacción entre una infección parasitaria como es *T. pisiformis* en conejos que se encuentren en condiciones de obesidad al momento de la infección y el impacto que esta interacción pueda tener sobre aspectos conductuales, fisiológicos y productivos. La información generada se podrá aplicar a nivel de granja, a nivel de clínica y en el desarrollo de nuevas estrategias encaminadas a reducir los efectos patológicos de la obesidad en animales.

## HIPÓTESIS

La infección experimental con huevos de *Taenia pisiformis* disminuye parámetros conductuales, fisiológicos y productivos en conejos machos obesos.

## OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de la infección experimental con huevos de *Taenia pisiformis* sobre parámetros conductuales, fisiológicos y productivos en conejos machos obesos.

## OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Analizar el efecto de la infección experimental con huevos de *T. pisiformis* sobre parámetros productivos como son el peso, índice de masa corporal y el índice zoométrico (PC/LV) en conejos machos obesos.
2. Cuantificar los cambios conductuales mediante la prueba de campo abierto, sobre conductas como el marcaje por frotamiento del mentón, actividad locomotora y actividad exploratoria en conejos obesos infectados experimentalmente con huevos de *T. pisiformis*.
3. Registrar el efecto de una infección experimental con huevos de *T. pisiformis* sobre aspectos reproductivos mediante la evaluación del tiempo de reacción, intentos de monta, periodo de latencia y número eyaculados, y valorar parámetros de calidad seminal a través de la prueba de espermatobioscopia en conejos obesos.
4. Valorar el efecto de una infección experimental con huevos de *T. pisiformis* sobre parámetros fisiológicos con una biometría hemática, perfil hepático, perfil lipídico y cortisol sérico en conejos con obesidad.

5. Evaluar a la necropsia la carga parasitaria y los cambios asociados a la infección experimental con huevos de *T. pisiformis* sobre el hígado, las glándulas submandibulares, los testículos, y sobre la distribución del tejido graso en conejos obesos.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### **Animales de experimentación**

Los animales que se emplearon en el experimento fueron tratados conforme lo indica la Norma Oficial Mexicana para el uso y experimentación de animales (NOM-062-ZOO-1999), la cual está estrictamente apegada a los estándares internacionales en regulación y lineamientos.

### **Diseño experimental**

El presente estudio se dividió en dos fases. La primera inició con la administración de la dieta a los animales, y fue la fase previa a la infección, con una duración de 56 días. La segunda fase inició una vez que los conejos eran obesos y se denominó fase post infección, que duró 56 días. La duración total del experimento fue de 112 días.

### **Primera fase o fase previa a la infección**

Se utilizaron 28 conejos de la raza Nueva Zelanda, machos de 4.5 meses de edad y con un peso inicial de  $3.2 \pm 0.1$  Kg, los cuales fueron divididos aleatoriamente en dos grupos asignados como grupo normopeso (NP) (n=14) y el grupo inducido a la obesidad (OB) (n=14), y se mantuvieron en jaulas individuales (60X90X40 cm) en condiciones de granja con una temperatura ambiental de  $19 \pm 3^\circ\text{C}$ .

### **Alimentación**

El grupo de conejos NP fue alimentado con 180 g de dieta de mantenimiento (Ganador®, Malta Cleyton, México, proteína mínima 16%, grasa 3% y fibra 17%), y el grupo de conejos OB con una dieta alta en grasa administrada a libre demanda, la cual estaba compuesta por la dieta de mantenimiento como base, agregando 5% de aceite de soya y 5% de manteca de cerdo (Antic *et al.*, 1999).

El agua se proporcionó *ad libitum* durante todo el experimento.

## **Segunda fase o fase post infección**

Una vez que los conejos alimentados con la dieta obesogénica alcanzaron el 20% más del peso que los conejos del grupo normopeso, los animales fueron reasignados subdividiéndose en forma aleatoria en cuatro grupos:

El grupo NP se subdividió en dos grupos:

NP, grupo control (n=7), normopeso sin infectar, que se siguió alimentando con dieta de mantenimiento.

NPi, grupo infectado (n=7), normopeso, que se siguió alimentando con dieta de mantenimiento.

El grupo OB se subdividió en dos grupos:

OB, grupo obeso (n=7), sin infectar, que se siguió alimentando con dieta alta en grasa.

OBi, grupo obeso infectado (n=7), que se infectó y se siguió alimentando con dieta alta en grasa.

## **Infección**

Los conejos de los grupos NPi y OBi se inocularon con huevos obtenidos de proglótidos de *T. pisiformis* que fueron colectados de las heces de un perro infectado, se lavaron e identificaron y se mantuvieron en solución salina al 5% en refrigeración (4°C), de acuerdo con el método descrito por Flatt y Moses (1975). Los proglótidos fueron maceradas en solución salina usando un mortero y los huevos viables fueron cuantificados usando un hemocitómetro. Se infectó administrando 3,000 huevos por conejo vía esofágica usando un tubo de plástico estéril. Los conejos se infectaron con previa tranquilización utilizando 5 mg/kg de xilacina vía intramuscular (Betancourt-Alonso *et al.*, 2011).

## **Parámetros productivos**

### **Peso corporal**

Se obtuvo pesando al animal semanalmente durante 56 días previos a la infección y 56 días post infección mediante una báscula digital.

## **Mediciones zoométricas**

Usando una cinta métrica flexible, se midió la longitud vertebral (VL) desde el occipucio a la unión sacro-caudal, siguiendo la curvatura de la espina vertebral; la altura a la cruz se tomó como la distancia de la parte más proximal de la escápula a la falange distal del miembro torácico (DSL). Las fórmulas zoométricas utilizadas es la modificación del índice de masa corporal (IMC) y la medida zoométrica, según estudios previos en conejos referidos por Sweet *et al.*, 2013. Las mediciones se realizaron cada siete días durante 56 días post infección.

Fórmulas:

IMC:  $\text{Peso corporal (Kg)} / \text{DSL (cm)}$

Medida zoométrica:  $\text{Peso corporal (Kg)} / \text{VL(cm)}$

## **Pruebas conductuales**

### **Prueba de campo abierto**

Las conductas se evaluaron durante diez minutos en una arena de 120 cm por 120 cm, dividida en nueve cuadrantes de 40 cm con líneas pintadas en el piso. En la arena se colocaron tres ladrillos encimados previamente lavados. La actividad locomotora se evaluó contando el número de veces que el conejo pasó de un cuadrante a otro; conducta de parado se cuantificó como el número de veces que los conejos se levantaron en el tren posterior con las orejas erectas; la conducta de *chinning* se midió contando el número de veces que los conejos frotaban el mentón en los ladrillos (Hallal-Calleros *et al.* 2013). La prueba se realizó cada tercer día durante 56 días pre infección y 56 días post infección.

### **Conducta sexual**

La conducta sexual se evaluó los días 0, 14, 28, 42 y 56 días post infección. Se emplearon hembras ovariectomizadas las cuales fueron inducidas a celo con 1 mg de propionato de estradiol (FORESTRO® PARFARM) por vía intramuscular durante 5 días previos a la monta. Las hembras se introdujeron en la jaula de los machos por un periodo de 6 minutos (Fuentes *et al.*, 2004). Las conductas evaluadas fueron el tiempo de

reacción, registrado como el tiempo que transcurrió entre la entrada de la coneja a la jaula y el primer intento de monta por parte del macho; los intentos de monta se cuantificaron cada vez que el macho se colocó sobre el cuarto posterior de la hembra sin lograr una intromisión con eyaculación; el periodo de latencia de montas se determinó midiendo el tiempo que transcurrió entre una monta con eyaculación y otra con o sin eyaculación; el número de eyaculados se midió cuando el macho se coloca sobre la hembra y logro una monta con eyaculación, que se manifiesta mediante el comportamiento característico que incluye movimientos pélvicos rápidos y la pérdida del equilibrio con la caída del macho hacia un lado o hacia atrás de la hembra.

### **Espermatobioscopía**

El eyaculado de todos los conejos se colectó los días 0, 21 y 49 post infección, el semen se obtuvo mediante la utilización de una vagina artificial con un tubo graduado. El operador sostuvo la vagina artificial, atemperada a 39° C, por debajo de una coneja en celo, hasta que el macho monto a la hembra y se obtuvo el eyaculado. Las variables evaluadas fueron: el volumen de eyaculado medido en el tubo graduado de la vagina artificial el número de espermatozoides y la motilidad. Para realizar el conteo se diluyó esperma fresco 1:100 en solución salina al 5%, y se colocaron 10 µL de la dilución en una cámara de Neubauer donde fueron contados. Se calculó el número total de espermatozoides multiplicando el número obtenido en la cámara x 5 x 100 x volumen de eyaculado (Fausto *et al.*, 2001). Inmediatamente después de la recolección del semen, la motilidad espermática se determinó visualmente colocando 10 µL de semen en un portaobjetos y observando 200 espermatozoides en un microscopio, donde el % de motilidad= número de espermatozoides móviles (movilidad progresiva lineal) /total x 100 (IRRG 2005).

### **Parámetros fisiológicos**

#### **Glucosa sanguínea**

Se obtuvo una muestra de sangre por medio de punción de la vena marginal de la oreja, que se analizó por medio de un glucómetro Contour Bayer®, inmediatamente obtenida la muestra se realizó la lectura los días 0, 14, 28, 42 y 56 post infección.



### **Biometría hemática y serología**

Al día 56 post infección los conejos fueron anestesiados, con una dosis de 35/5 mg/kg de ketamina y xilacina vía IM (AVMA 2001). Se obtuvieron 4 mL de sangre por vía intracardiaca, 2 mL de la muestra fue colectada en un tubo con EDTA para el análisis hematológico de los siguientes analitos: células sanguíneas rojas (RBC), células sanguíneas blancas (WBC), linfocitos, eosinófilos, neutrófilos, basófilos, monocitos, hemoglobina corpuscular media (MHC), concentración de hemoglobina corpuscular media (MCHC) analizadas con el equipo analizador hematológico (Mindray BC-2800). Los 2 mL de sangre restantes se conservaron sin anticoagulante y se mantuvieron a temperatura ambiente durante 15 minutos para la formación del coágulo, luego se centrifugó a 3,000 rpm durante 10 minutos para la obtención del suero que fue congelado a -20°C (Núñez y Bouda, 2007). Posteriormente se realizó la determinación de las enzimas hepáticas: Alanino aminotransferasa (ALT), Aspartato aminotransferasa (AST), y perfil lipídico cuantificando triglicéridos, colesterol, lipoproteínas de alta densidad (HDL) y lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), utilizando el equipo de análisis bioquímico especializado y sus respectivos kits comerciales (Wiener lab®).

### **Cortisol**

El cortisol sérico se midió al día 56 post infección, se obtuvo la muestra de sangre por vía intracardiaca con previa anestesia, se centrifugó para separar suero (1500 rpm durante 15 min) y almacenado a -20 ° C hasta su análisis. Se determinaron las concentraciones séricas de cortisol en duplicado utilizando un kit comercial de radioinmunoensayo (Pantex, Santa Mónica, CA). (Hallal-Calleros *et al.*, 2013)

### **Necropsia**

Al día 56 post infección, se realizó el sacrificio humanitario de los conejos. El sacrificio se realizó con una dosis letal de pentobarbital sódico (100mg/kg), con previa anestesia con xilacina/ketamina (5/35 mg/kg) (AVMA 2001).

### **Obtención de tejidos**

El hígado, las glándulas submandibulares y testículos se diseccionaron y pesaron en balanza analítica (Mejía *et al.*, 2015).

La grasa visceral (grasa peri-renal y del mesenterio), la grasa subcutánea escapular y la grasa peri-testicular fueron separadas y pesadas (Zhao *et al.*, 2007).

### **Carga parasitaria**

se registró el número de lesiones granulomatosas en el hígado y el número de metacéstodos obtenidos de la cavidad abdominal. Se consideraron como infectados a los animales que presentaron lesiones hepáticas granulomatosas o metacéstodos de *T. pisiformis* (Betancourt-Alonso *et al.*, 2011).

### **Análisis estadístico**

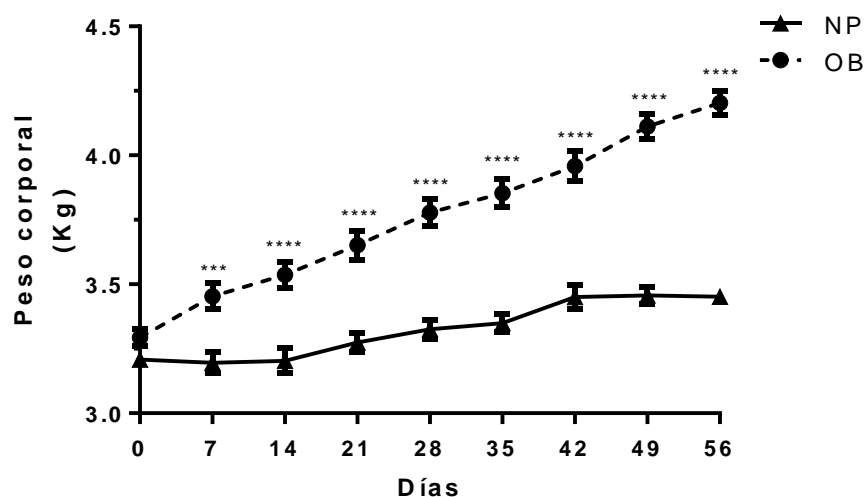
Las variables peso corporal y las variables de conducta locomotoras, exploratoria y *chinning* que se midieron en la etapa de pre-infección se analizaron utilizando la prueba múltiple de T. Las variables medidas durante la fase de post infección se analizaron de la siguiente manera, el peso corporal, IMC, medida zoométrica, actividad locomotora, actividad exploratoria, *chinning* y la glucosa se analizó utilizando un ANOVA de medidas repetidas de 2 vías (grupos como factor de tratamiento y semanas como el factor repetido), seguido de una prueba de Tukey. Las variables número de eyaculados, RBC, WBC, MCH, MCHC, linfocitos, eosinófilos, neutrófilos, basófilos, monocitos, ALT, AST, Colesterol, Triglicéridos, HDL y VLDL, Cortisol, peso del hígado, testículos y glándulas submandibulares, tejido graso total, supraescapular, mesentérico, testicular y perirrenal se analizaron mediante un análisis de varianza de una vía (ANOVA) seguido de la prueba de Tukey para comparar las respuestas entre los diferentes grupos. Las variables tiempo de reacción, intentos de monta, periodo de latencia, se analizaron con una prueba de ANOVA y para comparar entre grupos una prueba de Kruskal-Wallis. El número de metacéstodos y granulomas hepáticos se comparó con una prueba de T. Los valores son expresados como la media $\pm$ EE. Se consideró significativo cuando  $P\leq 0.05$ .

## RESULTADOS

### Fase de pre-infección

#### Efecto de la dieta sobre el peso corporal

El grupo de conejos NP alimentados con la dieta de mantenimiento, a los 56 días alcanzó un peso de  $3.45 \pm 0.10$  kg mientras que el grupo OB un peso de  $4.2 \pm 0.46$  kg a los 56 días (Fig. 1), mostraron diferencia estadística a partir del día 7 ( $P \leq 0.001$ ) y hasta el día 56 previo a la infección ( $P < 0.0001$ ).

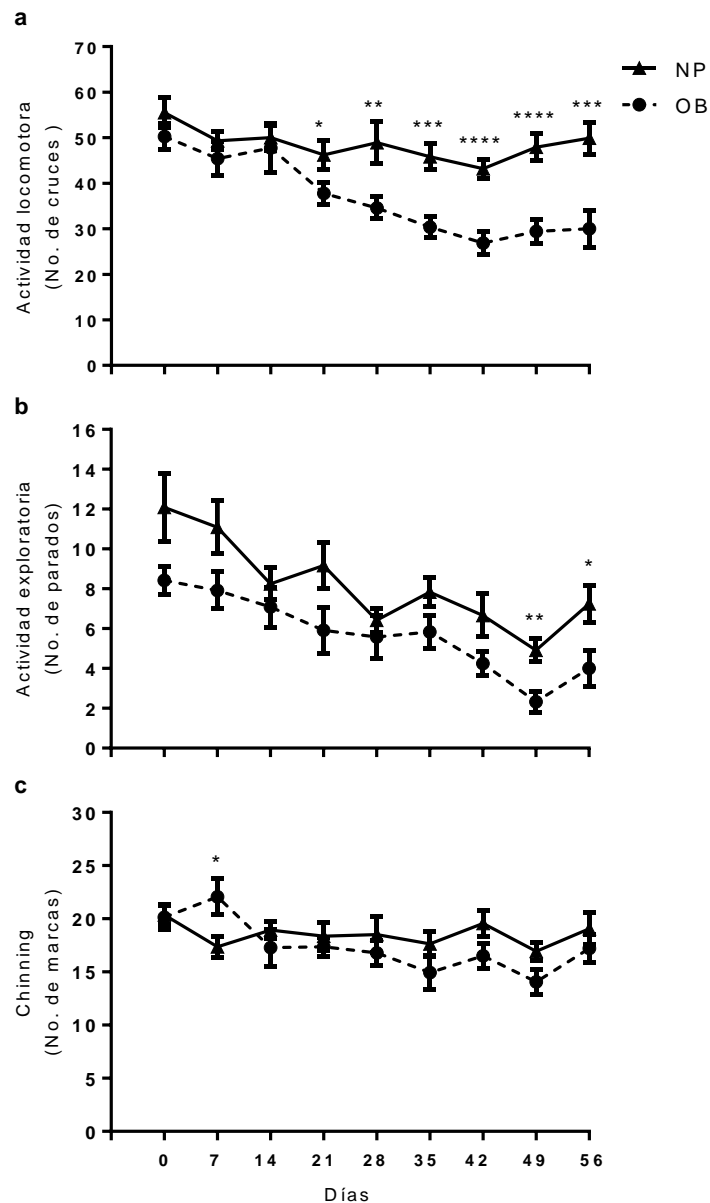


**Figura 1. Peso corporal.** Conejos alimentados con una dieta alta en grasa durante 56 días; media $\pm$ EE, \*\*\* $P \leq 0.001$ , \*\*\*\* $P \leq 0.0001$ ; prueba de T. NP=normopeso; OB=obesos.

#### Efecto del peso sobre las conductas evaluadas en la prueba de campo abierta

El efecto del peso sobre la conducta locomotora en el grupo OB previo a la infección mostró que el incremento de peso indujo una disminución del 18% en la actividad locomotora en el día 21 ( $P=0.0413$ ), disminuyendo progresivamente en los días 28 ( $P=0.0115$ ), 35 ( $P=0.0003$ ), 42 ( $P < 0.0001$ ), 49 ( $P=0.0001$ ) y 56 ( $P=0.001$ ) manteniendo desde un 20% hasta un 40% menor su actividad comparado con los conejos del grupo NP que fueron alimentados con la dieta de mantenimiento (Fig. 2a). La actividad

exploratoria en los conejos OB disminuyó un 53% al día 49 ( $P \leq 0.01$ ) y un 44% al día 56 ( $P \leq 0.05$ ) comparado contra el grupo NP (Fig. 2b). Finalmente, la conducta de *chinning* mostró cierta homogeneidad durante los 56 días exceptuando al día 7 donde el grupo OB fue mayor que el grupo NP (22 vs 17 número de marcas) ( $P < 0.05$ ) (Fig. 2c).



**Figura 2. Prueba de campo abierto.** a) Actividad locomotora, b) Actividad exploratoria, c) Chinning de conejos alimentados con una dieta alta en grasa durante 56 días. Media $\pm$ EE, \* $P \leq 0.05$ , \*\* $P \leq 0.01$ , \*\*\* $P \leq 0.001$ , \*\*\*\* $P \leq 0.0001$ ; prueba de T. NP=normopeso; OB=obesos.

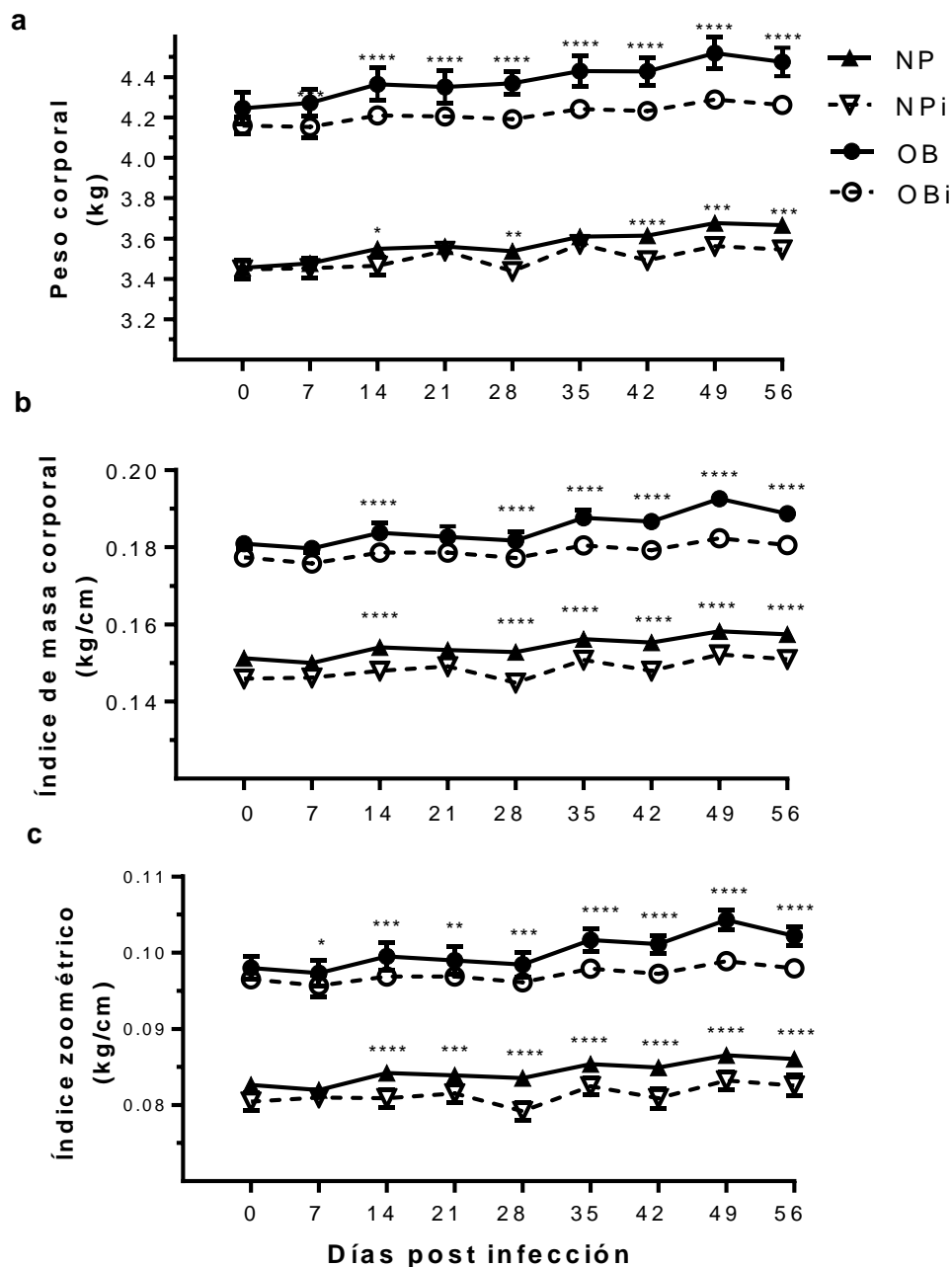
## Fase post infección

### Efecto de la infección de *T. pisiformis* sobre el peso y medidas zoométricas en conejos obesos

Los conejos del grupo NP ganaron menos peso que los NPi al día 14, 28, 42, 49 y 56 post infección, lo que representó una ganancia de 120 gramos menos que los conejos NP en los días 42, 49 y 56 PI ( $P \leq 0.0001$ ). El grupo OBi a partir del día 7 tuvo un menor peso con respecto al grupo OB ( $P \leq 0.0001$ ) esta diferencia se mantuvo en las semanas subsecuentes, con una ganancia de 210g menos en los OBi al día 56 post infección (Fig. 3a).

Al analizar los cambios en el peso a través del tiempo en un mismo grupo, se observó que, a partir de la infección (Fig. 3a) en el grupo NP hubo un aumento de peso desde el día 14 ( $P \leq 0.05$ ), alcanzando un incremento del 6% en el día 56 post infección ( $P \leq 0.0001$ ) con respecto al peso inicial (día de la infección). En el grupo NPi se observó un incremento en el peso a partir del día 21 ( $P \leq 0.05$ ), y en el día 56 alcanzó un aumento de apenas el 3% con respecto al peso inicial ( $P \leq 0.05$ ), mostrando que la infección indujo un retraso de días en el aumento de peso y un 3% menos con respecto al grupo NP. El peso en el grupo OB incrementó a partir del día 14 ( $P \leq 0.01$ ), con un aumento sostenido hasta el día 56 ( $P \leq 0.0001$ ), en donde alcanzó un 5% más comparado contra el peso inicial (semana cero). En el grupo OBi se observó un aumento de peso hasta el día 42 ( $P > 0.05$ ), y en el día 56 alcanzó apenas un 2% más con respecto al peso inicial ( $P \leq 0.05$ ) (Fig. 3a).

El IMC y el índice zoométrico (Fig. 3b y 3c) no se modificaron a través del tiempo en los grupos NP, NPi y OBi. En el grupo OBi ambos índices fueron mayores en el día 49 post infección ( $P \leq 0.001$ ) y el IMC aumentó también en el día 56 ( $P \leq 0.05$ ), con respecto al día cero. Las diferencias entre grupos dependientes de la infección (NP vs NPi y OB vs OBi) se observaron en los días 21, 28, 35, 42, 49 y 56 post infección ( $P \leq 0.01$ ) (Fig. 3b y 3c).

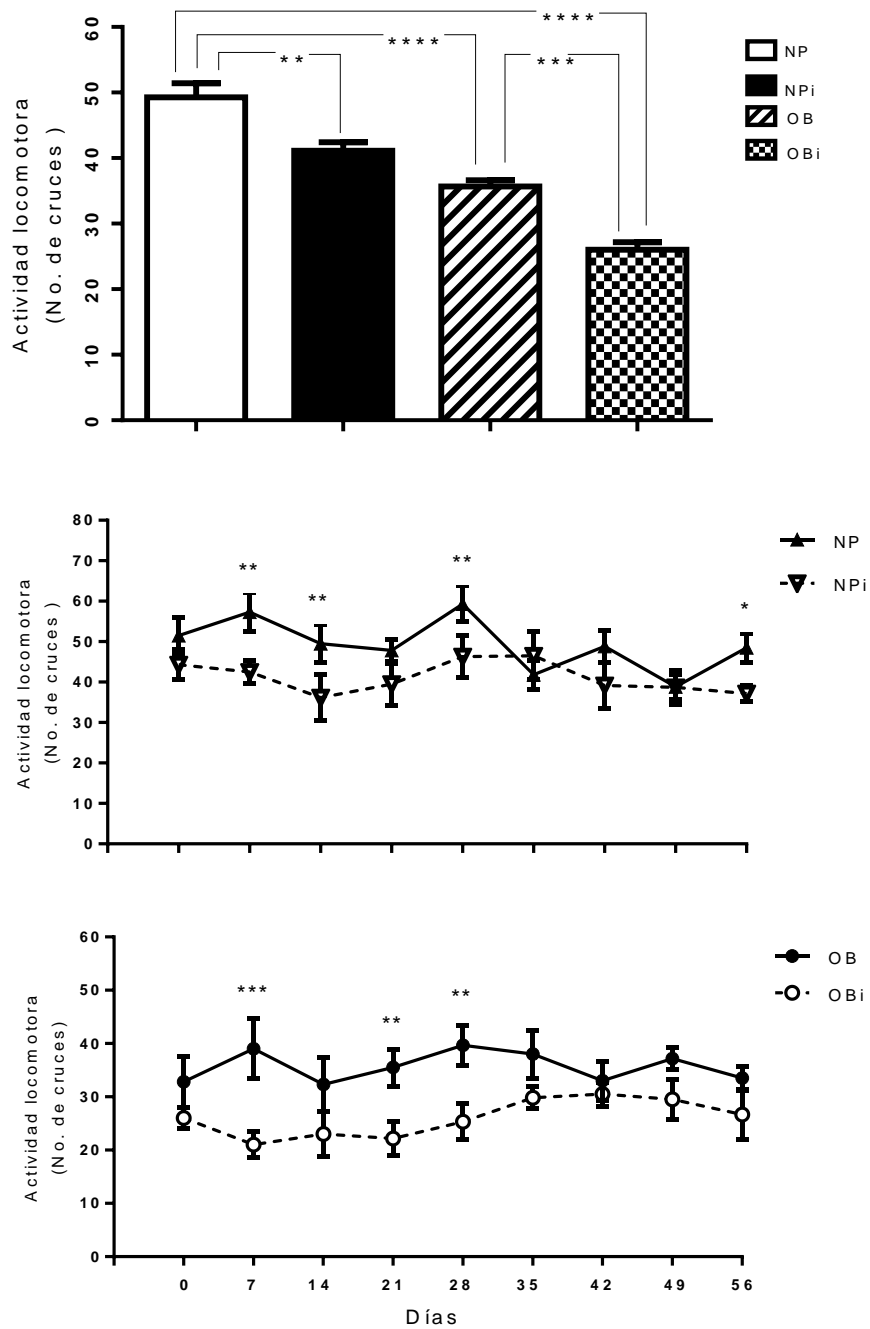


**Figura 3. Peso corporal (a), índice de masa corporal (b) e índice zoométrico(c) de conejos infectados con huevos de *T. pisiformis* durante 56 días. NP vs NPi y OB vs OBi; media±EE; \*P≤0.05, \*\*P≤0.01, \*\*\*P≤0.001, \*\*\*\*P≤0.0001; prueba de ANOVA de dos vías. NP= testigo; NPi= normopeso infectado; OB= obeso; OBi= obeso infectado.**

## **Cambios inducidos por la infección con huevos de *T. pisiformis* sobre la conducta en la prueba de campo abierto en conejos obesos**

El impacto de la infección sobre la conducta se observa en la figura 4a donde se muestra un efecto aditivo sobre la obesidad, ya que la actividad locomotora disminuyó 18.5% en animales del grupo NPi y 28.5% en animales del grupo OB, mientras que en el grupo OBi la disminución fue del 47% ( $P \leq 0.01$ ) (Fig. 4a).

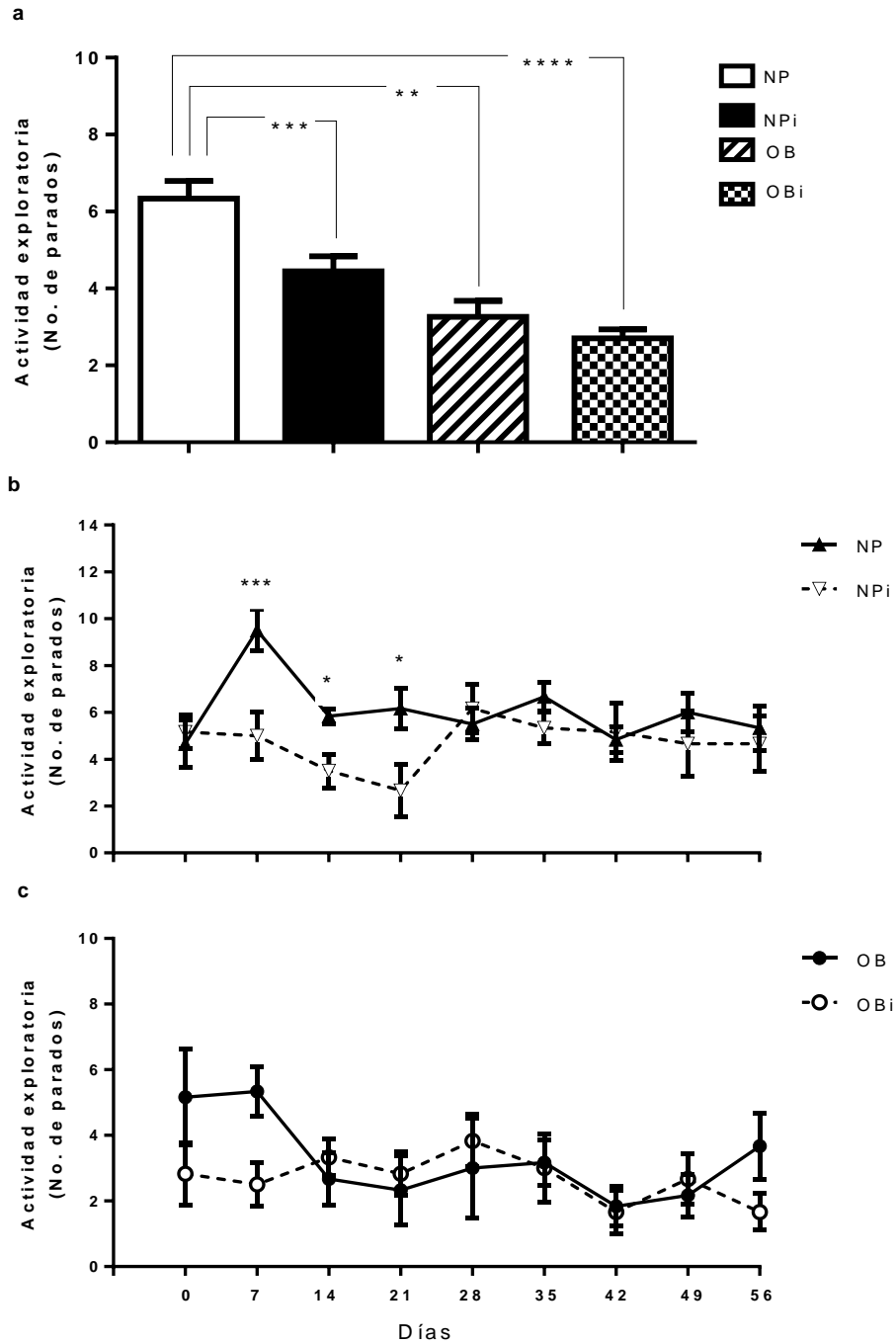
El efecto de la infección sobre la actividad locomotora a través del tiempo se presentó a partir del día 7 con el grupo NPi disminuyó un 26% y un 28% al día 14 ( $P \leq 0.01$ ), los días 28 redujo un 22% ( $P \leq 0.01$ ) y al día 46 un 24% ( $P \leq 0.05$ ), comparado contra el grupo NP (Fig. 4b). El efecto de la infección durante la obesidad en el grupo OBi mostró una disminución del 46% al día 7 post infección ( $P \leq 0.001$ ), también redujo un 37% al día 21 y al día 28 un 44% ( $P \leq 0.01$ ), cuando se comparó contra los conejos NPi (Fig.4c). Los efectos de la comorbilidad de los conejos OBi vs NP son reflejados desde el momento de la infección y los días subsecuentes 7, 14, 21, 28, 35, 42 y 49, donde disminuyó la actividad locomotora desde el 25% hasta el 55% ( $P \leq 0.01$ ).



**Figura 4. Actividad locomotora.** Análisis del total de la actividad locomotora durante 56 días post-infección (a), media±EE, \*\*P≤0.01, \*\*\*P≤0.001, \*\*\*\*P≤0.0001); prueba de ANOVA. Actividad locomotora a través de 56 días post-infección, en conejos normopeso (b), y en conejos obesos (c); media±EE, \*P≤0.05, \*\*P≤0.01, \*\*\*P≤0.001); prueba de ANOVA de dos vías. NP= testigo; NPi= normopeso infectado; OB= obeso; OBi= obeso infectado.

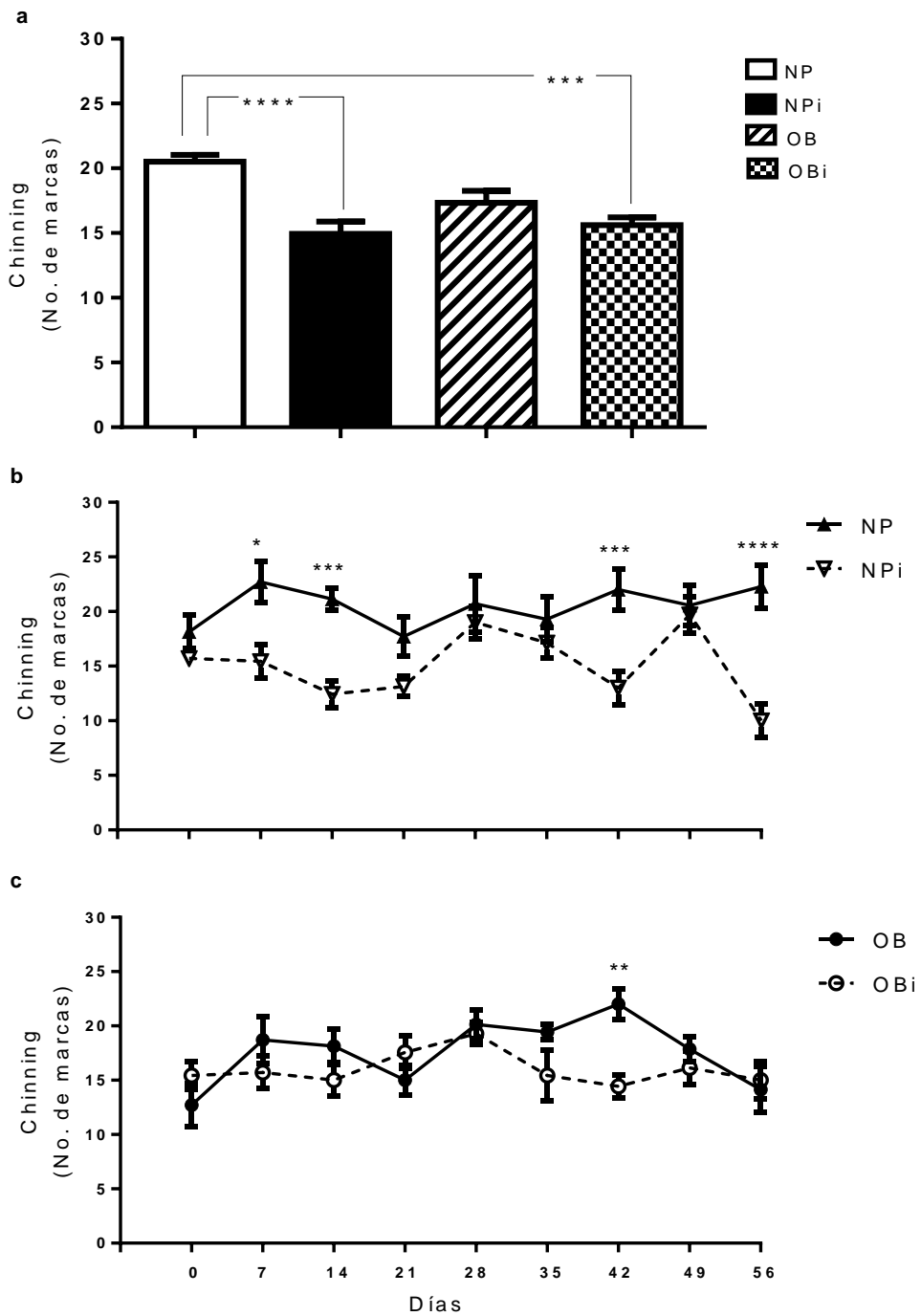


El análisis del efecto de la infección sobre la conducta exploratoria se muestra en la figura 5, donde se observó una disminución del 48% inducida por la infección en el grupo NP, un 42% en el OB inducida por la obesidad y del 62% en el OBi inducida por la comorbilidad obesidad e infección ( $P \leq 0.05$ ) (Fig. 5a). El grupo NP<sub>i</sub> mostró diferencia desde el día 7 de la infección el cual tuvo 48% menos con respecto al NP ( $P = 0.0071$ ), manteniendo diferencias en los días subsecuentes al día 21 ( $P = 0.0330$ ) y al día 35 ( $P \leq 0.05$ ) post infección, al final del experimento el número de parados en el NP<sub>i</sub> fue un 61% menos que en NP ( $P = 0.0004$ ) (Fig. 5b). En la comparación de los grupos OB vs OBi no mostró diferencias a lo largo del experimento ( $P > 0.05$ ) (Fig. 5c). El grupo OBi fue el más afectado durante los 56 días post infección comparado contra el grupo NP teniendo un promedio semanal para el OBi que va desde 1.7 hasta 3.8 parados y de 5.5 hasta 9.5 parados para el grupo NP, las diferencias a través del tiempo se mostraron en los días 7 ( $P = 0.0004$ ), 14 ( $P \leq 0.05$ ), 35 ( $P \leq 0.0001$ ), 49 ( $P \leq 0.001$ ) y 56 ( $P = 0.05$ ).



**Figura 5. Actividad exploratoria.** Análisis del total de número de parados durante 56 días post-infección (a), media±EE, \*\* $P \leq 0.01$ , \*\*\* $P \leq 0.001$ , \*\*\*\* $P \leq 0.0001$ ; prueba de ANOVA. Actividad exploratoria a través de 56 días post-infección en conejos normopeso (b) y en conejos obesos (c); media±EE, \* $P \leq 0.05$ , \*\*\* $P \leq 0.001$ ); prueba de ANOVA de medidas repetidas de dos vías. NP= testigo; NPi= normopeso infectado; OB= obeso; OBi= obeso infectado.

El efecto inducido por la infección sobre la conducta de *chinning* total del experimento mostró una disminución del 28% en el grupo NPi ( $P \leq 0.0001$ ) y un 25% en los OBi ( $P \leq 0.001$ ) (Fig. 6a). Los cambios se presentaron a partir del día 7 donde disminuyó el número de *chinning* del grupo NPi en un 32% ( $P = 0.0105$ ), a los 14 días con 41% menos, al día 42 con 40% menos, y al día 56 con 55% menos, comparado contra el grupo NP ( $P \leq 0.01$ ) (Fig. 6b), mientras que, en la comparación para conocer el efecto de la infección sobre los obesos, resultó que en el grupo OBi disminuyó el número de marcas en un 35% en el día 42 ( $P \leq 0.01$ ) (Fig. 6c). Finalmente, la comorbilidad en OBi afectó la conducta de *chinning* durante los días 7, 14, 42 y 56 post infección ( $P \leq 0.05$ ).



**Figura 6. Conducta de *chinning*.** Análisis del total de marcas durante 56 días post-infección (a), media±EE, \*P≤0.05, \*\* P≤0.01, prueba de ANOVA. Actividad locomotora a través de 56 días post-infección en conejos normopeso (b) y obesos (c); media±EE\*P≤0.05, \*\*P≤0.01, \*\*\*P≤0.001, \*\*\*\*P≤0.0001; prueba de ANOVA de dos vías.

NP= testigo; NPi= normopeso infectado; OB= obeso; OBi= obeso infectado.

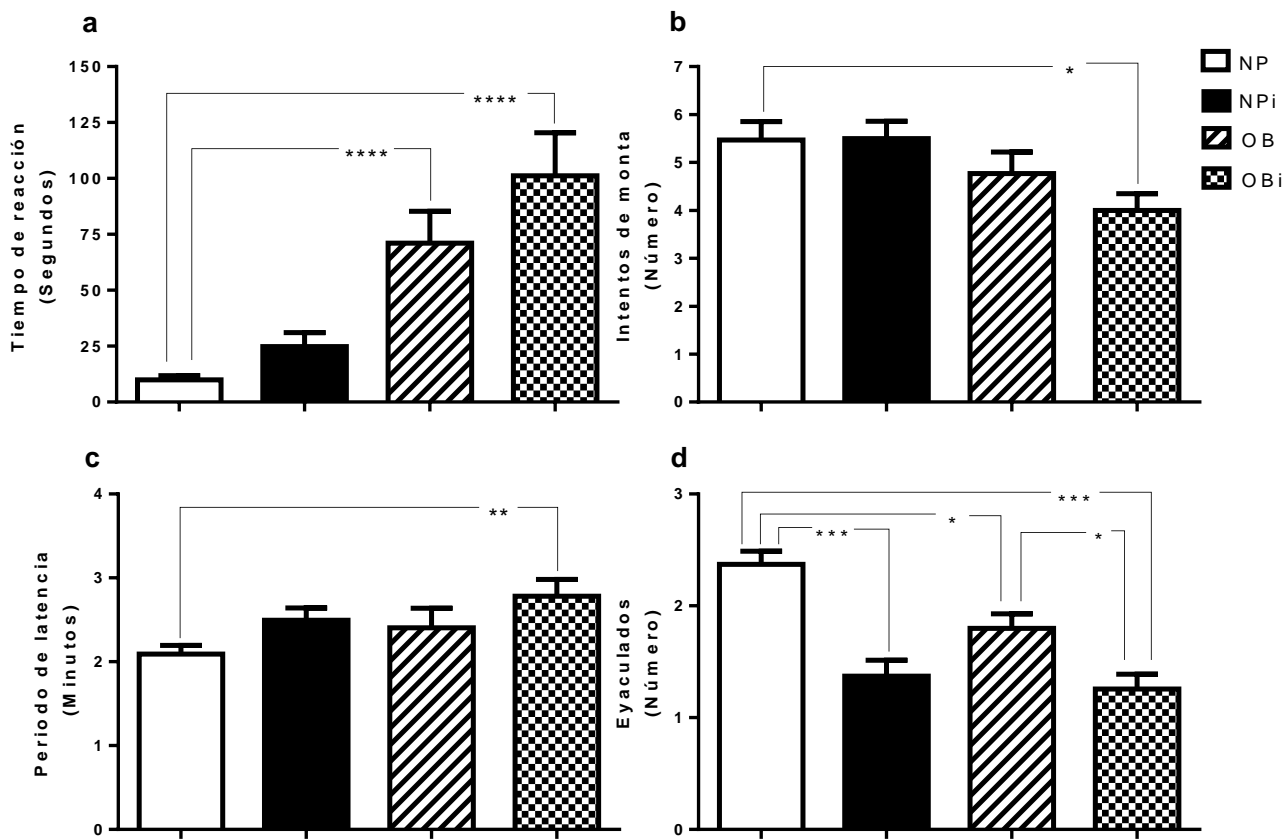
## **Disminución de la conducta sexual en conejos obesos infectados con huevos de *T. pisiformis***

Los parámetros de la conducta sexual analizados se vieron afectados por la infección a los 56 días de experimentación (Fig. 7). En el tiempo de reacción se observó un efecto aditivo de la infección y la obesidad, ya que mientras la infección por si sola indujo un aumento en el tiempo de respuesta de 2.5 veces en el grupo NPi ( $P \leq 0.05$ ), la obesidad en el grupo OB indujo un aumento de 7 veces el tiempo ( $P \leq 0.0001$ ) y la comorbilidad en el grupo OBi aumentó 10 veces el tiempo ( $P \leq 0.0001$ ) (Fig. 7a). Los intentos de monta no resultaron afectados por la infección en el grupo NPi, pero si se vieron afectados en los grupos OB y en la comorbilidad obesidad-infección en OBi se observa una disminución significativa (13 y 23% menor, respectivamente,  $P \leq 0.05$ ) (Fig. 7b).

El periodo de latencia se observó alterado solamente en los animales del grupo OBi, con un aumento en el tiempo de 47 segundos con respecto al NP ( $P \leq 0.01$ ) (Fig. 7c). En el número de eyaculados se observa un impacto de la infección en el NPi, donde disminuyó en un 42% (de 2.37 a 1.37 veces,  $P \leq 0.001$ ), mientras que en el OB fue un 24% menor (de 2.37 a 1.8 veces) y en el grupo OBi con la comorbilidad redujo un 47.3% (de 2.37 a 1.25 veces) (Fig. 7d).

## **Evaluación seminal en conejos obesos infectados con huevos de *T. pisiformis***

El análisis del volumen del eyaculado, de la concentración espermática y del porcentaje de motilidad de los espermatozoides en los distintos grupos experimentales en los días 0, 28 y 56 post-infección se muestra en la tabla 1, el promedio total de observaciones realizadas para los parámetros analizados (volumen del eyaculado, concentración espermática y porcentaje de motilidad) cuya comparación NP vs NPi, OB, OBi, no mostró cambios significativos ( $P=0.7106$ ,  $P=0.3169$  y  $P=0.0539$  respectivamente).



**Figura 7. Conducta sexual total en conejos obesos infectados con huevos de *T. pisiformis* durante 56 días.** Tiempo de reacción (a), intentos de monta (b) periodo de latencia (c) y número de eyaculados (d); media±EE, \*P≤0.05, \*\*P≤0.01, \*\*\*P≤0.001); a-c, prueba de Kruskal-Wallis y d, prueba de ANOVA. NP= testigo; NPi= normopeso infectado; OB= obeso; OBi= obeso infectado.

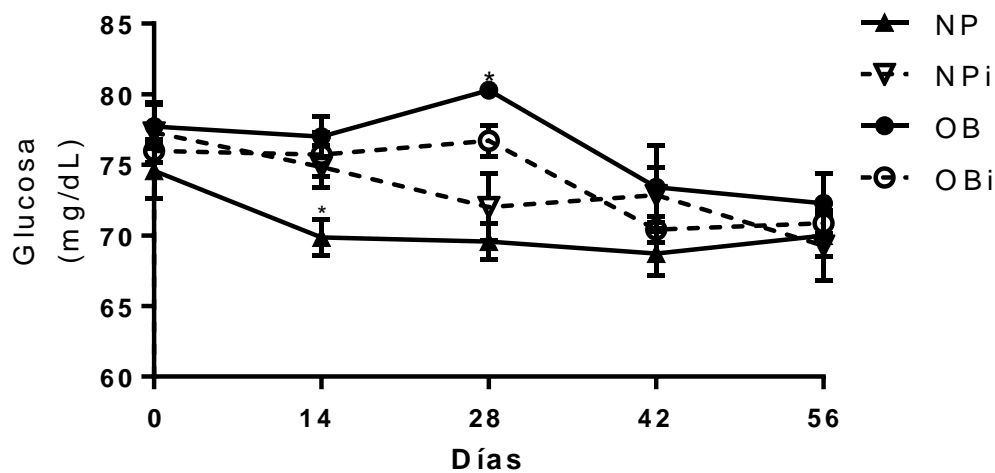
**Cuadro 1. Espermatobioscopía.** Evaluación seminal de parámetros obtenidos del total de eyaculados de conejos infectados con huevos de *T. pisiformis* durante 56 días.

	NP	NPi	OB	Obi
Volumen (mL)	0.69±0.03	0.67±0.04	0.70±0.04	0.70±0.04
Concentración (x10 <sup>6</sup> )	559.34±7.82	547.13±10.45	542.14±8.33	546.88±7.92
Motilidad (%)	84.29±2.02	85.71±1.96	85.24±2.02	83.33±1.90

Se muestra la media±EE. Prueba de ANOVA, no se encontró diferencia estadística (P>0.05). NP= testigo; NPi= normopeso infectado; OB= obeso; OBi= obeso infectado.

## Monitoreo de glucosa sanguínea durante la infección con *T. pisiformis*

Durante el desarrollo del modelo de obesidad se llevó a cabo el monitoreo de los niveles de glucosa sanguínea en ayuno; como se muestra en la figura 8, aunque se observa una tendencia al aumento, los niveles de glucosa no tuvieron cambio significativo constante entre grupos ( $P < 0.05$ ), manteniéndose dentro del rango de valores normales (75-155 mg/dL, Melillo, 2007) tanto en los conejos normopeso como en los obesos (Fig. 8).



**Figura 8. Glucosa.** Glucosa sanguínea de conejos infectados con huevos de *T. pisiformis* a través de 56 días post infección; media $\pm$ EE, prueba de ANOVA de medidas repetidas dos vías. \* $P \leq 0.05$ . NP= testigo; NPi= normopeso infectado; OB= obeso; OBi= obeso infectado.

## Efecto de la infección con *T. pisiformis* sobre parámetros sanguíneos y séricos en conejos obesos

Los valores obtenidos en la biometría hemática se muestran en la tabla 2, en donde se muestran los cambios debido a la infección crónica con *T. pisiformis* comparados contra el grupo NP, los eosinófilos resultaron un 23% mayor en el grupo NPi ( $P \leq 0.05$ ) y los neutrófilos aumentaron un 22% en el grupo OBi ( $P \leq 0.05$ ), los niveles de los analitos; RBC, WRC, linfocitos, basófilos y monocitos no tuvieron diferencias entre los grupos ( $P > 0.05$ ).

Las variables MCH y MCHC se mantuvieron de manera similar en todos los grupos ( $P>0.05$ ). Los niveles séricos de las enzimas hepáticas ALT y AST resultaron sin cambios aparentes en la comparación de los NPi, OB, OBi vs NP ( $P>0.05$ ). El efecto de la infección por *T. pisiformis* sobre los elementos del perfil lipídico mostraron diferencia en el colesterol el cual fue menor un 13% en los NPi ( $P\leq 0.01$ ) y un 10% en los OBi ( $P\leq 0.05$ ), con respecto al grupo NP. Mientras que los niveles de triglicéridos y las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) se vieron incrementadas un 23% y 45% en el grupo OB ( $P\leq 0.05$  y  $P\leq 0.01$ , respectivamente), mientras que en los grupos infectados NPi y OBi, se mantuvieron sin cambios comparados contra el grupo NP ( $P>0.05$ ), y las HDL disminuyeron un 16% en el OBi comparado contra el grupo OB ( $P\leq 0.01$ ) (Tabla 2).

**Cuadro 2.** Hemograma, enzimas hepáticas y perfil lipídico de conejos infectados con huevos de *T. pisiformis* a los 56 días post infección.

Analitos	NP	NPi	OB	OBi	Valores de referencia
RBC ( $\times 10^{12}$ )	6.4 $\pm$ 0.1	6.8 $\pm$ 0.1	6.6 $\pm$ 0.2	6.7 $\pm$ 0.2	6-6.8 (1)
WBC ( $\times 10^9$ )	6.9 $\pm$ 0.7	7.3 $\pm$ 0.5	6.3 $\pm$ 0.7	6.6 $\pm$ 0.4	6.8-9.7 (1)
Linfocitos (%)	44.8 $\pm$ 1.3	43.3 $\pm$ 2.3	44.7 $\pm$ 4.5	38.2 $\pm$ 1.7	39-67 (1)
Eosinófilos (%)	3.5 $\pm$ 0.2 <sup>ab</sup>	4.3 $\pm$ 0.5 <sup>a</sup>	2.3 $\pm$ 0.4 <sup>ab</sup>	1.8 $\pm$ 0.3 <sup>b</sup>	1-2 (1)
Neutrófilos (%)	45.3 $\pm$ 1.1 <sup>a</sup>	45.7 $\pm$ 1.8 <sup>a</sup>	46.7 $\pm$ 4.5 <sup>a</sup>	55.5 $\pm$ 2.1 <sup>b</sup>	25-46 (1)
Basófilos (%)	1.5 $\pm$ 0.5	1.7 $\pm$ 0.3	2.3 $\pm$ 0.6	1.3 $\pm$ 0.2	2.1-5 (1)
Monocitos (%)	4.8 $\pm$ 1.1	5 $\pm$ 0.6	4 $\pm$ 0.8	3.2 $\pm$ 1	1-8 (1)
MCH (Pg)	19.5 $\pm$ 0.3	19.6 $\pm$ 0.2	19.8 $\pm$ 0.4	19.5 $\pm$ 0.2	20-21 (1)
MCHC (g/dL)	30.5 $\pm$ 0.2	30.3 $\pm$ 0.2	30.2 $\pm$ 0.2	29.7 $\pm$ 0.1	32-34 (1)
AST (IU/L)	20.4 $\pm$ 2.7	16.4 $\pm$ 4	18.6 $\pm$ 3.8	19.2 $\pm$ 3.2	14-80 (2)
ALT (IU/L)	22.8 $\pm$ 1.4	20.9 $\pm$ 3.2	18.2 $\pm$ 2.3	20.6 $\pm$ 3.2	14-113 (2)
Colesterol (mg/dL)	101.9 $\pm$ 2.1 <sup>a</sup>	88.30 $\pm$ 2.7 <sup>b</sup>	103.1 $\pm$ 1.7 <sup>a</sup>	91.3 $\pm$ 1.3 <sup>b</sup>	10-80 (2)
Triglicéridos (mg/dL)	93.6 $\pm$ 6.2 <sup>a</sup>	91.3 $\pm$ 5.3 <sup>a</sup>	115.3 $\pm$ 5.1 <sup>b</sup>	81.3 $\pm$ 3.3 <sup>a</sup>	15-160 (2)
HDL (mg/dL)	51.04 $\pm$ 2.2 <sup>ab</sup>	47.2 $\pm$ 2.3 <sup>ab</sup>	52.7 $\pm$ 1.4 <sup>b</sup>	44.2 $\pm$ 1.5 <sup>ac</sup>	46-58 (2)
VLDL (mg/dL)	17.8 $\pm$ 1.3 <sup>a</sup>	19.3 $\pm$ 1.4 <sup>a</sup>	25.8 $\pm$ 1.5 <sup>b</sup>	16.2 $\pm$ 0.6 <sup>a</sup>	9-15 (2)



Los valores son expresados como Media±EE.

<sup>ab</sup> Diferente letra indica diferencia entre tratamientos;  $P \leq 0.05$ , Prueba de ANOVA y prueba de Tukey.

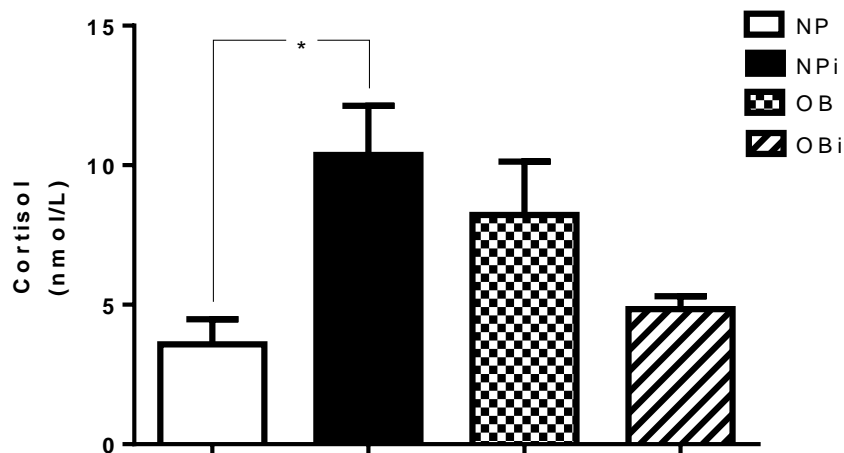
RBC, células sanguíneas rojas; WBC, células sanguíneas blancas; MCH, hemoglobina corpuscular media; MCHC, concentración de hemoglobina corpuscular media; AST, Aspartato aminotransferasa; ALT, Alanina aminotransferasa; HDL, lipoproteína de alta densidad; VLDL, lipoproteína de muy baja densidad.

NP= testigo; NPi= normopeso infectado; OB= obeso; OBi= obeso infectado.

McLaughlin y Fish 1994 (1); Washington y Hoosier 2012 (2).

### Efecto de la infección crónica de *T. pisiformis* sobre el cortisol en conejos obesos

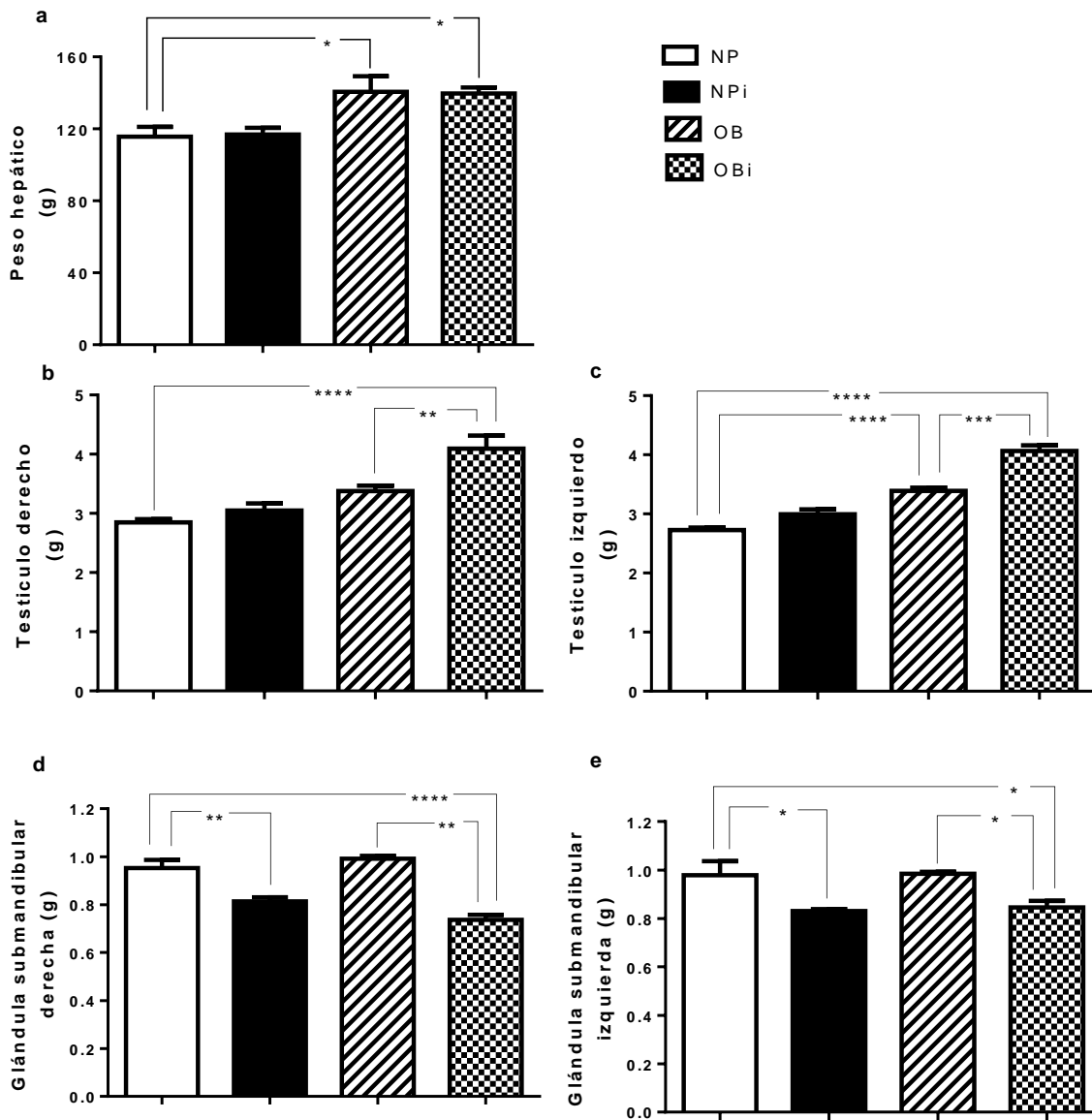
Los niveles de cortisol sérico en animales del grupo NPi fueron mayores con respecto al grupo NP ( $P=0.0132$ ), la comparación entre OB y OBi no mostró diferencias con respecto al grupo NP ( $P>0.05$ ) (Fig. 9).



**Figura 9. Cortisol sérico.** Niveles de cortisol de conejos infectados con huevos de *T. pisiformis* al día 56 post infección; media±EE,  $P<0.05$ ; prueba de ANOVA. NP= testigo; NPi= normopeso infectado; OB= obeso; OBi= obeso infectado.

## **Cambios en el peso hepático, testicular y en las glándulas submandibulares asociadas a la infección por *T. pisiformis* en conejos obesos**

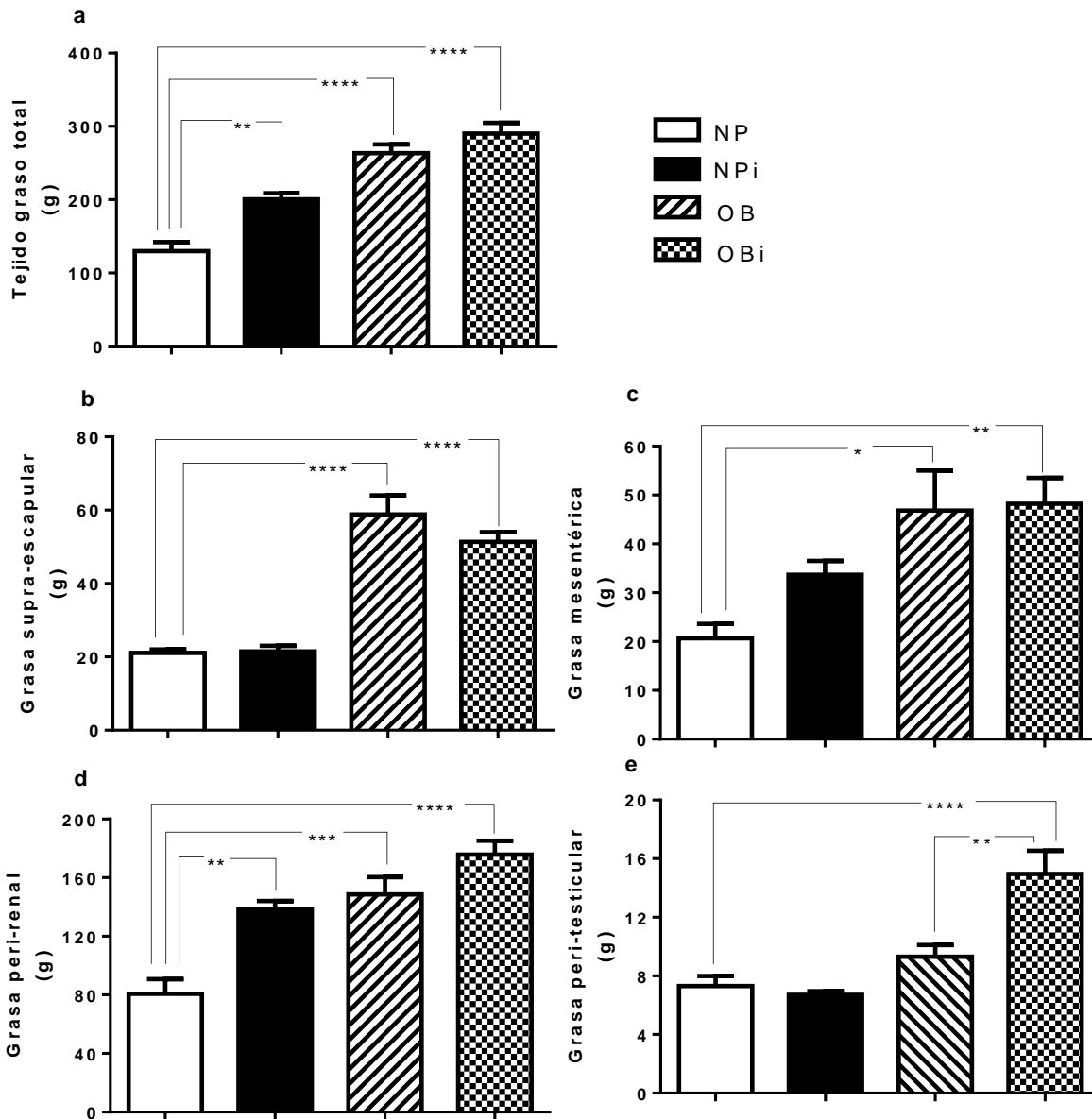
El cambio mostrado en los conejos a nivel del peso hepático fue mayor 20% más en los grupos OB y OBi que el grupo NP ( $P \leq 0.05$ , figura 10a). Mientras que el peso del testículo derecho del grupo OBi fue un 44% mayor que el control ( $P \leq 0.0001$ ) y un 21% ( $P \leq 0.01$ ) más que el OB (Fig. 10b), también el testículo izquierdo del grupo OBi un peso de 49% más que el NP y un 20% más que el OB ( $P \leq 0.0001$ ) (Fig. 10c). Las glándulas submandibulares resultaron con menor peso en el grupo NPi y OBi tanto la derecha como en la izquierda comparada contra el grupo NP ( $P \leq 0.05$ ), además también se encontró diferencia estadística la comparación del grupo OBi contra el OB ( $P \leq 0.05$ ) (Fig. 10 d, e).



**Figura 10. Peso de hígado, testículos y de glándulas submandibulares.** Peso del hígado (a), testículo derecho (b), testículo izquierdo (c) y glándulas submandibulares derecha (d) e izquierda (e) de conejos infectados con huevos de *T. pisiformis* durante 56 días; media±EE; \*P≤0.05, \*\*P≤0.01, \*\*\*P≤0.001, \*\*\*\*P≤0.0001; prueba de ANOVA. NP= testigo; NPi= normopeso infectado; OB= obeso; OBi= obeso infectado.

## **Efecto de la infección con huevos de *T. pisiformis* sobre la redistribución de tejido graso en conejos obesos**

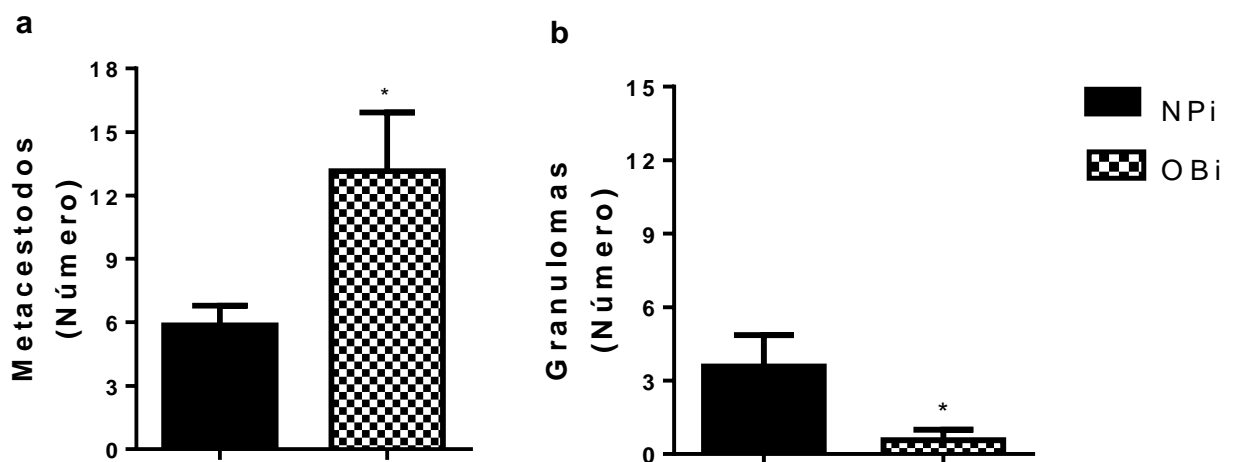
La distribución de la grasa corporal se vio afectada por la infección con *T. pisiformis* a los 56 días post infección, en donde la cantidad de grasa corporal total fue mayor en los grupos tratados comparados contra el control, en donde el grupo OBi acumuló la mayor cantidad de grasa con  $290.2 \pm 14.54$  g ( $P \leq 0.0001$ ). El grupo OB acumuló  $263 \pm 12.03$  g ( $P \leq 0.0001$ ) y el NPi con  $200.6 \pm 8.31$  g ( $P \leq 0.01$ ) contra el grupo NP con  $129.8 \pm 12.5$  g (Fig. 11a). La distribución de la grasa corporal durante la infección en la región supra-escapular aumentó 1.7 veces en el grupo OB y 1.4 veces en el OBi comparados con el NP y NPi ( $P \leq 0.0001$ ) (Fig. 11b). La grasa acumulada en la región mesentérica aumento 1.2 veces en el OB y 1.3 veces en el OBi comparado contra el grupo NP ( $P \leq 0.05$  y  $P \leq 0.01$ ) respectivamente (Fig. 11c). En cuanto a la grasa que se deposita en la región peri renal fue mayor en los grupos OBi con  $175.7 \pm 9.5$  g ( $P \leq 0.0001$ ), para el OB un  $148.5 \pm 11.89$  g ( $P \leq 0.001$ ) y de  $138.7 \pm 5.39$  g para el NPi ( $P \leq 0.01$ ), comparados con el grupo NP que fue de  $80.72 \pm 10.04$  g (Fig. 11d). Finalmente, la grasa peri testicular fue significativamente mayor en el grupo OBi, siendo el doble de cantidad de grasa comparada con NP ( $P \leq 0.0001$ ) y 27% más que el grupo OB ( $P \leq 0.01$ ) (Fig. 11e).



**Figura 11. Distribución de la grasa corporal.** Peso de la grasa total (a), grasa supra-escapular (b), mesentérica (c), peri-renal (d) y peri-testicular (e); media±EE; \*P≤0.05, \*\*P≤0.01, \*\*\*P≤0.001 \*\*\*\*P≤0.0001; prueba de ANOVA. NP= testigo; NPi= normopeso infectado; OB= obeso; OBi= obeso infectado.

## Número de metacéstodos y granulomas de conejos infectados con huevos de *T. pisiformis*

A los 56 días post-infección encontramos que el número de metacéstodos en el grupo NPi fue de 44 con una media de  $6.28 \pm 2.9$ , mientras que en el grupo OBi fue mayor el número de metacéstodos con 92 con una media de  $13.1 \pm 7.3$  ( $P=0.0443$ ) (Fig. 12a). Con respecto al número de granulomas hepáticos fue de 4 en el grupo OBi comparado con los 25 que se observaron en el grupo NPi ( $P=0.0361$ ) (Fig. 12b). En los grupos NP y OB no se encontraron metacéstodos, ni granulomas.



**Figura 12. Número de metacéstodos (a) y granulomas (b) encontrados a la necropsia en conejos infectados con huevos de *T. pisiformis* a los 56 días post infección; media $\pm$ EE; \* $P \leq 0.05$ ; prueba de T. NPi= normopeso infectado; OBi= obeso infectado.**

## DISCUSIÓN

La infección experimental con huevos de *T. pisiformis* en conejos normo peso u obesos disminuyó el peso corporal. En ratones infectados con *N. brasiliensis* y alimentados con una dieta alta en grasas se determinó que la infección disminuyó el peso corporal a partir de la quinta semana posterior a la infección (Yang *et al.* 2013). El *N. brasiliensis* es un nematodo gastrointestinal, mientras que *T. pisiformis* es un cestodo que se aloja principalmente en el peritoneo, sin embargo, el efecto modulador sobre el peso y otras variables asociadas como el IMC e índice zoométrico parece ser similar. La investigación futura debería dilucidar los mecanismos por los cuales ocurre este fenómeno, así como el interés productivo en los animales, pueden ser de interés en problemas asociados con el sobrepeso y la obesidad. Además, en conejos se ha observado que una infección experimental crónica con un parásito externo, el ácaro *Psoroptes cuniculi*, una disminución en el consumo voluntario y en el peso corporal (Hallal-Calleros *et al.* 2013), también en conejos en vida silvestre se sabe que el efecto de los helmintos disminuye la condición corporal, conejos silvestres con altas cargas parasitarias de *Mosgovoyia ctenoides* en el intestino mostraron una reducción en la condición corporal de los hospederos (Eira *et al.* 2007).

En la medicina orientada a los animales, específicamente en conejos, no existe una medida comparable a la IMC. Sin embargo, recientemente Sweet *et al.* (2013) propusieron un índice zoométrico, similar al IMC. En los resultados de este trabajo, en individuos obesos los parámetros que se ven afectados con mayor magnitud son el IMC y el índice zoométrico, además, esta alteración es más temprana que en los conejos con normopeso. Se ha sugerido que los parásitos causan efectos negativos en sus hospederos, porque eso implica un alto costo de energía para sus huéspedes (Jacobs y Zuk 2010), además de que la respuesta inmune crónica exige altos recursos metabólicos del huésped (Anderson *et al.* 1981). Los parásitos no solo evaden la respuesta inmune de sus huéspedes, sino que también modulan el entorno hormonal del huésped facilitando su establecimiento y reproducción (Escobedo *et al.* 2009). En la etapa larvaria del cestodo de *T. taeniformis* se observó en los niveles séricos de las hormonas

reguladoras del apetito, donde la leptina disminuyó y la grelina y el neuropéptido Y (Löhmus *et al.* 2012).

Se ha reportado que los agentes infecciosos pueden alterar el comportamiento; algunos cambios conductuales después de la infección son mediados por el huésped y otros son inducidos por el patógeno para facilitar la transmisión (Klein 2003). En el caso específico de *T. pisiformis*, es importante considerar que los cisticercos, metacéstodos o larvas, que se desarrollan principalmente en el peritoneo de los conejos, corresponden a la etapa infecciosa, por lo tanto, una disminución de la actividad locomotora en el conejo en un entorno natural favorecerá el proceso de captura por parte de un perro, zorro o coyote, aumentando las posibilidades de generar la fase adulta o tenia en el intestino. En el caso opuesto, cuando la actividad locomotora aumenta, las posibilidades de captura del conejo disminuirán evitando la continuación del ciclo parasitario. Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en este estudio, se propone que, en conejos con comorbilidad, obesidad e infección, a medida que su actividad locomotora disminuye en mayor medida, se facilita la transmisión del parásito. La disminución en la actividad locomotora a lo largo del experimento probablemente se deba a la habituación de los conejos en la arena donde se llevan a cabo las pruebas de comportamiento, teniendo menos necesidad de explorar el medio. Sin embargo, a pesar de la habituación progresiva, hay una clara disminución de esta conducta, causada tanto por la obesidad como por la infección.

El comportamiento exploratorio puede tener alguna relación con el nivel de apetito del individuo infectado, como se propuso anteriormente en *T. taeniformis*. Los cambios de comportamiento observados en este estudio coinciden con otros que han demostrado que cuando los conejos están infectados por parásitos, como el ácaro *P. cuniculi*, las conductas de actividad ambulatoria, exploratoria y la conducta de *chinning* disminuyen (Hallal-Calleros *et al.* 2013) y además en otro estudio el porcentaje de tiempo dedicado a echarse aumentó, y las conductas de acicalarse y beber agua redujeron cuando están infectados por cisticercosis por *T. pisiformis* (Betancourt-Alonso *et al.* 2011).



La conducta de marcaje “*chinning*” está asociado con el rango social y con el comportamiento sexual, ya que está relacionado con los cambios en los niveles séricos de testosterona y con dominancia (Mykytowycz 1962, Arteaga *et al.* 2008). La disminución observada en el comportamiento sexual se ha informado en otras infecciones por cestodos, específicamente durante la infección con cisticercosis por *T. crassiceps* en ratones. En este sentido, se ha documentado que cuando los ratones machos se infectan con cisticercos por *T. crassiceps* se produce un fenómeno de feminización, ocasionado por el incremento de estrógenos séricos y una disminución de los niveles de testosterona y tienen un comportamiento subordinado con mayor frecuencia y muestran una disminución en su comportamiento territorial y agresividad (Larralde *et al.* 1995); aunque los niveles de testosterona no se midieron en este estudio, las alteraciones en esta hormona podrían explicar en parte el hecho de que el *chinning* disminuye en mayor medida en los conejos infectados, ya sea de peso normal u obesos.

Los parámetros de la conducta sexual analizados en este estudio se vieron afectados por la infección a los 56 días de experimentación. Se observó una disminución en el número de eyaculados en conejos infectados con normopeso y con obesidad, además los intentos de monta y el periodo de latencia fueron mayores en conejos obesos infectados. La conducta sexual masculina en conejos en buena medida es regulada por la testosterona. Previamente se ha referido en ratones machos que fueron infectados con el metacéstodo de *T. crassiceps*, la disminución en la testosterona y un incremento en estrógenos séricos a las 6 semanas post infección (Morales *et al.* 1996). Además en otro estudio efectuado en ratas macho con una infección con el cestodo *T. taeniformis* se observó una disminución en el número de montas de un 30% vs. el grupo sin infectar (Rikihisa *et al.* 1985), los autores en ambos estudios proponen por una parte la existencia de feminización y por otra la disminución de testosterona como la causa en la disminución del número de montas, tomando en cuenta este contexto es probable que en el presente estudio exista tanto una disminución de testosterona como la presencia de feminización en los grupos que disminuyeron la frecuencia, sin embargo se requiere confirmarlo.

El tiempo de reacción es parte del comportamiento de la libido; anteriormente se informó que cuando el peso corporal aumenta el tiempo de reacción también, por lo tanto, se concluyó que el peso afecta la libido (Rodríguez-De Lara *et al.* 2015). Esta investigación, confirma lo descrito, ya que en conejos obesos el tiempo de reacción aumentó 7 veces con la infección y fue hasta 10 veces mayor en conejos infectados con obesidad, lo que también afecta el tiempo refractario (período de latencia) en este grupo. También se ha propuesto en bovinos que la infección natural con *Trypanosoma vivax* induce una disminución de la libido, sin embargo, en ese trabajo el tiempo de reacción de los animales no se midió, pero la libido se midió utilizando un método de escala categórica, mientras que los parámetros espermáticos como la concentración de espermática, la motilidad y la fuerza de los espermatozoides no se alteraron en los animales infectados (Bittar *et al.* 2015).

En este estudio la infección con huevos de *T. pisiformis* sobre la evaluación espermática en el volumen del eyaculado, la concentración espermática y el porcentaje de motilidad se mantuvieron similares al control. Los estudios sobre la comorbilidad de la obesidad y la cestodiasis en conejos son escasos, sin embargo, la investigación de la influencia del sobrepeso corporal en conejos machos mostró que este disminuye la fertilidad (Marco-Jiménez y Vicente 2017). En ratones la infección experimental con *T. crassiceps* mostró pérdidas en la histoarquitectura testicular y trastornos en el eyaculado (Larralde *et al.* 1995), estas diferencias están relacionadas con el modelo experimental, ya que la infección con *T. crassiceps* es masiva, lo que representa un modelo de infección más severo en el que se espera observar alteraciones más marcadas.

Es importante considerar que en la compleja interacción huésped parásito la relación parásitos y reproducción ha sido ya estudiada desde hace varios años y se ha propuesto que los parásitos son capaces de inducir la castración de sus huéspedes, que en este contexto es definida como la destrucción o alteración del tejido gonadal del hospedero (Noble y Noble 1971), esta condición de castración ha sido referida con mayor frecuencia en invertebrados, la castración en algunos de los casos inhibe completamente la reproducción del huésped o disminuye su capacidad reproductiva, en gran medida al

consumir la energía que el hospedero emplea en la reproducción y las actividades asociadas como son la conducta materna que puede ser construir un nido o la conducta sexual previa a la copula como es el cortejo (Fogelman *et al.*, 2009), en este sentido para vertebrados como el pez *Cyphocharax gilbert* que es parasitado con el crustáceo *Riggia paranensis*, se ha propuesto que el mecanismo está centrado en la disminución del 17  $\beta$ -estradiol y la testosterona en machos y hembras infectados, en este mismo estudio observaron que la hembras aumentaron de tamaño y de peso (Lima *et al.*, 2007). Tomando en cuenta lo anterior y respaldado en los hallazgos experimentales del presente estudio se propone, que la presencia del metacéstodo de *T. pisiformis* genera una estrategia de interacción huésped parasito encaminada a producir la castración parcial del huésped en la que existe una disminución en el número de montas, sin que otros parámetros como son la el volumen del eyaculado, la concentración espermática y el porcentaje de motilidad se vean afectados y que esta similitud guarda paralelismo con lo ya referido para otros vertebrados.

El efecto de la infección en el total de glóbulos rojos y blancos mostraron niveles sanguíneos fisiológicos normales en los conejos, sin embargo, se observó eosinofilia en conejos infectados y neutrofilia en infectados con obesidad; nuestras observaciones difieren de un estudio anterior donde informaron que los leucocitos aumentaron desde el día 7 después de la infección hasta el día 25 (Betancourt-Alonso *et al.*, 2011); las diferencias pueden estar relacionadas con las condiciones experimentales, al tiempo de muestreo, al tiempo de la infección y también el sexo de los conejos fue diferente. Se ha informado que hay eosinofilia en otras parasitosis en conejos. En el caso de infecciones con *Ascaris suum* se observaron cambios, en *Toxocara canis* y *Toxocara leonina* en leucocitos, eosinófilos y neutrófilos, y la eosinofilia más marcada se observó después de 2 o 3 semanas después de la infección, sin embargo, la intensidad de la reacción eosinofílica no estaba relacionada a la dosis infecciosa, y se informó una toxicidad más baja en la toxocariasis que en la ascariasis, utilizando en todos los casos una dosis similar de infección (Lukes 1985).

En este trabajo, la infección por huevos de *T. pisiformis* indujo cambios en el metabolismo de los lípidos, ya que hubo una disminución en el colesterol sérico tanto en el grupo infectado como en el obeso infectado, y se observó un aumento en los triglicéridos y VLDL en el grupo obeso. Estos resultados coinciden con los reportados en la infección con *S. mansoni*, una parasitosis que en ratones causa una reducción significativa en el perfil de lípidos en suero, cuya disminución fue reportada a diferentes metabolitos sintetizados por *S. mansoni*, argumentando que afectan el tejido hepático del huésped (Marzouki y Amin 1997). En el caso de los cestodos, se ha descrito que, en la etapa larvaria, *T. solium* y *T. crassiceps* pueden sintetizar andrógenos y estrógenos a través de la transformación de ciertos precursores causados por cambios en la actividad de las enzimas relacionadas (Romano *et al.* 2015). Además, en el caso de *T. crassiceps* se ha observado feminización en machos infectados (Zepeda *et al.* 2011). Algunos parásitos requieren o sintetizan lípidos, particularmente el colesterol y sus metabolitos (Bansal *et al.* 2005), la utilización de lípidos y del colesterol sérico del huésped por parte del parásito podría explicar la reducción de los niveles de colesterol en suero en conejos infectados con normopeso y obesos. Por otro lado, el aumento del tejido adiposo visceral está asociado con el contenido de triglicéridos del hígado (Korentblat *et al.* 2008), generando acumulación de lípidos en el citoplasma de los hepatocitos, y está asociado con un deterioro hepático progresivo y con diferentes grados de fibrosis hepática (Birkner *et al.* 2005), que respaldan el aumento de los triglicéridos en suero y el aumento del tejido graso acumulado en conejos obesos, sin embargo, las enzimas ALT y AST, que evidencian el funcionamiento hepático, no variaron en los 56 días post infección. En este estudio, se observó que el peso del hígado de los conejos era mayor en el grupo de obesos y en el grupo de infectados con obesidad en relación con el grupo de control, esta observación coincide con un trabajo previo en el que la dieta alta en grasas y el aumento de peso en conejos se asoció con la infiltración de lípidos en los hepatocitos (Mejía *et al.* 2015), sin embargo, el aumento en el peso del hígado fue proporcional al aumento en el peso corporal. La evaluación macroscópica realizada en los hígados mostró el 85% de los conejos con hígado graso en los grupos obesos e infectados con obesidad, mientras que en los grupos testigos e infectados con normopeso no se observaron cambios.

El cortisol es una hormona involucrada en la respuesta al estrés, cuya secreción prolongada o excesiva puede tener repercusiones fisiológicas en la respuesta inmune y en las funciones reproductivas (Barnard *et al.* 1998; Muehlenbein y Watts 2010). El aumento de cortisol sérico en conejos normopeso infectados con huevos de *T. pisiformis* coincide con lo observado previamente en conejos infectados con *Eimeria coecicola* (Metwaly *et al.* 2013), mientras que en conejos infestados crónicamente con *P. cuniculi*, el nivel de cortisol también tendió a aumentar (Hallal-Calleros *et al.* 2013). Estudios en pacientes obesos, resultaron que los niveles de cortisol en suero se mantenían normales (Tomlinson *et al.* 2007), coincidiendo con nuestra observación en los grupos obeso e infectado con obesidad, se mantuvieron en rangos fisiológicos normales.

La obesidad y la infección con los huevos de *T. pisiformis* aumentaron el peso de los testículos derecho e izquierdo, del mismo modo se observó un aumento en el peso de los testículos obtenidos de animales alimentados con la dieta alta en grasa. Sin embargo, este resultado contrasta con el obtenido en conejos pre púberes alimentados con una dieta alta en grasas, en la que no hubo aumento en el peso testicular en comparación con el grupo control (Mejía *et al.* 2015). Las diferencias observadas mostradas podrían deberse a la edad de los animales y el tiempo de alimentación con la dieta. Los cambios observados pueden reconocerse por el hecho de que el parásito junto con la obesidad podría modificar el entorno hormonal del huésped promoviendo la redistribución del tejido adiposo en los testículos, ya que se ha descrito que la etapa larvaria de *T. crassiceps* causa disminución de testosterona y aumento de estradiol (Larralde *et al.* 1995).

Durante la infección con *T. pisiformis*, las glándulas submandibulares tenían un peso más bajo, tanto en los infectados normopeso como en los obesos infectados. La función sexual y territorial de las glándulas depende de la cantidad de testosterona en suero en los machos (González-Mariscal *et al.* 1993), luego, los cambios en las glándulas submandibulares podrían atribuirse a modificaciones en los niveles de testosterona en suero. Los estudios con ratones infectados con *T. crassiceps* durante 8 semanas

disminuyeron la cantidad de testosterona sérica, inhibiendo el comportamiento sexual como resultado de cambios hormonales (Morales *et al.* 1996).

En este estudio, el tejido adiposo subcutáneo supra escapular y visceral aumentó en conejos infectados con obesidad y el tejido adiposo peri-testicular aumentó en conejos obesos infectados; estos resultados coinciden parcialmente con los obtenidos en un estudio en conejos alimentados con una dieta alta en grasas en la que se observó una distribución de tejido adiposo similar a este, lo que induce obesidad central y resistencia a la insulina (Zhao *et al.* 2007). Aunque la etiología de la obesidad es multifactorial, se ha sugerido que la infección con patógenos específicos puede conducir a un aumento de la adiposidad (Dhurandhar 2004; Greenway 2006). También se ha reportado, que Scrapie, una enfermedad neurodegenerativa priónica de cabras y ovejas, causa obesidad en ratones; la capacidad del prion de causar obesidad parece ser específica de la cepa (Kim *et al.* 1988).

Los cambios observados en la distribución del tejido adiposo en las diferentes circunstancias experimentales podrían contribuir a generar un ambiente más permisivo para el desarrollo del parásito, que implica cambios en el sistema inmunitario y endocrino, y a nivel conductual, favoreciendo la susceptibilidad a ser depredado. En liebres silvestres se ha informado que el establecimiento de la etapa larvaria de *T. pisiformis* presenta una correlación negativa con el IMC, medido a través de la grasa perirrenal y la capacidad del huésped para escapar del depredador (Alzaga 2008). Se ha propuesto que algunas parasitosis como los helmintos tienen un papel de inmunomodulador en el huésped, desarrollado como parte de la evolución conjunta huésped-parásito que resulta en un efecto protector contra estas enfermedades, pero hasta ahora los mecanismos moleculares involucrados no se han explicado completamente (Shea-Donohue *et al.* 2017) y la mayoría de los estudios experimentales que respaldan la idea se han realizado con nematodos que infectan previamente a la obesidad (Su *et al.* 2018).

En este estudio, los conejos obesos desarrollaron un mayor número de metacéstodos de *T. pisiformis*. En modelos animales y en humanos en los que se ha estudiado la

interacción entre la obesidad y las enfermedades infecciosas, se ha sugerido que la obesidad aumenta la susceptibilidad a la infección por bacterias, virus y protozoos (Torres *et al.* 2018), no hay estudios previos sobre cestodos. Los mecanismos por los cuales la obesidad facilita la infección no se conocen bien, en algunos estudios en ratones obesos infectados con *Klebsiella pneumoniae* (Mancuso *et al.* 2002) o con *Mycobacterium tuberculosis* (Wieland *et al.* 2005), se evidenció una respuesta inmune retardada contra el patógeno. Además de eso, la función fagocítica no fue eficiente para la exclusión del patógeno, lo que generó una mayor mortalidad.

Con respecto a la reducción de los granulomas hepáticos durante la infección en este trabajo, se ha propuesto que la migración de la larva en el huésped puede ser a través de tres rutas en el intestino delgado. El primero es a través del intestino que llega a la cavidad peritoneal y se convierte en cisticercos, el segundo es a través de los vasos linfáticos cerca del intestino para llegar al peritoneo, y el tercero, el que se ha sugerido más experimentalmente, las oncósferas pasan a través de la pared del intestino y llegan al hígado por circulación portal, donde algunos de ellos pueden encapsularse formando granulomas, pero otros pueden evadir la respuesta inmune y pasan a la circulación principal, estableciéndose principalmente en la cavidad peritoneal (Heath 1971). Por lo tanto, si se altera la inmunidad a nivel local en individuos obesos y se reduce la capacidad de generar granulomas, se permite el desarrollo de un mayor número de oncósferas que maduran en metacéstodos.

Este trabajo contribuye a la descripción de los efectos que la infección por céstodos tiene en un huésped natural como el conejo, en un escenario de comorbilidad en el que la obesidad converge con la infección, sobre los efectos que tiene en sobre la conducta, aspectos fisiológicos y productivos, que puede ser útil en unidades de producción de conejos para experimentación o para consumo humano. Otra utilidad de este trabajo es cuando se usa como un modelo de estudio en otras parasitosis por céstodos como *T. solium* que es una enfermedad presente en México y otros países de América Latina. Además, abre la posibilidad de estudiar si los antígenos del parásito podrían contribuir,

por ejemplo, a la reducción del colesterol sérico, constituyendo una opción terapéutica para controlar la obesidad en diferentes especies animales, incluidos los humanos.

## **CONCLUSIONES**

La infección con *T. pisiformis* altera la conducta, las características metabólicas en el conejo que impactan en la producción y el bienestar de los animales, y estas alteraciones se intensifican en condiciones de obesidad, aumentando la susceptibilidad a la infección.



## REFERENCIAS

- Alzaga, V., Vicente, J., Villauna, D., Acevedo, P., Casas, F., Gortazar, C. 2008. Body condition and parasite intensity correlates with escape capacity in Iberian hares (*Lepus granatensis*). *Behav Ecol Sociobiol.* 62:769-775.
- Anderson, P.H., Matthews, J.G., Berrett, 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.
- AMVA. American Veterinary Medical Association. Report of the AVMA panel on euthanasia. *J Am Vet Med Assoc.* 2001.
- Antic, V., Tempini, A., Montan, J.P. 1999. Serial Changes in Cardiovascular and Renal Function of Rabbits Ingesting a High-Fat, High-Calorie Diet. *Am. J Hypertens.* 12, 826–829.
- Arteaga, L., Bautista, A., Martínez-Gomez, M., Nicolás, L., Hudson, R. 2008. Scent marking, dominance and serum testosterone levels in male domestic rabbits. *Physiol Behav.* 94:510–5.
- Bansal, D., Bhatti, H.S., Sehgal, R. 2005. Role of cholesterol in parasitic infections. *Lipids Health Dis* 4:10.
- Barnard, C.J., Behnke, J.M., Gage, A.R., Brown, H., Smithurst, P.R. 1998. The role of parasite-induced immunodepression, rank and social environment in the modulation of behaviour and hormone concentration in male laboratory mice (*Mus musculus*). *Proc Biol Sci* 265(1397):693-701.
- Betancourt-Alonso, M. A., Orihuela, A., Aguirre, V., Vázquez, R., Flores-Pérez, I. 2011. Changes in behavior and physiological parameters associated with *Taenia psiformis* infection in rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) that may improve early detection of sick rabbits. *World Rabbit Sci.* 18: 21-30.
- Beyer, C., Velázquez, J., Larsson, K., Contreras, J.L. 1980. Androgen regulation of the motor copulatory pattern in the male New Zealand white rabbit. *Horm Behav.* 14: 179-190.
- Birkner, E., Kasperczyk, S., Kasperczyk, A., Zalejska-Fiolka, J., Zwirska-Korczala, K., Stawiarska-Pieta, B., Grucka-Mamczar, E. 2005. Metabolic and antioxidative changes

in liver steatosis induced by high-fat, low carbohydrate diet in rabbits. *J Physiol Pharmacol.* 56 (6) 45- 58.

Bittar, J.F., Bassi, P.B., Moura, D.M., Garcia, G.C., Martins-Filho, A., Vasconcelos, A.B., Costa-Silva, M.F., Barbosa, C.P., Araújo, M.S., Bittar, E.R. 2015. Evaluation of parameters related to libido and semen quality in Zebu bulls naturally infected with *Trypanosoma vivax*. *BMC Vet Res.* 11, 261.

Cardinali, R., Dal Bosco, A., Bonanno, A., Di Grigoli, A., Rebollar, P. G., Lorenzo, P. L., Castellini, C. 2007. Connection between body condition score, chemical characteristics of body and reproductive traits of rabbit does. *Livest. Sci.* 10.004.

Cheeke, P.R. 1986 Potentials of rabbit production in tropical and subtropical agricultural systems. *J Anim Sci.* 63:1581–1856.

Contreras, J.L., Beyer, C. 1979. A polygraphic analysis of mounting and ejaculation in the New Zealand white rabbit. *Physiol Behav.* 23, 939–943.

Dhurandhar, N.V. 2004. Contribution of pathogens in human obesity. *Drug News Perspect* 17:307-313.

Domínguez-Roldan, R., Pérez-Martínez, M., Rosetti, M.F., Arias-Hernández, D., Bernal-Fernández, G., Flores-Pérez, F.I., Hallal-Calleros, C. 2018. High frequency of *Taenia pisiformis* metacestodes and high sex-associated susceptibility to cysticercosis in naturally infected wild rabbits. *Parasitol Res.* 117, 2201.

Escobedo, G., López-Griego, L., Morales-Montor, J., 2009. Neuroimmunoendocrine modulation in the host by helminth parasites: A novel form of host-parasite coevolution? *Neuroimmunomodulation.* 16, 78-87.

Eira, C., Torres, J., Miguel, J., Vingada, J. 2007. The helminth parasites of the wild rabbit *Oryctolagus cuniculus* and their effect on host condition in Dunas de Mira, Portugal. *J Helminthol.* 81(3): 239-246.

el-Marzouki, Z.M., Amin, A.M. 1997. Changes in serum lipids of mice experimentally infected with *Schistosoma mansoni*. *J Egypt Soc Parasitol* 27(2):419–29.

Fausto, A.M., Morera, P., Margarit, R., Taddei, A.R. 2001. Sperm quality and reproductive traits in male offspring of female rabbits exposed to lindane (gamma-HCH) during pregnancy and lactation. *Reprod Nutr Dev.* 41(3), 217-25.

Fernandez-Riejós, P., Najib, S., Santos-Alvarez, J., Martín-Romero, C., Pérez-Pérez, A., González-Yanes, C., Sánchez-Margalet, V. 2010. Role of leptin in the activation of immune cells. *Mediators Inflamm.* 568343.

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

Flatt, R. E., Moses, R. W. 1975. Lesions of experimental cysticercosis in domestic rabbits. *Lab Anim Sc.* 25: 2: 162-167.

Fogelman, R.M., Kuris, A.M., Grutter, A.S. 2009. Parasitic castration of a vertebrate: Effect of the cymothoid isopod, *Anilocra apogonae*, on the five-lined cardinalfish, *Cheilodipterus quinquelineatus*. *Int J Parasitol.* 39(5):577-83.

Fuentes, V.O., Villagran, C., Navarro, J. 2004. Sexual behavior of male New Zealand white rabbits in an intensive production unit. *Anim Reprod Sci.* 80: 157-162.

German, A.J. 2006. The Growing Problem of Obesity in Dogs and Cats. *J Nutr.* 136 (71):1940S-1946S.

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.* 52:889–93.

González-Mariscal, G., Melo, A.I., Zavala, A., Chirino, R., Beyer, C. 1993. Sex steroid regulation of chin marking behavior in male New Zealand rabbits. *Physiol Behav* 54:1035–1040.

González-Mariscal, G., Alboneti, M.E., Cuamatzi, E., Beyer, C. 1997. Transitory inhibition of scent marking by copulation in male and female rabbits. *Anim. Behav.* 53: 323-333.

Greenway, F. 2006. Virus-induced obesity. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 290:R188-E189.

Guigas, B., Molofsky, A.B., 2015. A worm of one's own: how helminths modulate host adipose tissue function and metabolism. *Trends Parasitol.* 31(9), 435-41.

Hallal-Calleros, C., Morales-Montor, J. Orihuela-Trujillo, A., et al. 2016. *Taenia pisiformis* cysticercosis induces decreased prolificacy and increased progesterone levels in rabbits. *Vet Parasitol.* 229:50-53.

Hallal-Calleros, C., Morales-Montor, J., Vázquez, M. J. A., Hoffman, K. L., Nieto, R. 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*. 6:361.

Heath, D.D. 1971. The migration of oncospheres of *Taenia pisiformis*, *Taenia serialis* and *Echinococcus granulosus* within the intermediate host. *Int. J. Parasitol.* 1:145 - 152.

Hussaarts, L., García, T.N., van Beek, L., Heemskerk, M. M., Haeblerlein, S., van der Zon, G. C., Ozir-Fazalalikhani, A., Berbée, J. F. P., van Dijk, K. W., van Harmelen, V., Yazdanbakhsh, M., Guigas, B. 2015. Chronic helminth infection and helminth-derived egg antigens promote adipose tissue M2 macrophages and improve insulin sensitivity in obese mice. *The FASEB Journal*. 29:1-13.

I.R.R.G. International Rabbit Reproduction Group. 2005. Guidelines for the handling of rabbit bucks and semen. *World Rabbit Sci.* 13, 71-91.

Jacobs, A., Zuk, M. 2010. Parasites and sexual selection. *Encyclopedia of Animal Behavior*. 636-641.

Jiménez, P., Serrano-Meneses, M.A., Cuamatzi, E., González-Mariscal, G. 2012. Analysis of sexual behaviour in male rabbits across successive tests leading to sexual exhaustion. *World Rabbit Sc.*, 20(1):13-23.

Kim, Y.S., Carp, R.I., Callahan, S.M., Wisniewski, H.M. 1988. Adrenal involvement in scrapie-induced obesity. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 189:21-27.

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

Korenblat, K.M., Fabbrini, E., Mohammed, B.S., Klein, S. 2008. Liver, muscle, and adipose tissue insulin action is directly related to intrahepatic triglyceride content in obese subjects. *Gastroenterology*. 134(5):1369-1375.

Larralde, C., Morales, J., Terrazas, I., Govezensky, T., Romano, M. C. 1995. Sex hormones in changes induced by the parasite lead to feminization of the male host in murine *Taenia crassiceps* cysticercosis. *J. Steroid Biochem Mol Biol.* 52;575-580.

Lima, Neuza R. W., Azevedo, Juliana de S., Silva, Leonardo G. da, Dansa-Petretski, Marilvia. 2007. Parasitic castration, growth, and sex steroids in the freshwater bonefish *Cyphocharax gilbert* (Curimatidae) infested by *Riggia paranensis* (Cymothoidea). *Neotropical Ichthyology*, 5(4), 471-478.

- Löhmus, M., Moalem, S., Björklund, M. 2012. Leptin, a tool of parasites? *Biol. Lett.* 8(5), 849-52.
- Lukes, S. 1985. Changes in the white blood picture during experimental larval ascariasis, toxocariasis and toxascariasis. *Folia Parasitol (Praha)* 32(3):237-45.
- Marco-Jiménez, F., Vicente, J.S. 2017. Overweight in young males reduce fertility in rabbit model. *PLoS One.* 10;12(7):e0180679.
- Tomlinson, J.W., Sherlock, M., Hughes, B., Hughes, S.V., Kilvington, F., Bartlett, W., Courtney, R., Rejto, P., Carley, W., Stewart, P.M. 2007. Inhibition of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 activity in vivo limits glucocorticoid exposure to human adipose tissue and decreases lipolysis. *J Clin Endocrinol Metab.* 92(3): 857-64.
- Mancuso, P., Gottschalk, A., Phare, S.M., Peters-Golden, M., Lukacs, N.W., Huffnagle, G.B. 2002. Leptin-deficient mice exhibit impaired host defense in Gram-negative pneumonia. *J Immunol.* 168(8)4018-4024.
- McLaughlin, R.M., Fish, R.E. 1994. *Clinical Biochemistry and Hematology in Manning PJ, Ringler DH, Newcomer CE. The Biology of the Laboratory Rabbit (Second Edition), Academic Press, pages 111-127.*
- Mawby DI, Bartges JW, d'Avignon A, et al. 2004. Comparison of various methods for estimating body fat in dogs. *J Am Anim Hosp Assoc.* 40:109–14.
- Mejía H.N.G., Córdova, I.A., Aragón, H.J., Flores, P.F.I., Pérez-Martínez, M. 2015. Histomorphology of liver, testicle and body fat in farm rabbits fed with an obesogenic diet during the peripuberal period. *Int J Morphol.* 33(4):1371-1376.
- Metwaly, M.S., Dkhil, M.A., Gewik, M.M., Al-Ghamdy, A.O., Al-Quraishy, S. 2013. Induced metabolic disturbance and growth depression in rabbits infected with *Eimeria coecicola*. *Parasitol Res* 112: 3109.
- Melillo, A. 2007. Rabbit clinical pathology. *J. Exot. Pet Med.* 16, 135-145.
- Morales, J., Larralde, C., Arteaga, M., Govezensky, T. Romano, M. C., Morali, G. 1996. Inhibition of sexual behavior in male mice infected with *Taenia crassiceps* cysticer. *J. Parasitol.*, 82(5), 689-693.
- Morisse, J.P., Maurice, R. 1994. Welfare and the intensive production of rabbits. *Rev Sci Tech.* 13(1):131-52.

- Muehlenbein, M.P., Watts, D.P., 2010. The costs of dominance: testosterone, cortisol and intestinal parasites in wild male chimpanzees. *Biopsychosoc Med.* 9:4–21
- Mykutowycz, R. 1962. Territorial function of chin gland secretion in the rabbit, *Oryctolagus cuniculus* (L.) *Nature*, Lond. 193-199.
- Mykutowycz, R. 1965. Further observations on the territorial function and histology of the submandibular cutaneous (chin) glands in the rabbit, *Oryctolagus cuniculus* L. *Anim Behav.* 13:400–12.
- Noble E.R., Noble G.A. 1971. Parasitology, the biology of animal parasites. Lea and Febiger, Philadelphia, pp. 617
- NRC. 1997, Nutritional Requirements Codex, consultado en septiembre de 2015. [http://www.foedevarestyrelsen.dk/SiteCollectionDocuments/25\\_PDF\\_word\\_filer%20til%20download/07kontor/Maerkning/Codex%20guidelines%20nutrition%20and%20health%20claims.pdf](http://www.foedevarestyrelsen.dk/SiteCollectionDocuments/25_PDF_word_filer%20til%20download/07kontor/Maerkning/Codex%20guidelines%20nutrition%20and%20health%20claims.pdf). Last accessed February 2018.
- Nuñez, O. L., Bouda, J. 2007. Patología clínica veterinaria. UNAM, FMVZ. México. 16-17.
- Olefsky, J.M., Glass, C.K. 2010. Macrophages, inflammation, and insulin resistance. *Annu Rev Physio.* 72:219 –246.
- Pritt, S., Cohen, K., Sedlacek, H. 2012. Parasitic disease. In Suckow, M.A., Stevens, K.A., Wilson, R.P. (Eds.), *The laboratory rabbit, guinea pig, hamster, and other rodents*. Academic Press, pp. 440-441.
- Power, M., Schulkin, J. 2008. Sex differences in fat storage, fat metabolism, and the health risks from obesity: Possible evolutionary origins. *Brit J Nutr* 99(5):931-940.
- Rodríguez-De Lara, R., Fallas-López, M., García-Muñiz, J.G., Martínez-Hernández, P.A., Rangel-Santos, R., Maldonado-Siman, E., Cadena-Meneses, J.A. 2015. Sexual behavior and seminal characteristics of fertile mature New Zealand White male rabbits of different body weights. *Anim. Reprod. Sci.* 152, 90-8.
- Romano, M.C., Jiménez, P., Miranda-Brito, C., Valdez, R.A. 2015. Parasites and steroid hormones: corticosteroid and sex steroid synthesis, their role in the parasite physiology and development. *Front Neurosci.* 9:224.
- Rowley, I., and Mollison, B. C. 1985. Copulation in the wild rabbit, *Oryctolagus cuniculus*. *Behaviour.* 8, 81-84.

- Rikihisa, Y., Chin, L.Y., Fukaya, T. 1985. *Taenia taeniaeformis*: Inhibition of rat testosterone production by excretory-secretory product of the cultured metacestode. *Exp Parasitol.* 59(3), 390-97.
- Sagae, S.C., Menezes, E.F., Bonfleur, M.L., Vanzela, E.C., Zacharias, P., Lubaczeuski, C., Franci, C.R., Sanvitto, G.L. 2012. Early onset of obesity induces reproductive deficits in female rats. *Physiol Behav.* 105(5), 1104-11.
- Sarraf P., Frederich R. C., Turner E. M., Ma G., Jaskowiak N. T., Rivet D. J., Flier J. S., Lowell B. B., Fraker D. L., Alexander H. R. 1997. Multiple cytokines and acute inflammation raise mouse leptin levels: potential role in inflammatory anorexia. *J. Exp. Med.* 185, 171–175 10.1084/jem.185.1.171
- Shea-Donohue, T., Qin, B., Smith, A., 2017. Parasites, nutrition, immune responses and biology of metabolic tissues. *Parasite Immunol.* 39, e12422.
- Su, C.W., Chen, C.Y., Li, Y., Long, S.R., Massey, W., Kumar, D.V., Walker, W.A., Shi, H.N. 2018. Helminth infection protects against high fat diet-induced obesity via induction of alternatively activated macrophages. *Sci Rep.* 15;8(1):4607.
- Sweet, H., Pearson, A. J., Watson, P. J., German, A. J. 2013. A novel zoometric index for assessing body composition in adult rabbits. *Vet Record.* 173: 369.
- Washington, I.M., Hoosier, G.V. 2012. Clinical Biochemistry and Hematology in Suckow MA, Stevens KA, Wilson RP. The Laboratory Rabbit, Guinea Pig, Hamster, and Other Rodents, Academic Press, pages 57-116.
- Weary, D.M., Huzzey, J.M., von Keyserlingk, M.A. 2009. Board-invited review: Using behavior to predict and identify ill health in animals. *J Anim. Sci.* 87(2), 770-7.
- Wieland, C.W., Florquin, S., Chan, E.D., Leemans, J.C., Weijer, S., Verbon, A., Fantuzzi, G., van der Poll, T. 2005. Pulmonary Mycobacterium tuberculosis infection in leptin-deficient ob/ob mice. *Int Immunol.* 17: 1399–1408.
- Wilson, M. S., Taylor, M. D., Balic, A., Finney, C.A., Lamb, J.R., Maizels, R.M. 2005. Suppression of allergic airway inflammation by helminth-induced regulatory T cells. *J Exp Med.* 202:1199–1212.
- Yahya, R.S., Awad, S.I., Kizilbash, N., El-Baz, H.A., Atia, G., 2018. Enteric parasites can disturb leptin and adiponectin levels in children. *Arch. Med. Sci.* 14(1), 101-106.

Yang, Z., Grinchuk, V., Smith, A., Qin, B., Bohl, J., Sun, R., Notari, L., Zhang, Z., Sesaki, H., Urban, J.F., Shea-Donohue, T., Zhao, 2013. A. Parasitic Nematode-Induced Modulation of Body Weight and Associated Metabolic Dysfunction in Mouse Models of Obesity. *Infect Immun*. 81(6):1905–1914.

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., Yang, G. 2012. Annotation of the transcriptome from *Taenia pisiformis* and its comparative analysis with three Taeniidae species. *PLoS One*. 7(4):e32283.

Zepeda, N., Copitin, N., Solano, S., González, M., Fernández, A. M., Tato, P., Molinari, J. L., 2011. *Taenia crassiceps*: Infections of male mice lead to severe disruption of seminiferous tubule cells and increased apoptosis. *Exp Parasitol*. 127: 153–159.

Zhao, S., Chu, Y., Zhang, C., Lin, Y., Xu, K., Yang, P., Fan Liu, E. 2007. Diet-induced central obesity and insulin resistance in rabbits. *J Anim Physiol Anim Nutr*. 92(1):105-11.



## ANEXO 1

# Journal Pre-proof

Influence of the interaction between cysticercosis and obesity on rabbit behavior and productive parameters

David Arias-Hernández, Fernando Ivan Flores-Pérez, Rosa Domínguez-Roldan, Armida Báez-Saldaña, Ramón A. Carreon, Sara García-Jiménez, Claudia Hallal-Calleros



PII: S0304-4017(19)30245-6  
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2019.108964>  
Reference: VETPAR 108964

To appear in: *Veterinary Parasitology*

Received Date: 30 April 2019  
Revised Date: 17 October 2019  
Accepted Date: 18 October 2019

Please cite this article as: Arias-Hernández D, Flores-Pérez FI, Domínguez-Roldan R, Báez-Saldaña A, Carreon RA, García-Jiménez S, Hallal-Calleros C, Influence of the interaction between cysticercosis and obesity on rabbit behavior and productive parameters, *Veterinary Parasitology* (2019), doi: <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2019.108964>

This is a PDF file of an article that has undergone enhancements after acceptance, such as the addition of a cover page and metadata, and formatting for readability, but it is not yet the definitive version of record. This version will undergo additional copyediting, typesetting and review before it is published in its final form, but we are providing this version to give early visibility of the article. Please note that, during the production process, errors may be discovered which could affect the content, and all legal disclaimers that apply to the journal pertain.

© 2019 Published by Elsevier.

## **Influence of the interaction between cysticercosis and obesity on rabbit behavior and productive parameters**

David Arias-Hernández<sup>a</sup>, Fernando Ivan Flores-Pérez<sup>a</sup>, Rosa Domínguez-Roldan<sup>a</sup>, Armida Báez-Saldaña<sup>b</sup>, Ramón A. Carreon<sup>c</sup>, Sara García-Jiménez<sup>d\*</sup>, Claudia Hallal-Calleros<sup>a\*</sup>.

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

dariasher@hotmail.com, ivan.flores@uaem.mx, rosa.dguez88@gmail.com, saragarcia@uaem.mx, challalc@gmail.com.

<sup>b</sup>Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México. AP 70228, México DF 04510, México. armida@biomedicas.unam.mx.

<sup>c</sup>UMF 06, IMSS. Constitución y Olas Altas SN, Villa de Ahome, Sinaloa. CP 81318. ramon.carreon@imss.gob.mx.

\*Corresponding author (equal contribution): saragarcia@uaem.mx, challalc@gmail.com. Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Av. Universidad 1,001. Col. Chamilpa, 62209, Cuernavaca, Morelos, México.

## **Abstract**

Parasites induce behavioral changes in the host and obesity is a health problem affecting different animal species. Cysticercosis caused by *Taenia pisiformis* affects some behavior of rabbits and reproductive behavior of does. Rabbits do not escape from metabolic disorders, being long-live animals useful in breeding, research and companion animals. Here, we addressed the interaction between parasitosis and obesity, and studied how these conditions or the comorbidity affect behavioral and productive parameters in bucks infected with 3,000 *T. pisiformis* eggs. We found that the chronic infection reduced locomotor activity by 28.5% in obese, 18.5% in infected and 47% in obese-infected group (comorbid). The exploratory activity reduced by 42% in obese, 48% in infected and 68% in comorbid rabbits ( $P \leq 0.001$ ). Chinning was not affected by obesity, while infection decreased it by 25%. Behavioral reproductive parameters like response time, the mount latency and number of ejaculates were affected by infection and obesity. Furthermore, obesity seems to increase the parasite load promoting the formation of liver granulomas (16% granulomas compared with normal weight), with a higher number of cysticerci in obese animals (86% more than normal weight). Infection decreases body weight, body mass index and the zoometric index BW/LV in obese and normal weight rabbits. In conclusion, infection with *T. pisiformis* altered behavioral and productive parameters, and obesity magnifies the impact caused by the infection. Also, obesity leads to major susceptibility to infection with *T. pisiformis*.

**Keywords:** Animal behavior; parasitic infection; taeniasis; obesity; parasite load.

## 1. INTRODUCTION

The behavioral changes induced by parasites have been considered a strategy that favors the continuity of the parasitic cycle (Klein 2003); they are also a tool that can help the presumptive diagnosis of parasitosis, with the advantage that changes are prior to clinical infection (Weary et al. 2009). In the domestic rabbit it has been reported that ectoparasites such as the mite *Psoroptes cuniculi* (Hallal-Calleros et al. 2013) and endoparasites such as *Taenia pisiformis* (*T. pisiformis*) (Betancourt-Alonso et al. 2011), induce behavioral changes in specific behaviors of rabbits, such as chinning and rearing in the case of the mite, and in the case of the cestode there was a decrease in the frequency of grooming and the number of visits to the feeder and the trough.

In rabbits, *T. pisiformis* is the most frequent cestode and one of the more frequent parasites. Its biological life cycle involves the dog or fox as carriers of the adult stage and the rabbit or hares as a host of the metacestode larval stage. This parasitosis can induce lesions in the liver and the formation of granulomas (Flatt and Moses 1975; Pritt et al. 2012), in addition, it induces a reduction in prolificacy by approximately 40% in rabbit does, and it has been reported as a frequent, sex-associated parasite in wild rabbits (Hallal-Calleros et al. 2016; Domínguez-Roldan et al. 2018).

Behavioral changes in obesity have been scarcely studied, but it has been reported in rats that a cafeteria diet adversely affects reproduction by reducing the number of oocytes and prenatal follicles, besides altering the histoarchitecture in follicular layer thickness, while luteinizing hormone and progesterone were not detected in the pre-ovulatory stage in obese rats (Sagae et al. 2012). With respect to obesity on the behavior in rabbits, it has been reported that the males with greater weight have a decrease in the libido and the time that elapses between ejaculations is greater (Rodríguez-De Lara et al. 2015).

With regard to the relationship between obesity and parasites, it has been reported that parasites affect the metabolism of their hosts, specifically energetic metabolism, a condition that has been seen with interest because it represents a potential strategy of treatment and prevention against type two diabetes and obesity, besides proposing a change in the paradigm that parasites only

cause negative effects in their guests (Shea-Donohue et al. 2017). Yang et al. (2013) reported that mice fed a high-fat diet and infected with *Nippostrongylus brasiliensis*, had a decrease in body weight (BW) gain and adipose tissue mass, associated with increased glucose metabolism. At the hepatic level, the parasitosis induced a decrease in steatosis, in the expression of lipogenic enzymes, and an improvement of the glucose metabolism. Moreover, in mice fed an obesogenic diet and experimentally infected with the helminth *Schistosoma mansoni*, authors concluded that chronic infection protects against metabolic disorders, since it reduces the size of adipocytes, promotes peripheral glucose absorption and improves sensitivity to insulin (Hussaarts et al. 2015). It has also been speculated that parasites can protect against metabolic syndrome, based on the observation of an inverse correlation between the incidence of metabolic syndrome and helminth infections (Wiria et al. 2012).

In this paper, the interaction between cysticercosis and obesity is addressed, studying how these conditions affect the susceptibility to parasitic infection, behavioral, and productive parameters, in rabbits experimentally infected with eggs of *T. pisiformis*.

## **2. MATERIAL AND METHODS**

**2.1** Animal care and experimentation practices were followed with adherence to official Mexican regulations (NOM-062-ZOO-1999), which are in strict accordance with all applicable international, national, and institutional guidelines for the care and use of animals.

### **2.1.1 Animals and diet**

Twenty-eight male New Zealand rabbits, 4.5 month old with a weight of  $3.2\pm 0.2$  kg were kept in individual wire cages (60X90X40 cm) under farm conditions, with an average environmental temperature of  $19\pm 3^{\circ}$  C. Food was provided according to the experimental design of each group, and water ad libitum.

The 28 rabbits were randomly allocated to one of four groups (n=7). Two groups were kept normal, feeding them with a commercial pellet maintenance diet (Ganador®, Malta Cleyton, Mexico, minimum 16% protein, 3% fat and 17% fiber), providing 180 g of feed per day per rabbit (NRC 1997). The other two groups were induced to obesity through providing a high-calorie diet high in fat (Antic et al. 1999), consisting of the commercial maintenance diet, to which 5% of soybean oil and 5% of lard were added. This diet was provided ad libitum for eight weeks prior to infection and throughout the experiment.

### **2.2 Infection**

After eight weeks of diet, a normal-weight group and an obese group were infected with eggs of *T. pisiformis*. Proglottids of *T. pisiformis* were collected from the feces of an infected dog, washed, identified and maintained in accordance with the method described by Flatt and Moses (1975). Proglottids were mashed in saline solution using a scalpel. Viable eggs were quantified using a hemocytometer and rabbits were orally infected with 3,000 eggs by esophageal administration using a sterile plastic tube (Betancourt-Alonso et al. 2011).

### **2.3 Open field test**

Locomotor activity, chin marking behavior and exploratory activity were recorded every other day during ten minutes in a 120 cm × 120 cm open field arena made of wire mesh, placed on the floor

of a room contiguous to that in which the rabbits were housed. The arena was divided into 9 squares (40X40 cm) by lines painted on the floor. Locomotor activity (ambulation) was quantified as the number of times the rabbit crossed one of these lines during the observation period. Three stacked bricks previously scrubbed with water, were placed inside the arena, and the number of times the rabbit rubbed its chin against the bricks was quantified. Exploratory activity was quantified as the number of times the rabbit reared up on its hind legs (Hallal-Calleros et al. 2013).

#### **2.4 Reproductive behavior**

Fourteen ovariectomized rabbits induced to estrus with 10 µg of estradiol propionate intramuscularly 7 days before (Hudson et al. 1990) were used. The does were placed in cages with the bucks for 6 minutes (Fuentes et al. 2004). The reaction time of males was evaluated as the time period that elapses between the entrance of the rabbit to the cage and the first mount or attempt to mount (Rodríguez-De Lara et al. 2015). Attempts to mount were counted as the times that the buck place himself on the hind quarter of the doe without achieving penetration or ejaculation. Ejaculations were defined as the times that the male place himself on the doe and had an ejaculation, manifested by the characteristic behavior that includes rapid pelvic movements with loss of balance, falling to the side or back (Contreras and Beyer 1979). Latency was evaluated as the time interval between a mount with ejaculation and the next mount with or without ejaculation (Fuentes et al. 2004).

#### **2.5 Semen collection**

The semen of the rabbits was collected using an artificial vagina; a rabbit doe was introduced in the cage of the buck, the operator held the underneath the rabbit artificial vagina provided with a graduated collection tube at 39° C, until obtaining the semen (IRRG 2005). The volume of semen was determined directly in the graduated tube connected to the artificial vagina. The total number of spermatozoid per ejaculate was obtained by counting them in the fresh semen diluted 1:100 in 3% sodium chloride solution, in a Neubauer chamber (Fausto et al. 2001). Spermatozoid motility was determined by placing 10 µL of semen on a slide and observing 200 sperm under a

microscope, assigning a value of 0 if the sperm had no mobility, 25 non-progressive mobility, 50 slow progressive mobility, 75 progressive mobility and 100 fast progressive mobility (WHO 2010).

## **2.6 Body weight, body mass index and Zoometric index**

Body weight (BW) was measured weekly with a digital scale during the entire experiment.

The body mass index (BMI) was obtained dividing the BW by the distance from the dorsal border of the arm to the distal phalanx of the thoracic limb (BW/DFL). The zoometric index (ZI) was obtained by dividing the BW between the vertebral length (VL), measured as the distance from the occiput to the sacral-caudal junction, following the curvature of the vertebral spine, according to previous studies in rabbits referred by Sweet et al. (2013).

## **2.7 Blood glucose**

Every two weeks, after 12 hours of fasting, a drop of blood was obtained from the marginal vein of the ear, immediately measuring blood glucose levels with a glucometer (Contour<sup>TM</sup>TS®, Bayer).

## **2.8 Parasite load**

At eight weeks post infection the peritoneal cavity, mesentery, liver and spleen were inspected and the number of cysticerci and granulomes found in humanely sacrificed rabbits were counted (Betancourt-Alonso et al. 2011). Sacrifice was carried out with a lethal dose of pentobarbital (100 mg/kg) in rabbits previously anesthetized with xylazine/ketamine (35/5 mg/kg) (AVMA 2001).

## **2.9 Statistical analysis**

Prior to the infection, the effect of the diet over 8 weeks on the weight was compared with the Student t-test. For locomotor activity, chin marking behavior and exploratory activity the differences were established obtaining the total values of the analyzed variables and compared with an ANOVA test, while the weekly data was compared between groups using a 2-way repeated measures mixed model approach (groups as the treatment factor and weeks as the repeated factor), followed by a multiple Tukey's test; and for the comparison over time with respect to the beginning of the infection a multiple Student t-test was used. For the reproductive variables response time, mounting attempts, latency period, number of ejaculates and spermatobioscopy



an ANOVA test was used. To establish differences during 8 weeks post infection on the variables BW, BMI and ZI, we used a 2-way repeated measures mixed model approach (groups as the treatment factor and weeks as the repeated factor), followed by a multiple Tukey's test; and for the comparison in time with respect to the beginning of the infection in the same group we used the multiple Student t-test. To establish differences between the number of granulomas the Mann Whitney test was used, and to compare the number of metacestodes the Student t-test. Blood glucose concentrations were compared in the post-infection period by comparing the control group vs the three groups with a 2-way repeated measures mixed model approach (groups as the treatment factor and weeks as the repeated factor), followed by a multiple Tukey's test. All data are presented as the mean $\pm$ SEM, and significance was considered with a  $P\leq 0.05$  (Bate and Clark 2014). The statistical software in vivo stat 3.7 was used.

### **3. RESULTS**

#### **3.1 Induction of obesity in rabbits**

A batch of 28 males ( $3.2\pm 0.02$ ) was randomly divided into two groups. One of the groups was fed with a maintenance diet, reaching a weight of  $3.45\pm 0.03$  after eight weeks, while the group fed with an obesogenic diet reached a weight of  $4.2\pm 0.04$  kg (\*\*\*\* $P\leq 0.0001$ ).

#### **3.2 Open field test**

##### **3.2.1 Locomotor activity**

We observed that obesity induced a decrease of about 22% in the locomotor activity of obese rabbits, compared with normal weight rabbits (prior to infection,  $P\leq 0.05$ , fig. 1a). Infection with *T. pisiformis* reduced locomotor activity by 18.5% compared with the control group ( $P\leq 0.05$ ), with a significant decrease observed at weeks 15 and 16 post-infection (Fig. 1b, c). Obesity decreased locomotor activity by 28% vs the control group ( $P\leq 0.01$ ); this decrease was observed from week 6 post-infection and until the end of the experiment, week 16 (Figs. 1b, d). In obese-infected rabbits, the decrease in locomotor activity was 47% vs. the control group (Fig 1b,  $P\leq 0.01$ ); the decrease was observed from week 5 and remained until week 16. The infection caused the decrease in locomotor activity late and to a lesser extent in relation to obesity and obesity-infection comorbidity. The co-morbid group presented a greater and earlier decrease in locomotive activity, and it was sustained over time (Fig. 1e).

##### **3.2.2 Exploratory activity**

Obesity induced a 29% reduction in exploratory behavior compared with the control group, previous to infection (Fig. 2a,  $P\leq 0.05$ ), and the infection caused a 48% decrease (Fig. 2b,  $P\leq 0.001$ ). The highest decrease was recorded at week 16 (Fig. 2c). After infection, obesity decreased a 42% in exploratory activity (Fig. 2b,  $P\leq 0.01$ ), observed from week 8 and until week 16. At the end of the experiment, exploratory behavior decreased by 61% compared with the control group (Fig. 2d). With the comorbidity obesity-infection, the decrease of locomotor activity

was similar (62%,  $P \leq 0.0001$ ). The weekly mean of rearings in the obese-infected group ranged from 1.7 to 3.8, while in control group it was and from 5.5 to 9.5 (Fig. 2e).

### 3.2.3 Chin marking behavior

The behavior of chin marking was not affected by obesity (Fig. 3a and 3d,  $P \geq 0.05$ ), however, the infection reduced chinning behavior by 28% (Fig. 3b,  $P \leq 0.05$ ), practically from the beginning of the infection until week 16, in which a 33% decrease was observed compared with the control group (Fig. 3c). In the obese-infected group there was a 25% decrease in chinning behavior from the beginning of the infection (Fig. 3b,  $P \leq 0.05$ ) and a 41% decrease at week 16, compared with the control group (Fig. 3e). Notably, the infection reduces the chinning behavior in a similar manner to the comorbidity infection-obesity, without a notorious effect of obesity.

### 3.3 Reproductive behavior

The reproductive parameters analyzed were affected by obesity and by infection (Fig. 4). In the response time (first mounting attempt) an additive effect of the infection and obesity was observed, since, while the infection itself induced an increase in the response time of 2.5 times (9.9 vs 24.8 seconds  $P > 0.05$ ) and obesity itself induced an increase of 7 times (9.9 vs 71 seconds,  $P \leq 0.0001$ ), the co-morbidly induced an increase of 10 times (9.9 vs 101.1 seconds,  $P \leq 0.0001$ ) (Fig. 4a). Mount attempts were not affected by the infection itself, and although with obesity and the comorbidity obesity-infection a significant decrease is observed, this change is modest (13 and 23% decrease, respectively  $P \leq 0.05$ ) (Fig. 4b). The period of latency (time between one mount and another) is observed altered only in obese-infected animals, with an increase in time of 47 seconds compared with the control group (Fig. 4c,  $P \leq 0.01$ ). In the number of ejaculates an impact of the infection is observed, decreasing by 42% (from 2.37 to 1.37 times,  $P \leq 0.001$ ), whereas in the obese group it decreased 24% (from 2.37 to 1.8 times) and in obese-infected 47.3% (from 2.37 to 1.25 times,  $P \leq$ ) (Fig. 4d).

Spermatobioscopic parameters at weeks 0, 4 and 8 post-infection did not show differences between groups (volume of ejaculate, sperm concentration and sperm motility). At week eight, the

values of volume of semen were  $0.63\pm 0.03$  for control group,  $0.67\pm 0.04$  for infected,  $0.70\pm 0.04$  for obese and  $0.70\pm 0.04$  for infected-obese ( $P=0.710$ ). For sperm concentration, the values were  $559\pm 7.8$ ,  $547\pm 10.4$ ,  $542\pm 8.3$ ,  $546\pm 7.9$  for control, infected, obese and infected-obese, respectively ( $P=0.316$ ). Percentage of motility was  $84.2\pm 2$ ,  $85.7\pm 1.9$ ,  $85.2\pm 2$ ,  $83.3\pm 1.9$  for control, infected, obese and infected-obese, respectively ( $P=0.053$ ).

### **3.4 Body weight, body mass index and zoometric index**

Comparing the weight gain dependent on the infection (control Vs infected, and obese vs obese-infected), in the normal-weight animals it was observed a gain of 120 grams less than control group in weeks 6, 7 and 8 (Control Vs infected,  $P\leq 0.0001$ ). The obese-infected group, starting at week 1, had a lower weight compared with the obese group that was not infected ( $P\leq 0.001$ ), observing that this difference was maintained in the subsequent weeks, with a gain of 230 grams less in those infected at week 8 (Fig. 5a). Our results show an affectation in the weight gain induced by the infection that represents 3.3% of the total weight in normal animals and 4.7% in obese animals.

Analyzing the BW over time in a same group, it was noted that from the infection (week zero, Fig. 5a), in the control group there was an increase of weight since the second week ( $P\leq 0.05$ ), achieving an increase of 6% at week 8 post infection ( $P\leq 0.0001$ ) compared with the initial weight (week zero). An increase in BW since week 3 ( $P\leq 0.05$ ) was observed in the infected group, and in week 8 they achieved an increase of just 3% compared with the initial weight ( $P\leq 0.05$ ), showing that infection induced a delay of a week in the weight gain and a 3% less regarding to the control group. The weight in the obese group increased since week 2 ( $P\leq 0.01$ ), reaching a 5% more at week 8 ( $P\leq 0.0001$ ) compared with the initial weight (week zero). In the obese-infected group, the weight gain was observed from week 6 ( $P> 0.05$ ), and in week 8 it reached just 2% more compared with the initial weight ( $P\leq 0.05$ ) (Fig. 5a). Thus, the infection affects weight gain over time, both in normal weight and in obese animals, achieving an increase of 50% less than the observed in non-infected animals. The BMI (Fig. 5b) and the ZI (Fig. 5c) did not change through the time in any of

the control, infected or obese-infected groups. In the obese group, both indices were higher in week 7 ( $P \leq 0.001$ ) and BMI increased also in week 8 ( $P \leq 0.05$ ) compared with the week zero. The differences between groups dependent on the infection (control vs Infected, and obese vs obese-infected) were observed at week three and all the subsequent weeks (Figs. 5b and c). Serum glucose was monitored, without alterations suggestive of diabetes induced by the diet (Fig. 6).

### **3.5 Parasite load**

At necropsy (8 weeks post-infection), the number of metacestodes was increased by obesity (44 vs 82), being  $6.28 \pm 1.1$  per rabbit compared with  $11.7 \pm 3.1$  in non-obese rabbits ( $P = 0.0231$ ). In contrast, the number of hepatic granulomes was reduced to 4 in the Obese-infected group compared with the 25 that were observed in the infected group ( $P = 0.0361$ ). In the control and obese groups, no metacestodes were found. In conclusion, obese animals develop 86% more metacestodes of *T. pisiformis* than normal-weight animals and only 16% of granulomas with regard to normal weight animals.

#### 4. DISCUSSION

The behavioral changes observed coincide with others that have shown that when rabbits are infected by parasites, such as the mite *P. cuniculi*, ambulatory, exploratory and chinning activity behaviors are diminished (Hallal-Calleros et al. 2013) and when they are infected with cysticercosis by *T. pisiformis*, the percentage of time spent lying down, grooming and drinking water are altered (Betancourt-Alonso et al. 2011).

In the specific case of *T. pisiformis* it is important to consider that the metacestode are the infective stage, thus, a decrease in locomotor activity in the rabbit in a natural environment will favor the capture process by a dog, fox or coyote, increasing the chances of generating the adult phase or taenia in the intestine and the continuation of the parasitic cycle. Then, in rabbits with the comorbidity obesity and infection, where the locomotor activity decreases, the transmission of the parasite can be facilitated.

The decrease in the number of rearings through the time is probably due to the habituation of the rabbit to the arena where the behavioral tests are performed, having less need to explore the environment. However, despite the progressive habituation, there is a decrease on this behavior, caused both by obesity and infection.

The behavior of chin marking is associated with social rank and with sexual behavior, since it is related to changes in serum testosterone levels and with dominance (Mykityowycz 1962; Arteaga et al. 2008). The observed decrease in chinning and altered sexual behavior in our work, coincides with diminution of sexual behavior reported in other cestode infections, specifically during infection with *T. crassiceps* cysticerci in mice, where testosterone levels are diminished (Larralde et al. 1995). Although testosterone levels were not measured in this study, alterations of this hormone could partially explain the fact that chinning and sexual behavior decreases to a greater degree in those rabbits that are infected, either normal weight or obese.

The decrease in the number of mounts coincides with a study in mice infected with *T. crassiceps* metacestodes. At 6 weeks after infection, they observed changes in the number of mounts and

other sexual behaviors of the male, including disorders in the ejaculation and hormonal changes that resulted in a process of feminization (Morales et al. 1996). The spermatic alterations differ with our work, since we did not observe disorders in the ejaculate. These differences may be related to the experimental model, since infection with *T. crassiceps* is massive, representing a more severe infection model in which it is expected to observe more marked alterations, while in rabbits, our infection model is very similar to that occurring naturally. Another study in male rats infected with larvae of *T. taeniaeformis* reported a lower rate of mounts (29%) when compared with Control group at month five post-infection, attributing it to a decrease in serum testosterone (Rikihisa et al. 1985). On the other hand, the reaction time is part of the libido behavior.

In obese rabbits the reaction time increased 7 times with infection and it was up to 10 times higher in obese-infected rabbits, also affecting the refractory time (latency period) in this group. Previously, it was reported that the BW increases the reaction time, therefore it was concluded that the weight affects the libido (Rodríguez-De Lara et al. 2015). Also it has been proposed in cattle that the natural infection with *Trypanosoma vivax* induces a decrease in libido (Bittar et al. 2015), however, in that work the reaction time of the animals was not quantified, but the libido was measured using a categorical scale. The infection with *T. pisiformis* did not modify the volume of the ejaculate, sperm concentration or percentage of motility. Similarly, *Trypanosoma vivax* infection did not modified the sperm parameters such as sperm concentration, motility and sperm strength in cattle (Bittar et al. 2015). It was also mentioned that the spermatic volume increased in the infected animals.

The increased susceptibility to infection caused by obesity may be related to the diminished immune response (Hegde and Dhurandhar 2013), thus, retaining less eggs via the portal circulation and allowing the development of more cysticerci. We observed a reduction of hepatic granulomas, and it has been proposed that the migration of the eggs into the host can be through three routes in the small intestine. The first is through the intestine reaching the peritoneal cavity and developing to cysticerci, the second is through the lymphatic vessels near the intestine to

reach the peritoneum, and the third, the one proposing that has oncospheres pass through the wall of the intestine and reach the liver by portal circulation, where some of them can be encapsulated forming granulomas, but others can evade the immune response and they pass to the main circulation, establishing mainly in the peritoneal cavity (Heath 1971). In humans and in obese mice there is a decrease in the cells associated with Th2 immune response and an increase in cells associated with Th1 response inducing the characteristic stage of low grade chronic inflammation (Guigas and Molofsky 2015). Thus, if immunity at the local level in obese individuals is altered and the ability to generate granulomas is reduced, the development of a greater number of oncospheres maturing to metacestodes is allowed, as we observed.

In animal-oriented medicine, specifically in rabbits, there is no measure comparable to the IMC. However, recently Sweet et al. (2013) proposed a ZI, similar to the BMI calculated through the formula  $BW/LV$ ; in our work, it was observed that the BW, the BMI and the ZI behaved similarly in the experimental groups. Experimental infection with *T. pisiformis* eggs in normal weight individuals affects BW, while in obese individuals, the parameters that are affected with greater magnitude are the BMI and the ZI, in addition, this alteration is more early than in normal weight. Gastrointestinal parasites that infect children, induce a negative correlation between the hormone leptin and the body mass index, unlike what happens in non-infected patients where this correlation is positive (Yahya et al. 2018); an increase in leptin expression and a decrease in adiponectin were also observed in pediatric patients infected with *E. histolytica* and *Strongyloides*. In addition, the double infection with *E. histolytica* and *Giardia* caused the greatest increase in leptin, suggesting that the lack of regulation of these two hormones causes alteration in the intestinal absorption of some nutrients, thus altering the rate of body mass leading to anorexia. We did not record the voluntary intake, but in rabbits infected with the mite *Psoroptes cuniculi*, it was observed a decrease in voluntary consumption and in BW (Hallal-Calleros et al. 2013). Future research should elucidate the mechanisms by which this phenomenon occurs. As well as



the productive interest in animals, may be of interest in problems associated with overweight and obesity.

#### **4. CONCLUSIONS**

In this work we conclude that obesity magnifies altered behavior and increase parasite load and BW that are caused by infection with *T. pisiformis*.

**Acknowledgements:** DAH and RDR acknowledge the PhD fellowships 492304 and 273755 received by Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. Authors acknowledge the technical support received from Claudia A. Garay Canales. This study was partially supported by the Agreement UAEM-UNAM (42467-2177-8-IX-15), awarded to FIFP.

**Competing interest:** The authors declare that they have no conflict of interest

## REFERENCES

- Antic, V., Tempini, A., Montan, J.P., 1999. Serial Changes in Cardiovascular and Renal Function of Rabbits Ingesting a High-Fat, High-Calorie Diet. *Am. J. Hypertens.* 12, 826–829.
- Arteaga, L., Bautista, A., Martínez-Gómez, M., Nicolás, L., Hudson, R., 2008. Scent marking, dominance and serum testosterone levels in male domestic rabbits. *Physiol. Behav.* 94, 510–5.
- Bach, A.C., Ingenbleek, Y., Frey, A., 1996. The usefulness of dietary medium chain triglycerides in body weight control: fact or fancy? *J. Lipid. Res.* 37, 708-726.
- Bate, S.T., Clark. R.A., 2014. *The design and statistical analysis of animal experiments.* Cambridge University Press.
- Betancourt-Alonso, M.A., Orihuela, A., Aguirre, V., Vázquez, R., Flores-Pérez, I., 2011. Changes in behavioral and physiological parameters associated with *Taenia psiformis* infection in rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) that may improve early detection of sick rabbits. *World Rabbit Sci.* 18, 21-30.
- Bittar, J.F., Bassi, P.B., Moura, D.M., Garcia, G.C., Martins-Filho, A., Vasconcelos, A.B., Costa-Silva, M.F., Barbosa, C.P., Araújo, M.S., Bittar, E.R., 2015. Evaluation of parameters related to libido and semen quality in Zebu bulls naturally infected with *Trypanosoma vivax*. *B.M.C. Vet. Res.* 11, 261.
- Churchill, U., Ward, E., 2016. *Veterinary clinics of North America: Small Animal Practice* p.p. 899-911.
- Contreras, J.L., Beyer, C., 1979. A polygraphic analysis of mounting and ejaculation in the New Zealand white rabbit. *Physiol. Behav.* 23, 939–943.
- Domínguez-Roldan, R., Pérez-Martínez, M., Rosetti, M.F., Arias-Hernández, D., Bernal-Fernández, G., Flores-Pérez, F.I., Hallal-Calleros, C., 2018. High frequency of *Taenia pisiformis* metacestodes and high sex-associated susceptibility to cysticercosis in naturally infected wild rabbits. *Parasitol. Res.* 117, 2201.
- Eussen, B.G.M., Schaveling, J., Dragt, M.J., Blomme. R.J., 2017. Stimulating collaboration between human and veterinary health care professionals. *B.M.C. Vet. Res.* 13, 174.

Fausto, A.M., Morera, P., Margarit, R., Taddei, A.R., 2001. Sperm quality and reproductive traits in male offspring of female rabbits exposed to lindane (gamma-HCH) during pregnancy and lactation. *Reprod. Nutr. Dev.* 41(3), 217-25

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

Flatt, R., Moses, R., 1975. Lesions of experimental cisticercosis in domestic rabbits. *Lab Anim. Sci.* 25,162-167.

Fuentes, V.O., Villagran, C., Navarro, J., 2004. Sexual behavior of male New Zealand white rabbits in an intensive production unit. *Anim. Reprod. Sci.* 80, 157-162.

Guigas, B., Molofsky, A.B., 2015. A worm of one's own: how helminths modulate host adipose tissue function and metabolism. *Trends Parasitol.* 31(9), 435-41.

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, 361.

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

Heath, D.D., 1971. The migration of oncosphere of *Taenia pisiformis*, *T. serialis* and *Echinococcus granulosus* within the intermediate host. *Int. J. Parasitol* 1(145), 152.

Hegde, V., Dhurandhar, N.V., 2013. Microbes and obesity-interrelationship between infection, adipose tissue and the immune system. *Clin. Microbiol. Infect.* 19(4), 314-20.

Hotez, P.J., Herricks, J.R., 2015. Impact of the neglected tropical diseases on human development in the Organisation of Islamic Cooperation Nations. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 9(11), e0003782.

Hudson, R., González-Mariscal G., Beyer, C., 1990. Chin-marking behavior, sexual receptivity, and pheromone emission in steroid-treated ovariectomized rabbits. *Horm. Behav.* 24, 1-13.

Hussaarts, L., García. T.N., van Beek, L., Heemskerk, M.M., Haerberlein, S., van der Zon G.C., Ozir-Fazalalikhhan, A., Berbée, J.F.P., van Dijk, K.W., van Harmelen, V., Yazdanbakhsh, M., Guigas, B., 2015. Chronic helminth infection and helminth-derived egg antigens promote adipose tissue M2 macrophages and improve insulin sensitivity in obese mice. *The FASEB J.* 29, 1-13.

I.R.R.G. International Rabbit Reproduction Group, 2005. Guidelines for the handling of rabbit bucks and semen. *World Rabbit Sci.* 13, 71-91.

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

Larralde, C., Morales, J., Terrazas, I., Govezensky, T., Romano, M.C., 1995. Sex hormones in changes induced by the parasite lead to feminization of the male host in murine *Taenia crassiceps* cysticercosis. *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* 52, 575-580.

Melillo, A., 2007. Rabbit clinical pathology. *J. Exot. Pet Med.* 16, 135-145.

Morales, J., Larralde, C., Arteaga, M., Govezensky, T., Romano, M.C., Morali, G., 1996. Inhibition of sexual behavior in male mice infected with *Taenia crassiceps* cysticerci. *J. Parasitol.* 82, 689–793.

Mykytowycz, R., 1962. Territorial function of chin gland secretion in the rabbit, *Oryctolagus cuniculus(L)*. *Nature.*193-199.

N.R.C. Nutritional Requeriments Codex, 1997.  
[http://www.foedevarestyrelsen.dk/SiteCollectionDocuments/25\\_PDF\\_word\\_filer%20til%20download/07kontor/Maerkning/Codex%20guidelines%20nutrition%20and%20health%20claims.pdf](http://www.foedevarestyrelsen.dk/SiteCollectionDocuments/25_PDF_word_filer%20til%20download/07kontor/Maerkning/Codex%20guidelines%20nutrition%20and%20health%20claims.pdf).  
 Last accessed February 2018.

Oxley, J.A., Previti, A., Alibrandi, A., Briefer, E.F., Passantino, A. 2015. A preliminary internet survey of pet rabbit owners' characteristics. *World Rabbit Sci.* 23, 289-293.

Pritt, S., Cohen, K., Sedlacek, H., 2012. Parasitic disease. In Suckow, M.A., Stevens, K.A., Wilson, R.P. (Eds.), *The laboratory rabbit, guinea pig, hamster, and other rodents.* Academic Press, pp. 440-441.

Rikihisa, Y., Chin, L.Y., Fukaya, T., 1985. *Taenia taeniaeformis*: Inhibition of rat testosterone production by excretory-secretory product of the cultured metacestode. *Exp. Parasitol.* 59(3), 390-97.

Rodríguez-De Lara, R., Fallas-López, M., García-Muñiz, J.G., Martínez-Hernández, P.A., Rangel-Santos, R., Maldonado-Siman, E., Cadena-Meneses, J.A., 2015. Sexual behavior and seminal characteristics of fertile mature New Zealand White male rabbits of different body weights. *Anim. Reprod. Sci.* 152, 90-8

Sagae, S.C., Menezes, E.F., Bonfleur, M.L., Vanzela, E.C., Zacharias, P., Lubaczeuski, C., Franci, C.R., Sanvitto, G.L., 2012. Early onset of obesity induces reproductive deficits in female rats. *Physiol. Behav.* 105(5), 1104-11.

Shea-Donohue, T., Qin, B., Smith, A., 2017. Parasites, nutrition, immune responses and biology of metabolic tissues. *Parasite. Immunol.* 39, e12422.

Sweet, H., Pearson, A.J., Watson, P.J., German, A.J., 2013. A novel zoometric index for assessing body composition in adult rabbits. *Vet. Rec.* 173, 369.

Weary, D.M., Huzzey, J.M., von Keyserlingk, M.A., 2009. Board-invited review: Using behavior to predict and identify ill health in animals. *J. Anim. Sci.* 87(2), 770-7.

Wiria, A.E., Djuardi, Y., Supali, T., Sartono, E., Yazdanbakhsh, M., 2012. Helminth infection in populations undergoing epidemiological transition: a friend or foe? *Semin. Immunopathol.* 34(6), 889-901.

W. H. O. World health Organization, 2010. Laboratory manual for the Examination and processing of human semen. 5 ed. p. 22,34. Last consulted July 28<sup>th</sup> 2018. [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44261/1/9789241547789\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44261/1/9789241547789_eng.pdf). Last accessed February 2018.

Worley, D.E., 1974. Quantitative studies on the migration and development of *Taenia pisiformis* larvae in laboratory rabbits. *Lab. Anim. Sci.* 2, 517-22.

Yahya, R.S., Awad, S.I., Kizilbash, N., El-Baz, H.A., Atia, G., 2018. Enteric parasites can disturb leptin and adiponectin levels in children. *Arch. Med. Sci.* 14(1), 101-106.

## FIGURE CAPTIONS

**Figure 1. Locomotor activity in rabbits is affected by obesity and by infection with *T. pisiformis* eggs.** Total locomotor activity during 16 weeks, comparison Control Vs Infected, Obese and Obese-infected. Brackets indicate comparison between groups, mean±SEM (\*P≤0.05, \*\* P≤0.01). Locomotor activity through eight weeks pre-infection (a) and eight weeks post-infection (b) in Control and Infected (c), Obese (d) or Obese-infected rabbits (e). Mean±SEM (\*P≤0.05, \*\* P≤0.01, \*\*\* P≤0.001).

**Figure 2. Exploratory activity in rabbits is affected by obesity and by infection with *T. pisiformis* eggs.** Total rearing during 16 weeks, Comparison Control Vs Infected, Obese and Obese-infected. Mean±SEM (\*P≤0.05, \*\* P≤0.01). Rearing through eight weeks pre-infection (a) and eight weeks post-infection (b) in Control and Infected (c), Obese (d) or Obese-infected rabbits (e). Mean±SEM (\*P≤0.05, \*\* P≤0.01, \*\*\* P≤0.001).

**Figure 3. Chin marking behavior is affected by obesity and by infection with *T. pisiformis* eggs.** Total chinning during 16 weeks, Comparison Control Vs Infected, Obese and Obese-infected. Mean±SEM (\*P≤0.05, \*\* P≤0.01) (a). Chinning through eight weeks pre-infection (a) and eight weeks post-infection (b) in Control and Infected (c), Obese (d) or Obese-infected rabbits (e). Mean±SEM (\*P≤0.05, \*\* P≤0.01, \*\*\* P≤0.001).

**Figure 4. Total sexual behavior in male rabbits for 8 weeks post-infection.** Response time (a), Mounting attempts (b) Latency period (c) and Number of ejaculates (d). Mean±SEM (\*P≤0.05, \*\* P≤0.01, \*\*\*P≤0.001).

**Fig. 5. *T. pisiformis* infection affects weight gain.** Body weight (a) body mass index (BW/DFL) (b) and (c) zoometric index (BW/LW) through eight weeks post-infection. Mean±SEM (\*P≤0.05, \*\*P≤0.0001, Infected Vs Control and Obese Vs Obese-infected).

**Fig. 6. Serum glucose.** It was monitored weekly in male rabbits during 8 weeks post-infection. Mean±SEM (\*P<0.05).

# FIGURES

## Figure 1

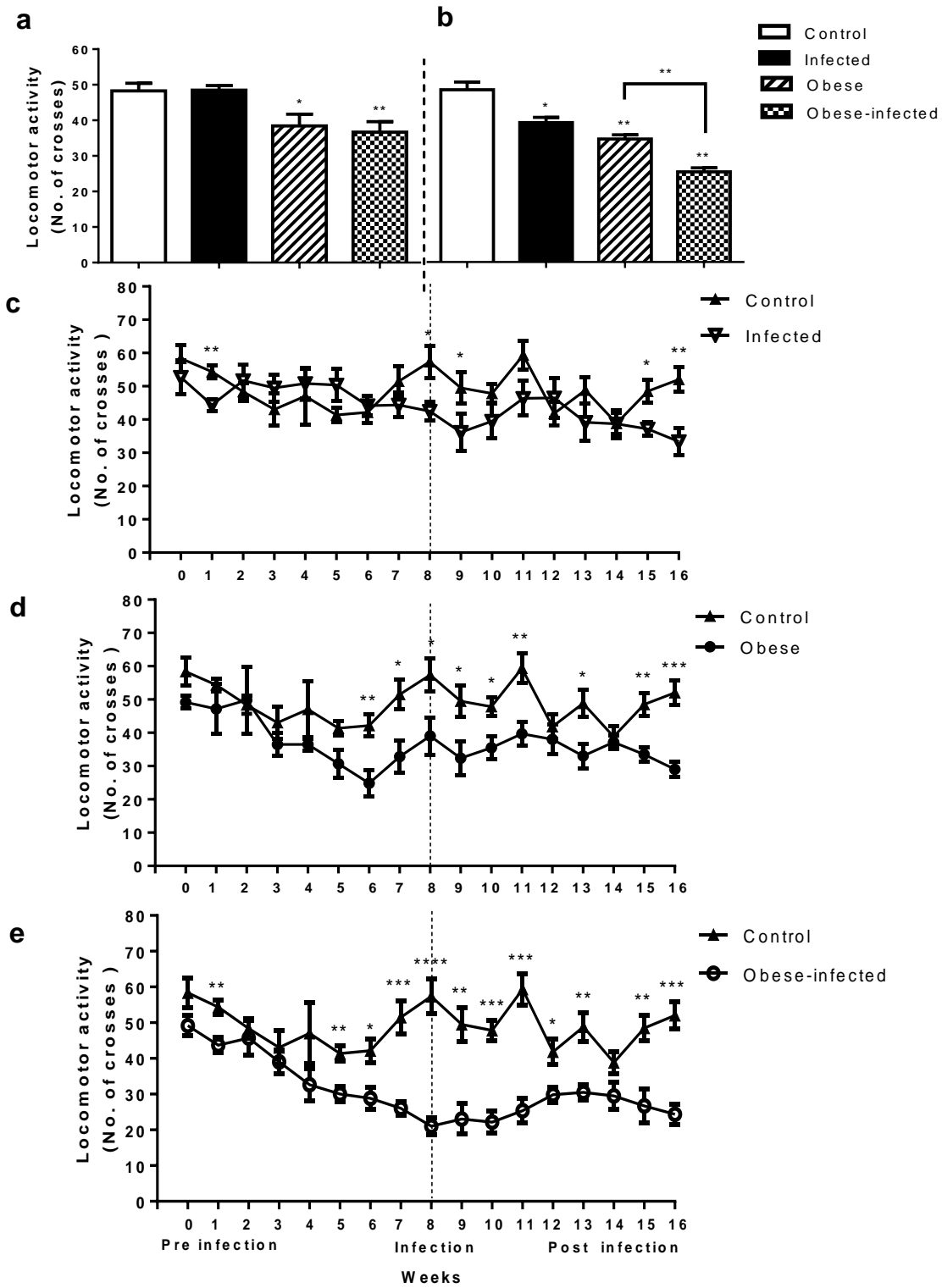
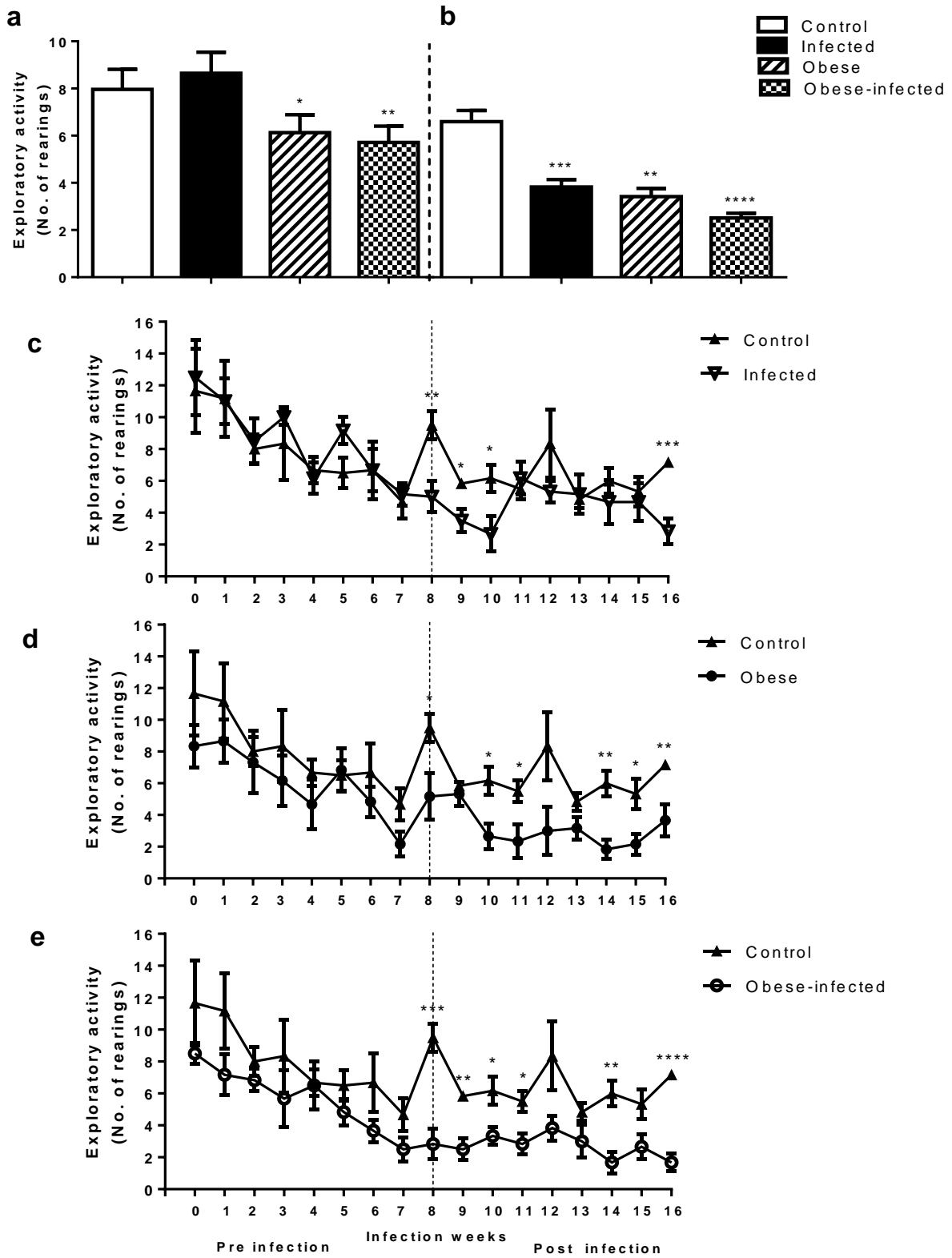




Figure 2



**Figure 3**

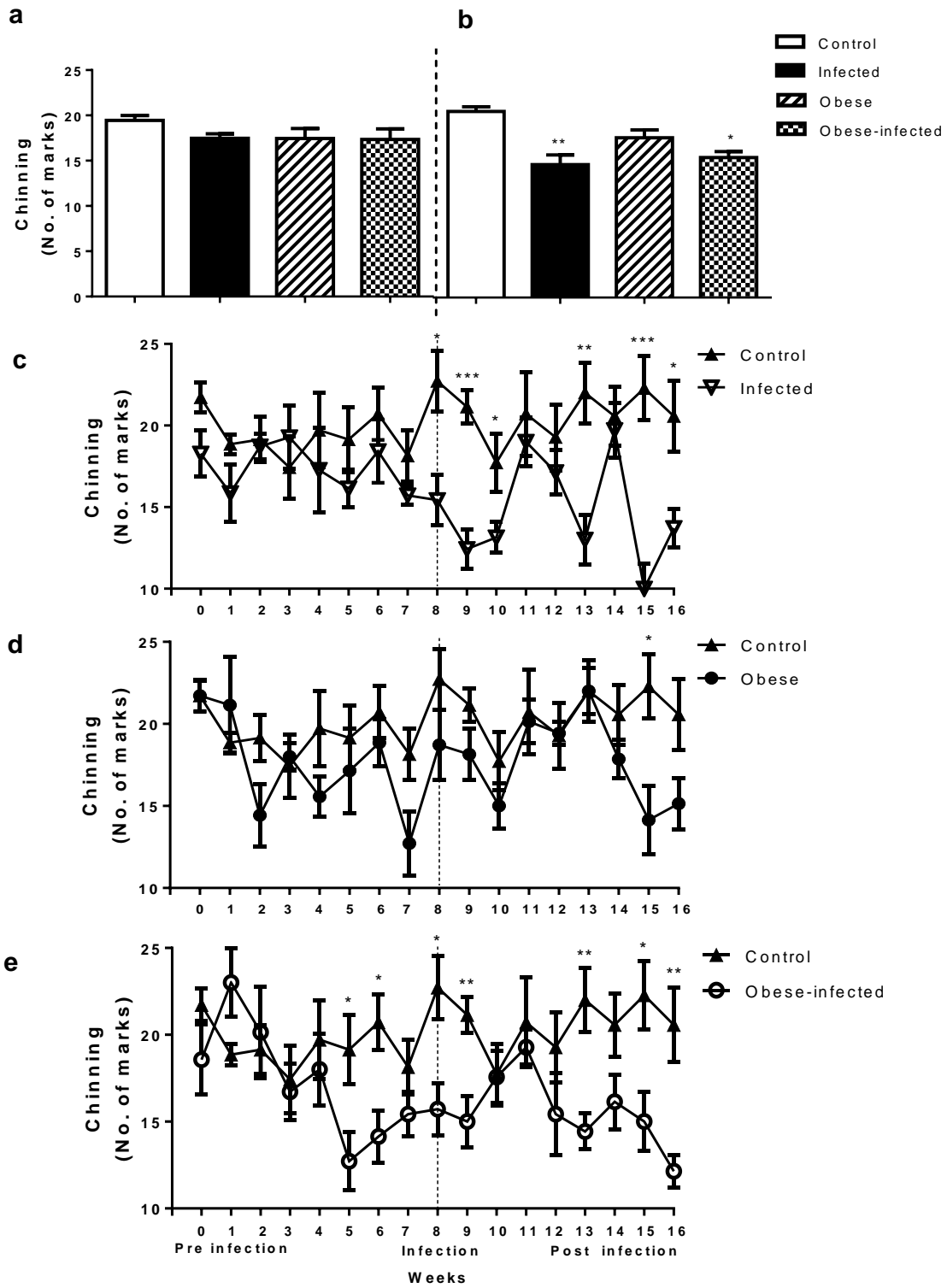


Figure 4

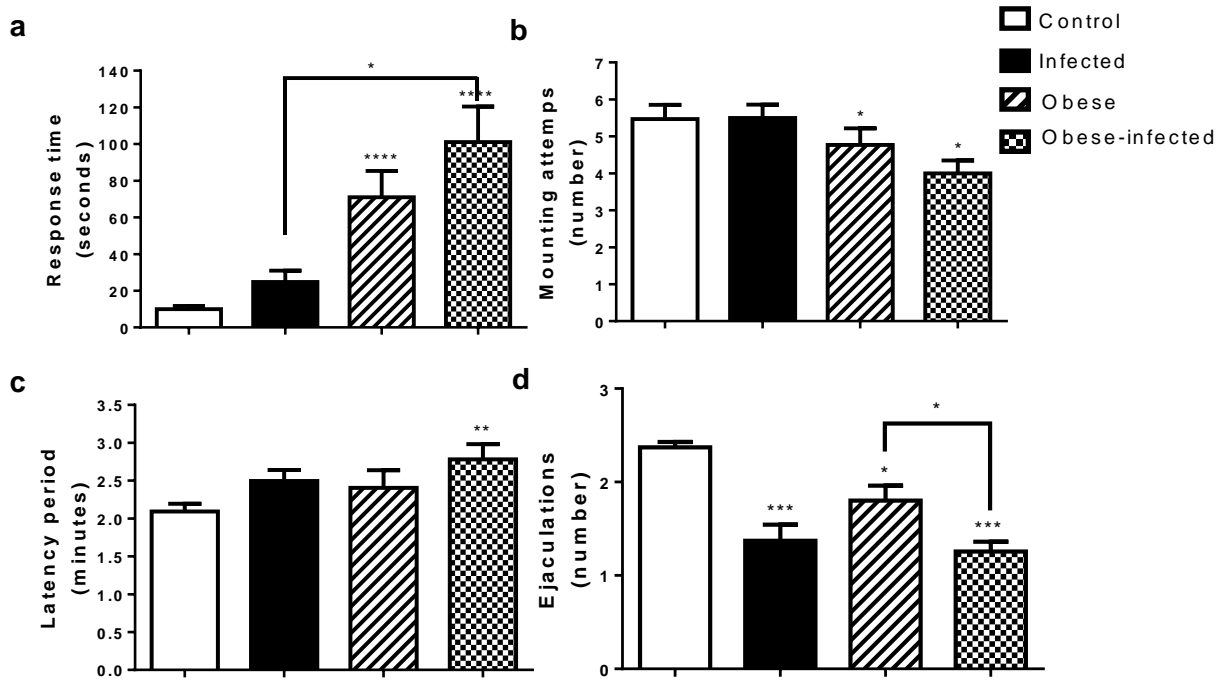


Figure 5

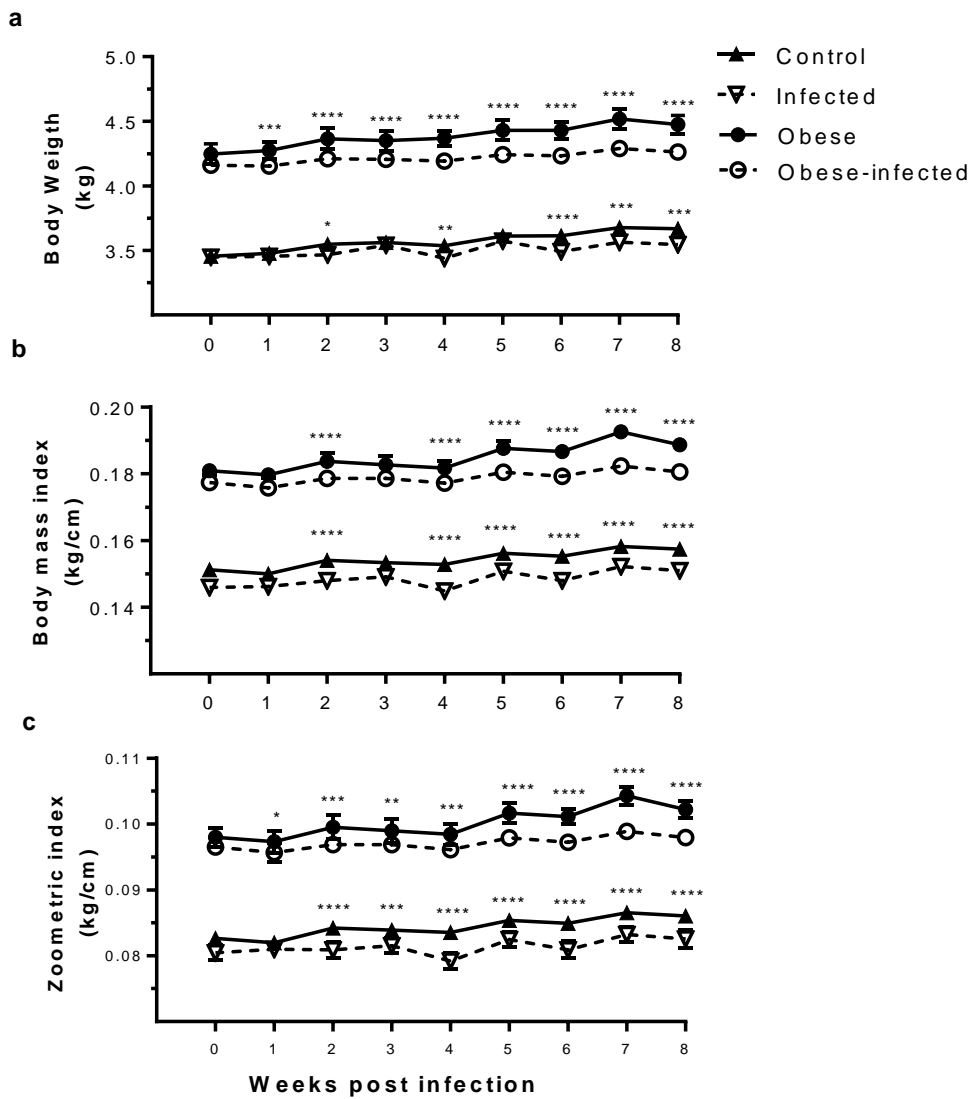
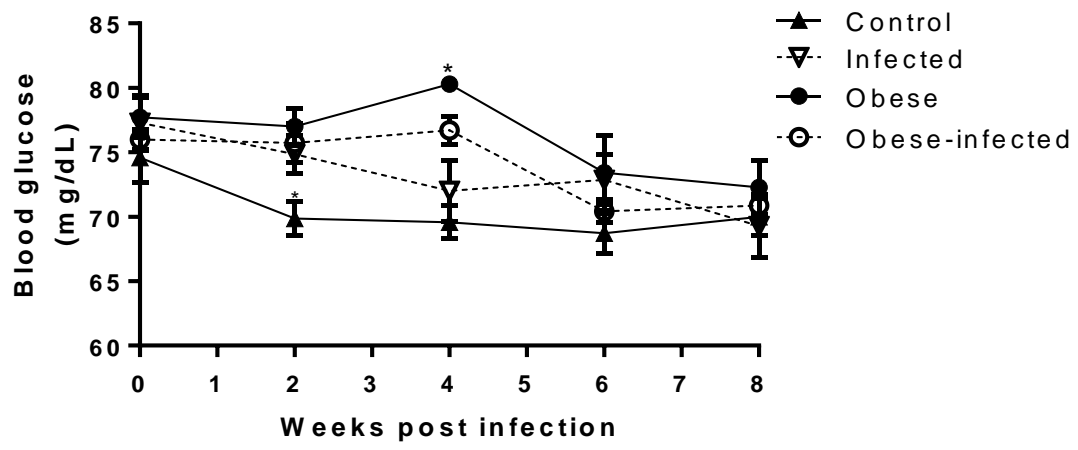


Figure 6



## ANEXO 2

### **Metabolic changes during the host-parasite interaction between obese male rabbits and *Taenia pisiformis* metacestode.**

David Arias-Hernández<sup>a</sup>, Sara García-Jiménez<sup>b</sup>, Rosa Domínguez-Roldán<sup>a</sup>, Clara Murcia Mejía<sup>c</sup>, Armida Báez-Saldaña<sup>d</sup>, Claudia Hallal-Calleros<sup>a\*</sup>, Iván Flores-Pérez<sup>a\*</sup>

<sup>a</sup>Facultad de Ciencias Agropecuarias, <sup>b</sup>Facultad de Farmacia, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Av. Universidad 1,001. Col. Chamilpa, 62209, Cuernavaca, Morelos, México. dariasher@hotmail.com, saragarcia@uaem.mx, rosa.dguez88@gmail.com, challalc@gmail.com, ivan.flores@uaem.mx

<sup>c</sup>Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, <sup>d</sup>Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México. Av. Universidad 3,000. Cd. Universitaria, Coyoacán, 04510, Ciudad de México. murcia@unam.mx, armida@biomedicas.unam.mx.

\*Corresponding author (equal contribution): challalc@gmail.com, ivan.flores@uaem.mx, Av. Universidad 1001, Col. Chamilpa, 62209, Cuernavaca, Morelos, México. Phone +52 7773297000.

**Acknowledgments:** DAH and RDR acknowledge the PhD fellowships 492304 and 273755 received from Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. Authors acknowledge technical support from Irene Lee-Rivera.

## ABSTRACT

Parasitism caused by cestodes during obesity has been scarcely studied. Parasitosis by *Taenia pisiformis* is very frequent in rabbits, causing important economic losses in farm conditions. It has recently been suggested that obesity has a major impact on infection and reproduction, but the impact of *T. pisiformis* infection in obese rabbits has not been elucidated. Our objective was to evaluate the effect of *T. pisiformis* infection on metabolism and on organs that are important in the behavior and reproduction of domestic rabbits. We found that *T. pisiformis* infection in obese rabbits decreased body weight. In the obese-infected rabbits, eosinophils and heterophiles were increased 23% by the infection ( $P \leq 0.05$ ). *T. pisiformis* decreased cholesterol by 13% in normal weight-infected rabbits and 10% in obesees ( $P \leq 0.05$ ), while triglyceride and VLDL were increased by 23% and 45% in the non-infected obese group ( $P \leq 0.05$ ). The infection increased serum cortisol levels only in normalweight rabbits ( $P \leq 0.05$ ). Liver weight was 20% higher in obese and Obese-infected rabbits ( $P \leq 0.05$ ). Testicular weight in Obese-infected was 46% higher than Control group ( $P \leq 0.0001$ ) and 20% more than the Obeses ( $P \leq 0.0001$ ). The infection reduced the weight of submandibular glands in Infected and Obese-infected rabbits ( $P \leq 0.05$ ), body fat increased 10% more in the Infected-obese than in the Obese, and infected 35% over the Control ( $P \leq 0.01$ ). Our results show that *T. pisiformis* alters metabolic characteristics in rabbits, that can impact on the production and welfare of animals.

**Keywords:** Obesity; infection; *Taenia pisiformis*; lipids; cortisol; behavior



## 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  
© 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 volcano 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@uscm.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





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE CIENCIAS  
AGROPECUARIAS

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

Jefatura de programas educativos de posgrado

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

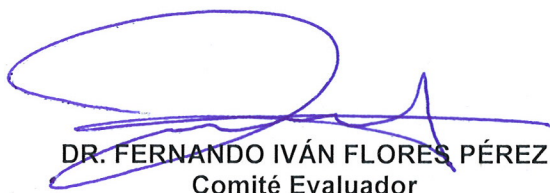
Cuernavaca, Mor., a 12 de noviembre de 2019.

**MTRO. JESÚS EDUARDO LICEA RESÉNDIZ**  
**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: **Efecto de la infección experimental con huevos de *Taenia pisiformis* sobre parámetros conductuales, fisiológicos y productivos en conejos obesos** que presenta: **DAVID ARIAS HERNÁNDEZ**, 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



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE CIENCIAS  
AGROPECUARIAS

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

Jefatura de programas educativos de posgrado

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

Cuernavaca, Mor., a 12 de noviembre de 2019.

**MTRO. JESÚS EDUARDO LICEA RESÉNDIZ**  
**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: **Efecto de la infección experimental con huevos de *Taenia pisiformis* sobre parámetros conductuales, fisiológicos y productivos en conejos obesos** que presenta: **DAVID ARIAS HERNÁNDEZ**, 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



**MTRO. JESÚS EDUARDO LICEA RESÉNDIZ**  
**DIRECTOR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS**  
**AGROPECUARIAS Y DESARROLLO RURAL**  
**P R E S E N T E.**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**

Jefatura de programas educativos de posgrado

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

Cuernavaca, Mor., a 12 de noviembre de 2019.

Por medio del presente informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis titulado: **Efecto de la infección experimental con huevos de *Taenia pisiformis* sobre parámetros conductuales, fisiológicos y productivos en conejos obesos** que presenta: **DAVID ARIAS HERNÁNDEZ**, 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

C.i.p. Archivo



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE CIENCIAS  
AGROPECUARIAS

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

Jefatura de programas educativos de posgrado

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

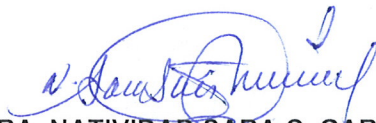
Cuernavaca, Mor., a 12 de noviembre de 2019.

**MTRO. JESÚS EDUARDO LICEA RESÉNDIZ**  
**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: **Efecto de la infección experimental con huevos de *Taenia pisiformis* sobre parámetros conductuales, fisiológicos y productivos en conejos obesos** que presenta: **DAVID ARIAS HERNÁNDEZ**, 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. NATIVIDAD SARA C. GARCÍA JIMÉNEZ**  
Comité Evaluador

C.i.p. Archivo





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS



**MTRO. JESÚS EDUARDO LICEA RESÉNDIZ**  
**DIRECTOR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS**  
**AGROPECUARIAS Y DESARROLLO RURAL**  
**P R E S E N T E.**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**

Jefatura de programas educativos de posgrado

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

Cuernavaca, Mor., a 12 de noviembre de 2019.

Por medio del presente informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis titulado: **Efecto de la infección experimental con huevos de *Taenia pisiformis* sobre parámetros conductuales, fisiológicos y productivos en conejos obesos** que presenta: **DAVID ARIAS HERNÁNDEZ**, 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

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

Jefatura de programas educativos de posgrado

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

Cuernavaca, Mor., a 12 de noviembre de 2019.

**MTRO. JESÚS EDUARDO LICEA RESÉNDIZ**  
**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: **Efecto de la infección experimental con huevos de *Taenia pisiformis* sobre parámetros conductuales, fisiológicos y productivos en conejos obesos** que presenta: **DAVID ARIAS HERNÁNDEZ**, 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. MARIANA PEDERNEIRA ROMANO**  
Comité Evaluador

C.i.p. Archivo





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE CIENCIAS  
AGROPECUARIAS

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

Jefatura de programas educativos de posgrado

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

Cuernavaca, Mor., a 12 de noviembre de 2019.

MTRO. JESÚS EDUARDO LICEA RESÉNDIZ  
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: **Efecto de la infección experimental con huevos de *Taenia pisiformis* sobre parámetros conductuales, fisiológicos y productivos en conejos obesos** que presenta: **DAVID ARIAS HERNÁNDEZ**, 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. RUBÉN RAMÍREZ AQUINO**  
Comité Evaluador