

EL EFECTO MUTUO DE MACHOS Y HEMBRAS DE **ANCYLOSTOMA CANINUM** SOBRE SU DISRIBUCION EN EL INTESTINO DEL PERRO (*)

Por el Doctor
MARCEL ROCHE

Con la asistencia técnica de Donald Patrzek.

INTRODUCCION

En 1955 Beaver infectó a 9 voluntarios humanos colocándoles sobre la piel del antebrazo tres larvas de *Necator americanus*. En tres de las 9 personas infectadas, observó huevos de anquilostomo fértiles en las heces durante períodos que variaron de 7 hasta 27 meses. Estos hallazgos hacen presuponer que al menos dos de las larvas llegaron hasta el intestino y que los adultos tuvieron luego la oportunidad de entrar en cópula repetida durante largos meses. Por otro lado, Oshima, Nishi y Kihata (1962) observaron, en un perro autopsiado después de una infección experimental, un total de 12 *A. caninum*, distribuidos en un espacio de 80 cms. de intestino; once de los vermes eran hembras y uno macho, pero todas las hembras contenían huevos fértiles. Las observaciones de Beaver y de los trabajadores japoneses sugieren que, en los ancylostomidos, existe un mecanismo de atracción entre los sexos, posiblemente a través de una sustancia mensajera liberada por uno de los sexos o por ambos. Fue para comprobar esta hipótesis de trabajo que se iniciaron los experimentos que aquí se dan a conocer.

MATERIAL Y METODOS

Los perros portadores eran de raza mixta, nacidos y criados

(*) Trabajo presentado al Coloquio de la Academia de Ciencias Físicas, Matemáticas y Naturales. Noviembre de 1966.

en el Instituto, y libres de infección. Se mantuvieron en jaulas separadas y sus heces fueron examinadas repetidamente, por el método de flotación de Willys, para asegurar que en efecto no estaban infectados.

Se utilizó una cepa de *Ancylostoma caninum* usada en este laboratorio desde 1961 y mantenida de perro a perro por infecciones artificiales. La inoculación de los animales se hizo por vía oral, administrándose aproximadamente mil larvas a perros de cuatro y medio a doce meses de edad. Se sacrificaron estos perros, 5 a 14 semanas después de la infección, mediante la inyección intravenosa de aproximadamente un gramo de KCL en 4 cc. de agua, bajo anestesia con pentotal. Después de sacar el intestino los anquilostomos se obtuvieron mediante el lavado del mismo, antes de abrirlo, con una solución de 0,9% de Cl Na.

Se separaron los gusanos en machos y hembras y se eliminaron todos los parásitos muertos. Los gusanos activos se introdujeron en el intestino de perros de cuatro y medio a 10 meses de edad, no infectados, en la forma siguiente: se hizo una laparotomía, bajo anestesia con pentotal, se introdujo una aguja número 16 en la luz y, después de suspender los anquilostomos en salina, éstos fueron inyectados a través de la aguja por medio de una jeringa de plástico. Después de lavar la aguja dos veces para asegurarse de que no permanecía ningún gusano en su luz, se sacó y el sitio de la inyección se marcó mediante un anillo de plata o mediante un hilo de seda. Se cerró la herida en tres capas y se le dio al perro, en forma rutinaria, de dos millones a cuatro millones de unidades de penicilina por vía intramuscular.

Para disminuir el dolor en el período post-operatorio, se administró frecuentemente 1,5 a 2 miligramos de Demerol por kilo.

Los sitios en que se depositaron los gusanos por vía intraluminal fueron la región inmediatamente por debajo (10 a 20 cms.) del duodeno y aquella inmediatamente por encima (10 a 20 cms.) de la válvula ileocecal. Por lo general, se inyectaron 50 gusanos de cada uno de los sexos; en algunos de los perros, sin embargo, utilizaron algunos gusanos menos, por no haber más disponibles.

Las inyecciones se hicieron en las siguientes combinaciones, cada una de ellas en cuatro perros:

1. Machos arriba (cerca del duodeno) y hembras abajo (cerca de la válvula ileocecal) (Símbolo utilizado M-H);

2. Hembras arriba y machos abajo (Símbolo utilizado H-M) ;
3. Machos arriba solos (M-) ;
4. Machos abajo solos (-M) ;
5. Hembras arriba (H-) ;
6. Hembras abajo (-H) ;

Se utilizó un total de 765 hembras y 754 machos.

Siete días después de la deposición intraluminal, se sacrificaron los perros, mediante la inyección intravenosa de KCL, bajo anestesia con pentotal, y se autopsiaron inmediatamente. Se sacó el intestino, desde el píloro hasta el recto, se abrió y se examinó. Se obtuvieron los anquilostomos uno por uno, y se marcó el sitio donde se encontraban en una banda de papel puesta en posición paralela a la del intestino. La banda fue luego dividida en intervalos de cinco centímetros, y el número de anquilostomo en cada intervalo se determinó. El análisis estadístico fue realizado por medio de un computador IBM modelo 1620.

RESULTADOS

Se recuperaron 80.6% de las hembras y 87.1% de los machos. En 7 días tanto las hembras como los machos migraron grandes distancias desde el punto en que se les había introducido en el intestino. La migración de los gusanos colocados cerca de la válvula ileocecal era siempre hacia arriba; la de los que se colocaron cerca del duodeno, siempre hacia abajo. Su distribución final depende probablemente de condiciones intraluminales. La concentración mayor de gusanos ocurrió siempre en la parte media del yeyuno.

Con el fin de uniformizar la medida, las distancias recorridas por los gusanos fueron convertidas en porcentaje de largo del intestino, desde el píloro a la válvula ileocecal. Los resultados se encuentran resumidos en la figura y en la tabla.

Es evidente que, dentro de las condiciones del experimento, los machos siempre migran más que las hembras (diferencias estadísticamente significativas) y que ambos sexos migran generalmente más hacia abajo que hacia arriba. Cuando las hembras están arriba y los machos abajo, los machos migran más que en la situación inversa (diferencia altamente significativa). En contraste con esta si-

tuación las hembras siempre migran más cuando están solas que en las infecciones mixtas (diferencias altamente significativas).

DISCUSION

Es evidente que lo que se encuentra después de 7 días resulta del movimiento oscilante de los gusanos hacia arriba y hacia abajo del canal intestinal; las distancias totales, sin embargo, pueden ser considerables. La región cerca del duodeno y aquella cercana a la válvula ileocecal parecen ser adversas al gusano, pues no se le encuentra prácticamente nunca allí. La mayor concentración de los gusanos se halla siempre hacia la mitad del yeyuno, lo cual está de acuerdo con las descripciones de Nishi (1936), Krupp (1961) y Yashima y Machida (1958).

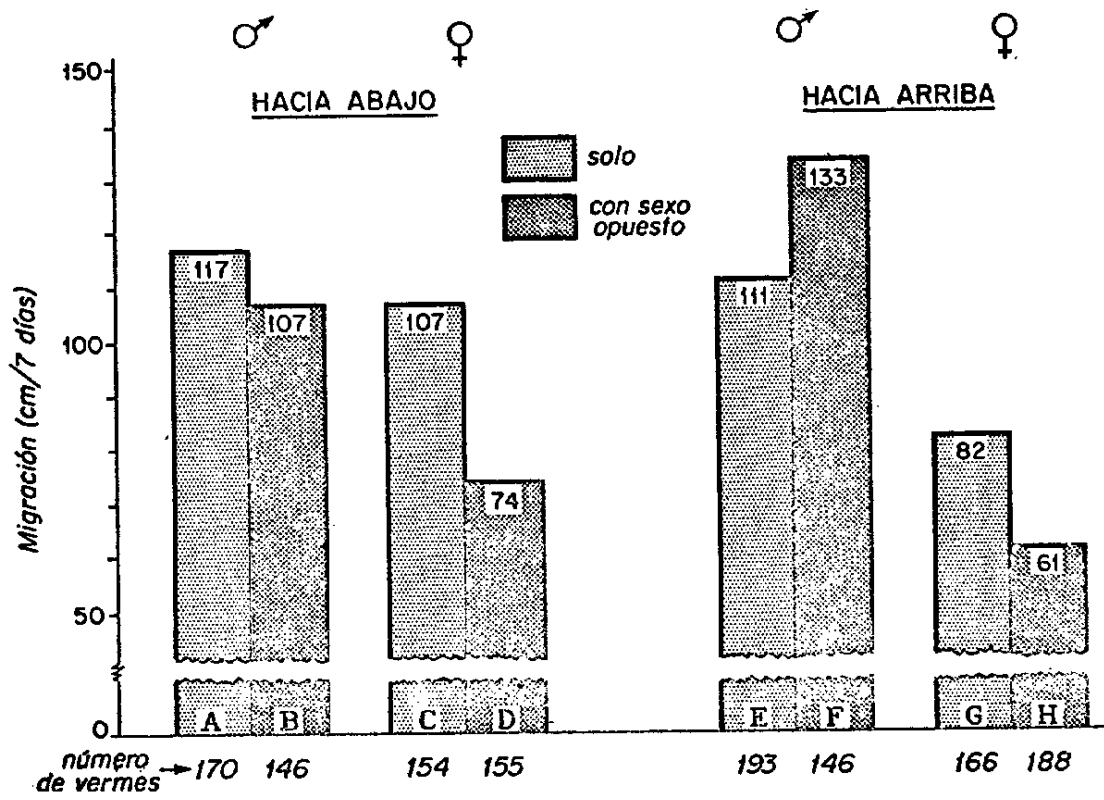
Se ha mencionado que el macho era más activo que la hembra (Leichtenstern, 1887) y los resultados presentes confirman esta impresión. Ambos sexos se mueven libremente hacia arriba y hacia abajo pero hay una tendencia a moverse más hacia abajo, particularmente en el caso de las hembras (diferencia significativa).

Es de particular interés la demostración de que el macho, cuando es depositado cerca de la válvula ileocecal, migra mayor distancia cuando la hembra se encuentra en el duodeno que cuando no hay vermes al otro extremo del intestino. Este hallazgo es aún más significativo si se considera que el fenómeno no se observa cuando el macho está arriba y la hembra abajo.

Los datos observados sugieren, en forma preliminar, que la hembra pudiera producir una sustancia de tipo hormonal —una *ferormona*— que viaja en dirección del peristaltismo normal por la luz intestinal, no a través del sistema circulatorio, y actúa como atrayente del macho.

Se han descrito anteriormente atrayentes de insectos (Jacobson y Beroza, 1964) así como fenómenos compatibles con la presencia de un atrayente en el nemátodo *Panagroiainus rigidus* (Greet, 1964).

Migración de Ancylostoma caninum en el intestino del perro



SIGNIFICACION ESTADISTICA DE LOS DATOS DE LA FIGURA

Comparación entre columnas		P	CONCLUSIONES
A	B	0,2-0,3	El macho migra hacia abajo igual solo que acompañado **
A	E	0,6-0,7	Solo, el macho migra igual hacia arriba que hacia abajo
A	F	0,02*	El macho migra más hacia arriba acompañado que hacia abajo solo
B	E	0,05-0,1	El macho acompañado migra igual hacia abajo que solo hacia arriba
B	F	0,001*	El macho acompañado migra más hacia arriba que hacia abajo
E	F	0,02-0,05*	Hacia arriba, el macho acompañado migra más que solo
C	D	0,001*	Hacia abajo, la hembra migra más sola que acompañada
C	G	0,001*	Sola, la hembra migra más hacia abajo que hacia arriba
C	H	0,001*	La hembra migra más sola hacia abajo que acompañada hacia arriba
D	G	0,01*	La hembra migra más sola hacia arriba que acompañada hacia abajo
D	H	0,02*	Acompañada, la hembra migra más hacia abajo que hacia arriba
G	H	0,001*	Hacia arriba, la hembra migra más sola que acompañada

* Estadísticamente significativo.

** Por acompañado se entiende que individuos de sexo opuesto han sido depositados al otro extremo del intestino.

BIBLIOGRAFIA

1. BEAVER, P. C., 1955.—Observations on *Necator* infections resulting from exposure to three larvae. *Revista Ibérica de Parasitología*. Tomo Extraordinario, 1-9.
2. GREET, D. N., 1964.—Observations on sexual attraction and copulation in the nematode *Panagroidaimus rigidus* (Schneider). *Nature*, 204, 96-97.
3. JACOBSON, M. and BEROZA, M., 1964.—Insect attractants. *Scientific American*, 211, 20-27.
4. KRUPP, I. M., 1961.—Effects of crowding and of superinfection on habitat selection and egg production in *Ancylostoma caninum*. *Journal of Parasitology*, 47, 957-961.
5. LEICHTENSTERN, O., 1887.—Einiges uber *Ankylostoma duodenale*. *Deutsche Medizinische Wochenschrift*, 13, 594-596.
6. NISHI, M., 1936.—A biological investigation on the family Ancylostomidae, with special reference on the result of an experimental investigation into the rate of infection, immunity and the site of parasitism within the lumen of the alimentary tract. (In Japanese). *Taiwan Igakkai Zasshi*, 35, 2.744-2.761.
7. OSHIMA, T., NISHI, S. and KIHATA, M., 1962.—Observation on insemination of 11 females dog hookworm by single male in dog intestine. (In Japanese). *Japanese Journal of Parasitology*, 11, 305.
8. YAZIMA, F. and MACHIDA, K., 1958.—On the ecological relations of parasite state of *Ancylostoma caninum*, specially on the density of population. *Journal of Parasitology*, 7, 631.