



UNIVERSIDAD PERUANA  
CAYETANO HEREDIA

“VALIDACIÓN DE LA MEDICIÓN  
PLASMÁTICA DE ALBENDAZOL  
SULFÓXIDO Y SU ASOCIACIÓN CON  
LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA  
HEPÁTICA EN PACIENTES CON  
HIDATIDOSIS HEPÁTICA DURANTE EL  
TRATAMIENTO ORAL CON  
ALBENDAZOL”

TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE  
DOCTOR EN CIENCIAS EN  
INVESTIGACIÓN EPIDEMIOLÓGICA

JAIME ALONSO ROSALES RIMACHE

LIMA - PERÚ

2023



**ASESOR DE LA TESIS:**

Saúl Javier Santivañez Salazar

MD, MSc, PhD

**JURADO DE TESIS**

DRA. MÓNICA JEHNNY PAJUELO TRAVEZAÑO

PRESIDENTA

DR. CESAR MIGUEL GAVIDIA CHUCAN

VOCAL

DR. OSVALDO MASSAITI TAKAYANAGUI

VOCAL

DR. JAVIER ARTURO BUSTOS PALOMINO

SECRETARIO

### **DEDICATORIA:**

A mi esposa Sandra, quien, con amor y comprensión, me brindó fuerza para no claudicar y culminar este trabajo.

A mis hijos Leonardo y Danna, quienes me enseñan cada día a lidiar y superar cualquier obstáculo que se presente en la vida.

A mi Madre Basilia, por su constancia y perseverancia en enseñarme a luchar y alcanzar mis metas, y a mi Padre Simeón, a quien siempre lo recuerdo y llevo como guía espiritual para hacer lo correcto.

### **AGRADECIMIENTOS:**

A mi asesor, el Dr. Saúl Santivañez, por la oportunidad de incursionar en el campo de la hidatidosis y aprender de su experiencia.

Al personal de salud que apoyó en el enrolamiento y evaluación de pacientes.

A los pacientes por participar de este estudio que contribuye a mejorar el conocimiento sobre una enfermedad olvidada.

Al Centro Nacional de Control de Calidad, que brindó facilidades para la evaluación de muestras biológicas.

Al Centro de Salud Global por el apoyo recibido durante todo el proceso de elaboración y ejecución de esta investigación

A todos los miembros del jurado que permitieron mejorar la calidad de esta tesis.

### **FUENTES DE FINANCIAMIENTO:**

Beca de formación Prociencia EF033-235-201, Training-Grant D43TW001140 y

2D43 TW007393: "Consortio Internacional de Entrenamiento en Investigación Epidemiológica", auspiciado por NIH/FIC.

# VALIDACIÓN DE LA MEDICIÓN PLASMÁTICA DE ALBENDAZOL SULFÓXIDO Y SU ASOCIACIÓN CON LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA HEPÁTICA EN PACIENTES CON HIDATIDOSIS HEPÁTICA DURANTE EL TRATAMIENTO ORAL CON ALBENDAZOL

## INFORME DE ORIGINALIDAD

9%

INDICE DE SIMILITUD

9%

FUENTES DE INTERNET

1%

PUBLICACIONES

1%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

## FUENTES PRIMARIAS

1

[repositorio.upch.edu.pe](http://repositorio.upch.edu.pe)

Fuente de Internet

2%

2

[afmac.org.mx](http://afmac.org.mx)

Fuente de Internet

1%

3

[hdl.handle.net](http://hdl.handle.net)

Fuente de Internet

<1%

4

[doku.pub](http://doku.pub)

Fuente de Internet

<1%

5

[www.pucp.edu.pe](http://www.pucp.edu.pe)

Fuente de Internet

<1%

6

[www.jove.com](http://www.jove.com)

Fuente de Internet

<1%

7

[idoc.pub](http://idoc.pub)

Fuente de Internet

<1%

# Tabla de Contenidos

|   |    |
|---|----|
| RESUMEN   |    |
| ABSTRACT  |    |
| I. INTRODUCCIÓN .....   | 1  |
| II. HIPÓTESIS .....   | 8  |
| III. VALIDACIÓN DE LA MEDICIÓN DE ALBENDAZOL SULFÓXIDO EN PLASMA HUMANO .....   | 9  |
| 3.1 Justificación.....  | 9  |
| 3.2. Pregunta de Investigación Principal de la investigación 1:.....  | 13 |
| 3.3. Hipótesis de la investigación 1:.....  | 13 |
| 3.4. Materiales y Métodos .....   | 13 |
| 3.4.1. Diseño .....   | 13 |
| 3.4.2. Población y Diseño muestral.....   | 14 |
| 3.4.3. Muestreo.....  | 14 |
| 3.4.4. Procedimientos del estudio .....   | 15 |
| 3.4.5. Variables de estudio .....   | 20 |
| 3.4.6. Procesamiento y análisis estadístico .....   | 21 |
| 3.4.7. Tamaño de muestra o Potencia estadística.....  | 22 |
| 3.5. Resultados .....   | 23 |
| 3.5.1. Enrolamiento y muestra de estudio .....  | 23 |
| 3.6. Discusión.....   | 28 |
| IV. ASOCIACIÓN ENTRE LOS NIVELES PLASMÁTICOS DE ALBENDAZOL SULFÓXIDO CON LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA HEPÁTICA EN PACIENTES CON HIDATIDOSIS HEPÁTICA DURANTE EL TRATAMIENTO ORAL CON ALBENDAZOL..... | 31 |
| 4.1. Justificación.....   | 31 |
| 4.2. Pregunta de Investigación Principal de la investigación 2:.....  | 36 |
| 4.3. Hipótesis de la investigación 2:.....  | 36 |
| 4.4. Materiales y Métodos .....   | 37 |
| 4.4.1. Diseño .....   | 37 |
| 4.4.2. Población y Diseño muestral.....   | 38 |
| 4.4.3. Muestreo.....  | 40 |
| 4.4.4. Procedimientos del estudio .....   | 40 |
| 4.4.5. Variables de estudio .....   | 47 |
| 4.4.6. Procesamiento y análisis estadístico .....   | 54 |
| 4.4.7. Tamaño de muestra y Potencia estadística.....  | 55 |
| 4.5. Resultados .....   | 56 |
| 4.5.1. Enrolamiento y muestra de estudio .....  | 56 |
| 4.5.2. Resultados bivariados.....   | 62 |
| 4.5.3. Análisis en modelo lineal mixto.....   | 67 |
| 4.6. Discusión.....   | 71 |
| V. ASPECTOS ÉTICOS.....   | 78 |
| VI. LIMITACIONES .....  | 80 |
| VII. CONCLUSIONES GENERALES .....   | 82 |
| VIII. RECOMENDACIONES GENERALES.....  | 83 |
| IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....  | 84 |

## RESUMEN

La hidatidosis es una zoonosis parasitaria de alta prevalencia en los Andes centrales y sur del Perú. El hígado es el órgano más afectado. El tratamiento de elección para la hidatidosis hepática diagnosticada oportunamente es el albendazol (ABZ). Este se caracteriza por dosis altas y que duran entre 3 a 4 meses, con alta probabilidad de daño hepático. Por otro lado, el albendazol sulfóxido (ABZSO) es el metabolito activo del ABZ, cuya medición en plasma es difícil de implementar y validar. Poco se conoce sobre sus niveles y la relación con los cambios en el quiste hidatídico y daño hepático. Hemos planteado dos preguntas de investigación: ¿La cromatografía líquida acoplada a espectroscopia de masas para la medición de ABZSO en plasma es válido según los estándares de la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos?, y ¿El nivel plasmático de ABZSO estará relacionado con la actividad enzimática hepática en pacientes con hidatidosis hepática durante el tratamiento oral con albendazol?

Investigación 1: Se validó el método HPLC-MS para la cuantificación de ABZSO en plasma humano, siguiendo las guías de validación de métodos bionalíticos de la Food and Drug Administration. El ensayo tuvo una respuesta lineal (1-1500 ng/mL,  $r^2=0.999$ ) con un límite de detección de 1 ng/mL. Las concentraciones de ABZSO a 1, 5, 50, 100, 200, 500, 1000 y 1500 ng/mL tuvieron desviaciones estándar relativas de 10.4, 8.4, 7.8, 2.9, 7.4, 3.2, 3.4 y 1.3%, respectivamente. El método fue preciso con un coeficiente de variación de 1.411%, y exacto con un sesgo de -14.7, 2.8 y -0.8% en concentraciones de ABZSO de 5, 500 y 1000 ng/mL, respectivamente. La recuperación del método fue de 89.2%, y la estabilidad tras la refrigeración durante 24 horas, tuvo un coeficiente de variación de 2.3%.

Investigación 2: cohorte prospectiva constituida por personas con hidatidosis hepática tratados con albendazol vía oral a dosis de 12.5 mg/kg/día durante 3 meses. La actividad enzimática hepática fue evaluada a través de la medición de alanino y aspartato aminotransferasa (ALT y AST), gamma glutamil transferasa ( $\gamma$ -GT) y fosfatasa alcalina (FALC); las características estructurales del quiste hidatídico mediante ultrasonografía abdominal; y la concentración plasmática de ABZSO por HPLC-MS. Los parámetros descritos fueron medidos antes del tratamiento y a los 15, 30, 45, 60, 75 y 90 días de haber iniciado el tratamiento. Evaluamos 13 personas cuyos niveles de ABZSO basal y al día 90 de tratamiento variaron de 0.71 ng/mL a 226.8 ng/mL ( $p < 0.05$ ). La mediana del diámetro y volumen quístico bajó de 32.5 a 31.5 mm ( $p < 0.001$ ) y 15.5 a 15.3 mL ( $p < 0.001$ ), respectivamente en tres pacientes. Los niveles de ALT, AST,  $\gamma$ -GT y FALC subieron ( $p < 0.001$ ) de 17.8 a 48.6 U/L, 21.1 a 55.7 U/L, 15.4 a 42.7 U/L y 264 a 328.7 U/L, respectivamente. Los niveles de ABZSO no estuvieron asociados con las características estructurales del quiste, pero sí asociados significativamente con el incremento en la actividad enzimática hepática ( $p < 0.001$ ).

Concluimos lo siguiente: (i) El método HPLC-MS para la cuantificación de ABZSO en plasma humano es válido de acuerdo con los estándares definidos por la FDA. El método ofrece una respuesta lineal entre 1 y 1500 ng/mL y con un límite de detección de 1 ng/mL, y (ii) Los niveles de ABZSO se relacionan con la actividad ALT, AST,  $\gamma$ -GT y FALC; pero no con las características quísticas.

**PALABRAS CLAVES:** Validación analítica; Actividad enzimática hepática; Hidatidosis hepática; Albendazol; Albendazol sulfóxido

## ABSTRACT

Hydatidosis is a highly prevalent parasitic zoonosis in the central and southern Andes of Peru. The liver is the most affected organ. The treatment of choice for opportunely diagnosed hepatic hydatidosis is albendazole (ABZ). This is characterized by high doses that last between 3 to 4 months, with a high probability of liver damage. On the other hand, albendazole sulfoxide (ABZSO) is the active metabolite of ABZ, whose measurement in plasma is difficult to implement and validate. Little is known about its levels and the relationship with changes in the hydatid cyst and liver damage. We have posed two research questions: ¿Is liquid chromatography coupled with mass spectroscopy for the measurement of ABZSO in plasma valid according to US Food and Drug Administration standards? and ¿Will the plasma level of ABZSO be related to with hepatic enzyme activity and structural characteristics of cysts in patients with hepatic hydatidosis during oral treatment with albendazole?

Investigation 1: The HPLC-MS method for the quantification of ABZSO in human plasma was validated, following the bioanalytical method validation guidelines of the Food and Drug Administration. The assay had a linear response (1-1500 ng/mL,  $r^2=0.999$ ) with a detection limit of 1 ng/mL. ABZSO concentrations at 1, 5, 50, 100, 200, 500, 1000, and 1500 ng/mL had relative standard deviations of 10.4, 8.4, 7.8, 2.9, 7.4, 3.2, 3.4, and 1.3%, respectively. The method was precise with a coefficient of variation of 1.411%, and exact with a bias of -14.7, 2.8 and -0.8% at ABZSO concentrations of 5, 500 and 1000 ng/mL, respectively. The recovery of the method was 89.2%, and the stability after refrigeration for 24 hours had a coefficient of variation of 2.3%.

Investigation 2: prospective cohort made up of people with hepatic hydatidosis treated with oral albendazole at a dose of 12.5 mg/kg/day for 3 months. Liver enzyme activity was assessed by measuring alanine and aspartate aminotransferase (ALT and AST), gamma glutamyl transferase ( $\gamma$ -GT) and alkaline phosphatase (FALC); the structural characteristics of the hydatid cyst by abdominal ultrasonography; and the plasma concentration of ABZSO by HPLC-MS. The described parameters were measured before treatment and at 15, 30, 45, 60, 75 and 90 days after starting treatment. We evaluated 13 subjects whose baseline ABZSO levels and on day 90 of treatment ranged from 0.71 ng/mL to 226.8 ng/mL ( $p < 0.05$ ). Median cyst diameter and volume decreased from 32.5 to 31.5 mm ( $p < 0.001$ ) and 15.5 to 15.3 mL ( $p < 0.001$ ), respectively in three patients. ALT, AST,  $\gamma$ -GT, and FALC levels increased ( $p < 0.001$ ) from 17.8 to 48.6 U/L, 21.1 to 55.7 U/L, 15.4 to 42.7 U/L, and 264 to 328.7 U/L, respectively. ABZSO levels were not associated with the structural characteristics of the cyst, but they were significantly associated with the increase in hepatic enzyme activity ( $p < 0.001$ ).

We conclude the following: (i) The HPLC-MS method for the quantification of ABZSO in human plasma is valid according to the standards defined by the FDA. The method offers a linear response between 1 and 1500 ng/mL and with a detection limit of 1 ng/mL, and (ii) ABZSO levels are related to ALT, AST,  $\gamma$ -GT and FALC activity; but not with the cystic features.

**KEY WORDS:** Analytic validation; Liver enzyme activity; hepatic hydatid disease; Albendazole; Albendazole sulfoxide

# I. INTRODUCCIÓN

La hidatidosis es una enfermedad infecciosa desatendida de distribución mundial que afecta principalmente a aquellos países que se dedican a la crianza de ganado, ocasionando graves pérdidas económicas y donde representa un problema de salud pública (1). La hidatidosis es causada por la infección larvaria del metacéstode *Echinococcus granulosus* (2); y tiene una presentación clínica variada dependiendo del órgano afectado (hígado y pulmón, principalmente), tamaño de la lesión y la complicación del quiste (rotura, infección) (3). A nivel local, se ha evidenciado prevalencias altas en áreas rurales de los Andes centrales (4-6) y algunas regiones costeras del Perú (7).

El diagnóstico de la hidatidosis hepática se basa en hallazgos clínicos y estudio de imágenes tales como la ultrasonografía, radiografía, tomografía y/o resonancia magnética; y se apoya de análisis serológicos como inmunoblot (8). El tratamiento depende del órgano afectado, estadio del quiste y de la presencia de complicaciones, teniendo a la fecha alternativas farmacológicas, quirúrgicas (9), o terapias combinadas dependiendo del nivel de avance de la enfermedad (2). A nivel local, el tratamiento quirúrgico es la alternativa más utilizada debido a que la enfermedad es diagnosticada de manera tardía, es decir cuando los quistes son grandes o tienen complicaciones (10); sin embargo esta opción conlleva un riesgo de mortalidad y complicaciones postoperatorias (11) así como de recidiva, la cual oscila entre 4.6 y 22% (12); incluso después de los 8 años a la intervención (13), situación que hace necesaria la evaluación temprana y el uso de otras alternativas terapéuticas.

El tratamiento farmacológico con albendazol (14) es recomendado como primera alternativa terapéutica a las opciones quirúrgicas. Para incrementar su eficacia, se aplica en ciclos de tratamiento empleando dosis altas (de 10 hasta 15 mg/kg/día) (15, 16) y por periodos prolongados (de 3 a 6 meses) (17-19). La actividad escolicida del albendazol sulfóxido (ABZSO), metabolito activo del albendazol, es conocida y se basa en la inhibición de la síntesis de tubulina, la cual genera una deficiente captación de glucosa en la larva, disminución en la síntesis de ATP y su muerte (Grafico 1) (20). Sin embargo, el mecanismo de daño generado en las células del huésped, principalmente los hepatocitos, aún no es clara. Existen estudios *in vitro* que han evidenciado citotoxicidad mediada por estrés oxidativo (21), con incremento de especies reactivas de oxígeno, pérdida del potencial de membrana mitocondrial y alteración de la capacidad antioxidante, lo que conlleva a daño del ADN y fosforilación de la histona H2AX, aumento en la expresión de genes Bax/Bcl-xL, p53 y activación de la apoptosis celular (22). En ese sentido, aún existen limitaciones sobre el conocimiento del proceso de daño celular inducido por el tratamiento oral con ABZ en personas con enfermedades como la hidatidosis y neurocisticercosis.

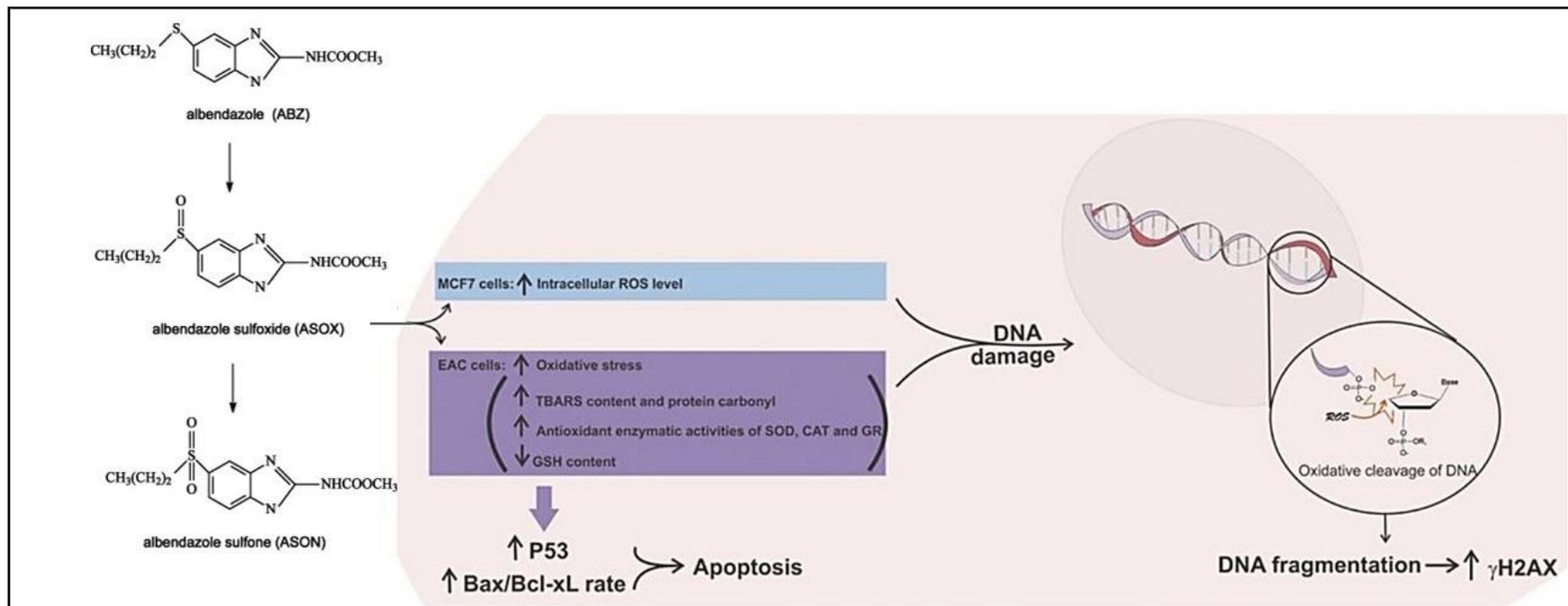


Gráfico 1. Mecanismo de daño del ABZSO (tomado y modificado de Castro et al. (22))

La eficacia y toxicidad asociada al tratamiento oral con albendazol (ABZ) depende en gran medida de los niveles de ABZSO alcanzados en plasma y a nivel intraquístico. Sin embargo, la medición de este metabolito requiere equipamiento de alta tecnología y de procedimientos cuyos resultados garanticen la confiabilidad y validez en su cuantificación. Diversos estudios han evaluado metodologías para cuantificar el ABZSO en matrices biológicas, entre las que destaca la cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) con detección en fluorescencia (23), ultra LC-MS (24), electroforesis capilar (25) e incluso espectrofotometría en luz visible (26). Sin embargo, no existe consenso en definir cuál es la metodología ideal para la cuantificación del ABZSO. De acuerdo al listado de laboratorios acreditados por INACAL (27), no se ha identificado aquellos que realicen el dosaje de ABZSO en algún tipo de matriz biológica humana, como suero o plasma. Esta situación genera limitaciones para el desarrollo de estudios de biodisponibilidad, farmacovigilancia, e incluso seguridad y eficacia como parte de los ensayos clínicos que buscan la evaluación del ABZ combinado a otros fármacos antiparasitarios.

Por otro lado, datos recientes señalan que el daño inducido por el albendazol en hepatocitos cultivados es causado por un mecanismo de citotoxicidad, generando disminución en la viabilidad celular por debajo del 80%, razón por la cual es catalogada como un fármaco que produce daño hepático (28). La exposición constante al ABZSO, con capacidad escolicida principal (29), puede desencadenar eventos adversos a corto y largo plazo, principalmente daño hepático agudo (30, 31), dependiendo de factores como la edad, sexo, respuesta inflamatoria y variabilidad genética de las enzimas involucradas en el metabolismo del ABZ (32). A la fecha, son pocos los estudios que han evaluado las concentraciones del ABZSO

en plasma como parte del monitoreo biológico en las personas que reciben tratamiento con ABZ, de tal forma que se garantice la mayor eficacia posible del tratamiento sin producir daño hepático (33, 34).

La hidatidosis hepática se caracteriza por la presencia de uno o más quistes que varían en tamaño, forma, volumen y tipo, y que son identificados por estudios de imágenes, entre los que destacan la ultrasonografía abdominal. Estudios previos refieren que al menos 7 de cada 10 personas con hidatidosis hepática, presenta sólo un quiste, y más de la mitad de ellos, clasificado como quiste activo, ósea en categorías CL, CE1 y CE2, esto quiere decir que son estructuras fértiles y potencialmente infecciosas (35, 36). Sin embargo, se ha reportado sobre 23 pacientes con hidatidosis, que el 23.7% tuvieron más de tres quistes hepáticos (37). En cuanto al tamaño de los quistes, estos son muy variables y depende del estadio de la enfermedad. Se han reportado quistes hepáticos con un rango entre 2 y 15 cm (38). En Perú, los hallazgos sobre las características de la hidatidosis se limitan a la búsqueda de información registrada en historias clínicas de pacientes hospitalizados y programados para intervención quirúrgica. En el 2013, se obtuvo información de 267 pacientes detectados con hidatidosis hepática y se observó un tamaño mayor a 25mm en el 55.8%, y con predominancia a ubicarse en el lóbulo hepático derecho y en los segmentos posteriores. En cuanto al número de quistes hallados en el hígado, el 69.7% tuvo un solo quiste, 20.3% dos quistes, y el resto 3 quistes (39). También se ha reportado la presencia de hidatidosis hepática en niños y adolescentes, cuyos quistes tuvieron tamaños <5cm (23.1%), 5-10 cm (34.6%), 10-15cm (15.4%) y de 15-20cm (26.9%). el 87.8% de los casos no tuvo complicación

de quiste hidatídico; mientras que un 7.3% tenían una complicación por infección, 2.4% por fistula biliar y por migración peritoneal (40).

Los hallazgos reportados sobre hidatidosis hepática son de naturaleza transversal, y poco se ha explorado sobre los cambios del quiste hidatídico durante el seguimiento de personas que reciben tratamiento farmacológico con ABZ empleando técnicas ecográficas, y monitoreando los niveles del metabolito activo del fármaco, el ABZSO, así como el daño hepático inducido por fármacos, expresado en la elevación de enzimas hepáticas. Esta situación merma el fortalecimiento del monitoreo biológico, dado que la medición del ABZSO en pacientes con hidatidosis está sujeto al empleo de equipos de alta tecnología, personal entrenado y sobre todo de métodos que hayan sido validados según estándares de calidad, a fin de garantizar la confiabilidad y validez de las mediciones.

La limitada evidencia sobre los niveles de ABZSO plasmático de personas con tratamiento oral con ABZ no permite su exploración frente a los posibles eventos adversos a la salud como daño hepático o los cambios estructurales del quiste hidatídico, indicadores fundamentales para definir si el tratamiento fue eficaz o no. En ese sentido, la presente investigación busca en un primer sub-estudio validar un método basado en la cromatografía líquida de alto rendimiento con un sistema de detección en masas (HPLC-MS) para la medición de ABZSO en plasma humano. Este proceso es relevante para su posterior empleo en investigaciones que evalúen la biodisponibilidad del ABZ en personas con hidatidosis hepática. Nuestro segundo sub-estudio consiste en la evaluación de una cohorte de pacientes con

hidatidosis hepática que recibieron tratamiento oral con ABZ en dosis de 12.5mg/kg/día durante 3 meses. Esto nos permite relacionar los niveles de ABZSO plasmático con la actividad enzimática hepática, y de manera complementaria, con las características estructurales de los quistes evaluados por ultrasonografía (reducción mayor al 25% en el tamaño del quiste, separación de la membrana quística y/o calcificación del quiste).

## **II. HIPÓTESIS**

En el caso del sub-estudio 1, este se clasifica como un estudio de validación analítica de un método por cromatografía líquida de alto rendimiento con espectroscopia de masas (HPLC-MS) para la cuantificación de ABZSO en plasma humano; y los criterios para cumplir con el objetivo corresponden al cálculo de parámetros definidos por la guía de la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (41). Hipotetizamos que la HPLC-MS permite garantizar la validación en la cuantificación de ABZSO en plasma humano, cumpliendo con los estándares internacionales establecidos por la FDA. Respecto con el sub-estudio 2, la hipótesis principal establece que el nivel de concentración de ABZSO plasmático se asocia con la actividad enzimática hepática en pacientes con hidatidosis hepática que reciben tratamiento oral con albendazol. La hipótesis secundaria define que el nivel de concentración de ABZSO plasmático se asocia con las características estructurales del quiste hidatídico en pacientes con hidatidosis hepática que reciben tratamiento oral con albendazol

### III. VALIDACIÓN DE LA MEDICIÓN DE ALBENDAZOL SULFÓXIDO EN PLASMA HUMANO

#### 3.1 Justificación

La cisticercosis (42, 43) e hidatidosis (44, 45), zoonosis producidas por los estadios larvarios de los helmintos: *Taenia sollium* y *Echinococcus granulosus*, respectivamente, son consideradas un problema de salud pública por los efectos debilitantes asociados (2). El tratamiento farmacológico se basa en el uso del ABZ; sin embargo el ciclo de tratamiento de estas dos zoonosis son diferentes, siendo así para la cisticercosis periodos cortos (hasta 1 mes) con dosis que varían entre 800 a 1200 mg/día (46), mientras que para la hidatidosis periodos más prolongados (hasta 6 meses) con dosis que varían entre 600 y 800 mg/día (47). El ABZ actúa a nivel sistémico a través de su metabolito activo albendazol sulfóxido (ABZSO) (20), el cual debe alcanzar niveles óptimos en sangre para ejercer la acción escolicida por lo que se recomienda utilizar dosis altas por tiempos prolongados (48). A la fecha, la técnica de mayor confiabilidad para cuantificar ABZSO en sangre es la cromatografía líquida de alto rendimiento acoplado a espectroscopía de masas (HPLC-MS), tecnología que requiere áreas especialmente acondicionadas, haciendo difícil su implementación en zonas endémicas.

Existen investigaciones que han empleado diferentes metodologías para cuantificar el ABZSO en matrices biológicas, entre las que destacan la HPLC con detección en fluorescencia (23), ultra cromatografía líquida con detector de masas (uLC-MS) (24), electroforesis capilar (25) e incluso espectrofotometría en luz visible (26); sin embargo, los sistemas de detección son muy variables y los protocolos presentan

claras diferencias, sobre todo en el pretratamiento de las muestras (49-52). La medición del ABZSO es importante en el monitoreo de la eficacia del tratamiento de pacientes con hidatidosis y neurocisticercosis, dos zoonosis que son tratadas con altas concentraciones de ABZ, cuya composición química hace que tenga baja hidrosolubilidad y dificulte su cuantificación (53). A la fecha, no existe consenso en definir la metodología ideal para la cuantificación del ABZ-SFX en plasma humano, y ello dificulta la implementación de metodologías válidas que garanticen la cuantificación de ABZSO en plasma humano, generando limitaciones para el desarrollo de estudios de biodisponibilidad, farmacovigilancia, e incluso seguridad y eficacia como parte de los ensayos clínicos que buscan la evaluación del ABZ combinado a otros fármacos antiparasitarios.

Los procesos de validación analítica para la determinación de compuestos activos procedentes del metabolismo hepático humano por metodologías en HPLC-MS son muy complejos y difíciles de realizar, y es usual observar gran variabilidad en los parámetros de precisión y exactitud entre ensayos, aun para el mismo compuesto de interés a medir (54, 55). Por ello, diversos investigadores han desarrollado variaciones a las metodologías de medición del ABZSO por HPLC-MS, y evaluando la validez de estas.

Entre los antecedentes de investigación más importantes, no se han identificado estudios nacionales. Sin embargo, se presentan los estudios extranjeros más relevantes que refieren resultados de validación analítica para la medición de ABZSO por HPLC-MS.

González I. et al (2011) validaron un método LC-MS/MS para la determinación simultánea de ABZSO y ABZ sulfona en plasma humano. Obtuvieron un método lineal entre 20 y 5000 ng/mL para ABZSO, preciso (desviación estándar relativa (RSD) <12%) y exacto (Error relativo (RE) <7%) con alta tasa de recuperación (>90%). El método también fue empleado en la medición de ABZSO en líquido céfalo raquídeo obtenido de pacientes con neurocisticercosis subaracnoidea que recibieron ABZ a 30 mg/kg por día durante 7 días (52).

Wojnicz A. et al (2013) validaron un método en cromatografía líquida en tándem con detección en MS/MS orientado a la medición de ABZ y ABZSO. El método fue lineal en el rango de 5 a 1000 ng/ml para ABZ y de 10 a 1500 ng/ml (validación completa) o de 10 a 5000 ng/mL (validación parcial) para ABZSO, con un límite inferior de 5 y 10 ng/ml de cuantificación para ABZ y ABZSO, respectivamente. Las pruebas de exactitud y precisión, efecto matriz, recuperación de extracción y estabilidad de las muestras tanto para ABZ como para ABZSO no se desviaron más del 20 % para el límite inferior de cuantificación y no más del 15 % para otros controles de calidad según las agencias reguladoras (56).

Rathod D. et al (2016) desarrolló un método LC-MS/MS en tándem para la medición de ABZ y ABZSO empleando la ionización positiva. El ensayo mostró una respuesta lineal en el rango de concentración de 0,200 a 50,0 ng/mL para ABZ y de 3,00 a 600 ng/mL para ABZSO. Las recuperaciones de los analitos y los IS oscilaron entre el 86,03 % y el 89,66 % y entre el 89,85 % y el 98,94 %, respectivamente. El efecto de matriz, expresado como factores de matriz normalizados por IS, osciló entre 0,985 y 1,042 para ambos analitos (57).

Saraner N. et al. (2016) validaron un método LC-MS/MS para la determinación de ABZSO en plasma humano, y empleando la ionización con electrospray (ESI) en modo de monitoreo de iones positivos y reacción múltiple. El método fue lineal en el rango de 3–1500 ng/mL para ABZOX, y estable a temperaturas de 10°C, 20°C, -20°C y -70°C, con coeficientes de variación que no excedieron al 5% en concentraciones de 9, 600 y 1125 ng/mL (58).

Chlonker Y. et al (2018) validó un método LC-MS/MS en tándem para la cuantificación de ABZ y metabolitos en plasma humano. La medición fue lineal en el rango de concentración de 0,1 a 200 ng/mL para ABZSO y ABZON, 0,5–1000 ng/mL para ABZSO. La desviación estándar (% RSD) y precisión (% de sesgo) estuvieron dentro de los límites aceptables según las pautas de la FDA (59).

Dada la necesidad en nuestro país, de contar con una metodología válida y confiable para medir los niveles de ABZSO en personas que reciben tratamiento con ABZ por diferentes patologías, entre las que destaca la hidatidosis, planteamos un estudio que tuvo por objetivo validar una metodología de HPLC-MS para la cuantificación de ABZSO en plasma humano, la cual es relevante para el soporte de ensayos clínicos que involucren el tratamiento con albendazol, sobre todo en personas con zoonosis parasitarias como la cisticercosis e hidatidosis, donde el seguimiento y monitoreo del paciente es fundamental para lograr el éxito del tratamiento y reducir la probabilidad de desarrollar eventos adversos asociados al uso de este fármaco.

### **3.2. Pregunta de Investigación Principal de la investigación 1:**

¿El método de cromatografía líquida de alto rendimiento con detección por espectroscopia de masas (HPLC-MS) para la cuantificación de ABZSO en plasma humano es válido?

### **3.3. Hipótesis de la investigación 1:**

Hipotetizamos que la HPLC-MS permite garantizar la validación en la cuantificación de ABZSO en plasma humano, cumpliendo con los estándares internacionales establecidos por la FDA

### **3.4. Materiales y Métodos**

Este es un estudio que corresponde a una validación analítica de método de ensayo, de acuerdo a los lineamientos que exige la la guía de validación de ensayos bioanalíticos de la FDA (41). La investigación fue parte del estudio “*Validación de una prueba para medición de albendazol sulfóxido en plasma, eficacia y actividad enzimática hepática en pacientes con hidatidosis hepática en tratamiento oral con albendazol*”, el cual fue registrado en el Sistema Descentralizado de Información y Seguimiento a la Investigación (SIDISI N° 104243) y aprobado por el Comité de Ética de la Universidad Peruana Cayetano Heredia, con constancia N° 456-18-9, el 26 de agosto de 2019.

#### **3.4.1. Diseño**

El estudio no se encuentra dentro de la clasificación de estudios epidemiológicos, sino, corresponde a estudios de validación analítica, cuya planificación y ejecución obedece a las exigencias de agencias internacionales

regulatorias en aspectos de calidad en laboratorios de bioensayos. En nuestro caso, el estudio sigue las recomendaciones de la FDA de Estados Unidos (41) para validar métodos bioanalíticos. Además, nos hemos soportado en conceptos y definiciones establecidas en la guía para validación de métodos brindadas por la EMA (60).

### **3.4.2. Población y Diseño muestral**

#### **3.4.2.1. Población**

No aplica, considerando que es un trabajo dirigido estrictamente al desarrollo de actividades dentro del Laboratorio de Biodisponibilidad y Bioequivalencia del Centro Nacional de Control de Calidad del Instituto Nacional de Salud. La evaluación de cada parámetro de la validación analítica implica el análisis de una cantidad de muestras predeterminadas en la guía de la FDA (41). Estas muestras no proceden de personas, sino, se trabaja sobre matrices biológicas caracterizadas en el laboratorio bajo condiciones controladas.

##### ***3.4.2.1.1. Criterios de inclusión***

No aplica, dado que las condiciones de aceptabilidad de las matrices para ensayar son predefinidas en el laboratorio.

##### ***3.4.2.1.2. Criterios de exclusión***

No aplica

### **3.4.3. Muestreo**

### 3.4.3.1. Tipo de muestreo

El número de mediciones por cada parámetro que constituye la validación analítica estuvo definida según lo establecido en la guía de validación de ensayos bioanalíticos de la FDA (41). A continuación, se presenta la cantidad de mediciones realizadas por cada parámetro incluido en la validación de ensayo:

| <b>Parámetro</b>          | <b>Cantidad de mediciones</b>                                       |
|---------------------------|---|
| Linealidad                | 5 mediciones por duplicado y durante 10 días (n=100)                |
| Precisión                 | 3 mediciones en 4 concentraciones (n=12)                            |
| Exactitud                 | 2 mediciones en 4 concentraciones (n=8)                             |
| Límite de cuantificación  | 5 mediciones por duplicado (n=10)                                   |
| Recuperación              | 5 mediciones en 3 concentraciones (n=15)                            |
| Estabilidad a corto plazo | 5 mediciones en 3 concentraciones al inicio y a las 24 horas (n=30) |

### 3.4.4. Procedimientos del estudio

#### 3.4.4.1. Insumos químicos y materiales

Albendazol sulfóxido HCl liofilizado (pureza  $\geq 99\%$ , Batch 61113003) procedente de la empresa Changzhou Yaband-Qh Pharmachem Co., LTD., China. El hidróxido de amonio al 35% (CAS 1336-21-6, grado HPLC masas) y metanol (CAS 67-56-1, grado HPLC masas) fueron adquiridos de la empresa Merck, Alemania. El

isopropanol (CAS 353800010002, grado HPLC masas) fue provisto por Alcopharma, Perú; y el acetonitrilo (CAS 75-05-8, grado HPLS masas) por la empresa JT Baker, Estados Unidos. Se utilizaron columnas C18 de 100 x 4.6 mm x 3.5  $\mu$ m (CAS 12000310082) de la marca Purospher, Alemania; y micropipetas de rangos 2-20  $\mu$ L (Lote 4642060), 10-100  $\mu$ L (Lote 4642070), 100-1000  $\mu$ L (Lote 4642080) y 500-5000  $\mu$ L (Lote 4642100) de la marca Thermo Fisher Scientific, Estados Unidos.

#### **3.4.4.2. Método de ensayo para la cuantificación de albendazol sulfóxido en plasma humano**

##### **1) Construcción de curva de calibración:**

Construcción de curva de calibración: se empleó un estándar de albendazol sulfóxido de la marca Swiss TPH (serie 61113004), que permitió preparar una solución stock de 0.1 mg/mL, y a partir de ella, soluciones de trabajo a concentraciones de 0.5, 5, 10, 25, 50, 75 y 100  $\mu$ g/mL en fase móvil y sirvieron para la construcción de la curva de calibración en plasma fresco congelado donado por el Banco de Sangre de un Hospital Público de Lima. Este plasma fue enriquecido con concentraciones de ABZSO: 1, 5, 50, 100, 200, 500, 1000 y 1500 ng/mL. La solución stock fue almacenada a -20°C hasta por 30 días. El control de calidad interno se realizó sobre los análisis de muestras de plasma fortificados con soluciones de ABZSO a concentraciones de 5, 500 y 1000 ng/mL, y fueron congelados a -70°C hasta su uso. Se empleó como estándar interno, una solución de ABZ a una concentración de 0.5  $\mu$ g/mL.

## **2) Condiciones de la HPLC-MS:**

Las mediciones se realizaron en un sistema de cromatografía líquida de alto rendimiento acoplado a detector de masas (HPLC-MS) de triple cuadrupolo, Thermo Scientific™ TSQ Quantis™, utilizando una Columna C18 (100x 4.6 mm x 3.5 μm) a 25°C. La fase móvil estuvo constituida de metanol, agua y solución de amonio al 25% (800:200:0.1 v/v/v), y el flujo de inyección fue de 0.5 mL/min. Se inyectó 5 μL de la muestra a través del automuestreador a 5°C. Las transiciones de monitoreo de reacción múltiple para el ABZSO y ABZ fueron de 281.7 > 159.0 y 266.0 > 234.0, respectivamente; mientras que la energía de colisión fue de 5 y 20 eV. El procedimiento para la medición de ABZSO ha sido adaptado de lo evidenciado por Saraner N. et al (58). El ensayo original fue realizado en cromatografía líquida con detector MS/MS en tándem, a 30°C y a un flujo de inyección de 0.7 mL/min. Todos los procedimientos fueron realizados en el Laboratorio de Biodisponibilidad y Bioequivalencia del Centro Nacional de Control de Calidad del Instituto Nacional de Salud de Perú.

## **3) Parámetros de validación analítica:**

La validación analítica del método se realizó según la Guía de Validación de Métodos Bioanalíticos de la FDA (41).

- a. Linealidad: se evaluó mediante tres indicadores: (1) los puntos de la curva de calibración en el nivel del límite de cuantificación deben tener una desviación estándar relativa (DER)  $\leq 20\%$ , (2) El estándar de ABZ como control interno tener un DER  $\leq 15\%$ , y (3) el coeficiente de correlación debe ser  $\geq 0.98$ .

- b. Precisión: se evaluó mediante dos indicadores: (1) los puntos en el nivel del límite de cuantificación deben tener un coeficiente de variación (CV)  $\leq 20\%$  de la concentración declarada, y (2) El CV de los controles en tres niveles de concentración de ABZSO (QCA=3ng/mL, QCB=9 ng/mL y QCC=600 ng/mL) no debe ser mayor al 15% de la concentración nominal declarada. Para cada concentración el coeficiente de variabilidad (CV%) calculado con 5 alícuotas no deberá exceder 15%.
- c. Límite de cuantificación: se evaluó la inexistencia de interferencia o respuesta 5 veces mayor que cualquier interferencia existente en los cromatogramas de plasma blancos a los tiempos de retención en uso.
- d. Exactitud: Para evaluar la exactitud del método se compararán los resultados de concentración obtenidos contra la concentración nominal de muestras control, analizadas paralelamente con una curva de calibración en plasma. Se considerará como exacto los valores con desviación relativa de  $\pm 15\%$  del valor de la concentración nominal y con precisión de no más de 15% para el valor del CV. Para el límite de cuantificación se consideró la concentración más baja del ABZSO con la cual se obtuvo una precisión satisfactoria (CV < 20%) y exactitud (expresada como el porcentaje de desviación relativa del valor nominal) con un valor límite de  $\pm 20\%$ .
- e. Recuperación: El nivel de recuperación absoluta se determinó en términos de porcentaje, al analizar muestras de plasma añadidas con ABZSO y soluciones estándar no sometidas a extracción a tres concentraciones diferentes comprendidas en el intervalo de trabajo: 270 ng/mL (nivel bajo), 540 ng/mL (nivel medio) y 1080 ng/mL (nivel alto) para ABZSO. Estas

concentraciones fueron seleccionadas en base a los hallazgos reportados por García H., et al (61) cuyos niveles de ABZSO oscilaron entre 352.1 y 741.2 ng/mL. La recuperación del analito y del estándar interno no debe ser menor al 50%

- f. Estabilidad a corto plazo: La variación de las muestras sometidas a descongelamiento a temperatura ambiente por 24 horas no debe ser mayor que 15% de las muestras frescas

### **3.4.4.3. Recolección de datos**

#### ***3.4.4.3.1. Cuestionarios***

No aplica

#### ***3.4.4.3.2. Muestras biológicas***

Se empleó una unidad de plasma fresco congelado donado por el Banco de Sangre de un Hospital Público de Lima Metropolitana. Este hemocomponente fue sometido a un proceso de fortificación con un estándar de referencia comercial para ABZSO, de acuerdo con los requerimientos de evaluación en cada parámetro de validez exigida por FDA. El manejo de las muestras fue realizado en el laboratorio de Bioequivalencia del Centro Nacional de Control de Calidad del Instituto Nacional de Salud.

### **3.4.4.4. Procesamiento de muestras biológicas**

Se realizó de acuerdo con lo descrito en el numeral 3.4.4.2

#### **3.4.4.5. Supervisión y monitoreo de actividades**

Cada medición fue registrada en formularios de trabajo para cada parámetro de validación, propios del sistema de gestión de calidad del laboratorio de bioequivalencia del CNCC-INS. Dado que este laboratorio se encuentra acreditado bajo la norma ISO/IEC 17025, la verificación de los hallazgos fue realizada por el responsable del laboratorio, para verificar el cumplimiento y la identificación de posibles desviaciones durante las etapas preanalítica, analítica y postanalítica.

#### **3.4.5. Variables de estudio**

##### **3.4.5.1. Variable desenlace (dependiente) y covariable principal (independiente)**

La validación analítica implica la evaluación de diferentes parámetros de validez que define la FDA, y para ello utiliza diferentes indicadores estadísticos (promedio, desviación estándar relativa, coeficiente de variación. Sesgo y coeficiente de correlación de Pearson). En consecuencia, la única variable que se estudiará a través de dichos parámetros es el ABZSO.

- Definición conceptual: es un metabolito producido de la oxidación del albendazol en tejido hepático mediante reacción en fase 1, vía citocromo P450, presentando alta capacidad antihelmíntica. Su presencia estará definida por la concentración del ABZSO en plasma utilizado en el proceso de validación. La concentración de ABZSO fue medida por cromatografía líquida de alto rendimiento con

detector de masas (HPLC-MS). La concentración de ABZSO será presentada en escala numérica de razón y en ng/dL.

### 3.4.5.2. Otras covariables relevantes

No aplica

### 3.4.5.3. Gráfico acíclico dirigido 1 (DAG)

No aplica

### 3.4.6. Procesamiento y análisis estadístico

Los estadísticos utilizados para evaluar cada parámetro de la validación estuvieron definidos por Guía de Validación de Métodos Bioanalíticos de la FDA. A continuación, se muestra los estadísticos a utilizar por cada parámetro evaluado:

| PARÁMETROS | EVALUACIÓN   |
|------------|--|
| Linealidad | Los puntos de la curva en el nivel LOQ deben tener un DSR $\leq 20\%$                |
|            | Los otros estándares deben tener un DRS $\leq 15\%$                                  |
|            | $r \geq 0.98$  |
| Precisión  | Los puntos en el nivel LOQ (CV%) deben ser $\leq 20\%$ de la concentración declarada |

|                           |   |
|---------------------------|---|
|                           | El CV% de QCA, QCB y QCC, no deben ser mayor al 15% de la concentración declarada   |
| Exactitud                 | Los puntos en el nivel LOQ deben tener un % $\leq$ 20%  |
|                           | El % de QCA, QCB y QCC no deben ser mayor al 15%  |
| Límite de cuantificación  | La respuesta del analito en LOQ debe ser por lo menos cinco veces con relación a la respuesta del blanco  |
| Recuperación              | La recuperación del analito y del estándar interno no debe ser menor al 50%   |
| Estabilidad a corto plazo | La variación de las muestras sometidas a descongelamiento a temperatura ambiente por seis horas no debe ser mayor que 15% de las muestras frescas |

Así mismo, se presentaron gráficos de los cromatogramas para identificar los picos de máxima concentración de ABZSO. Los cálculos estadísticos se realizaron en el programa StataCorp LLC College Station, TX versión 15 y el gráfico de curva de calibración en el programa GraphPad Prism versión 8.0.

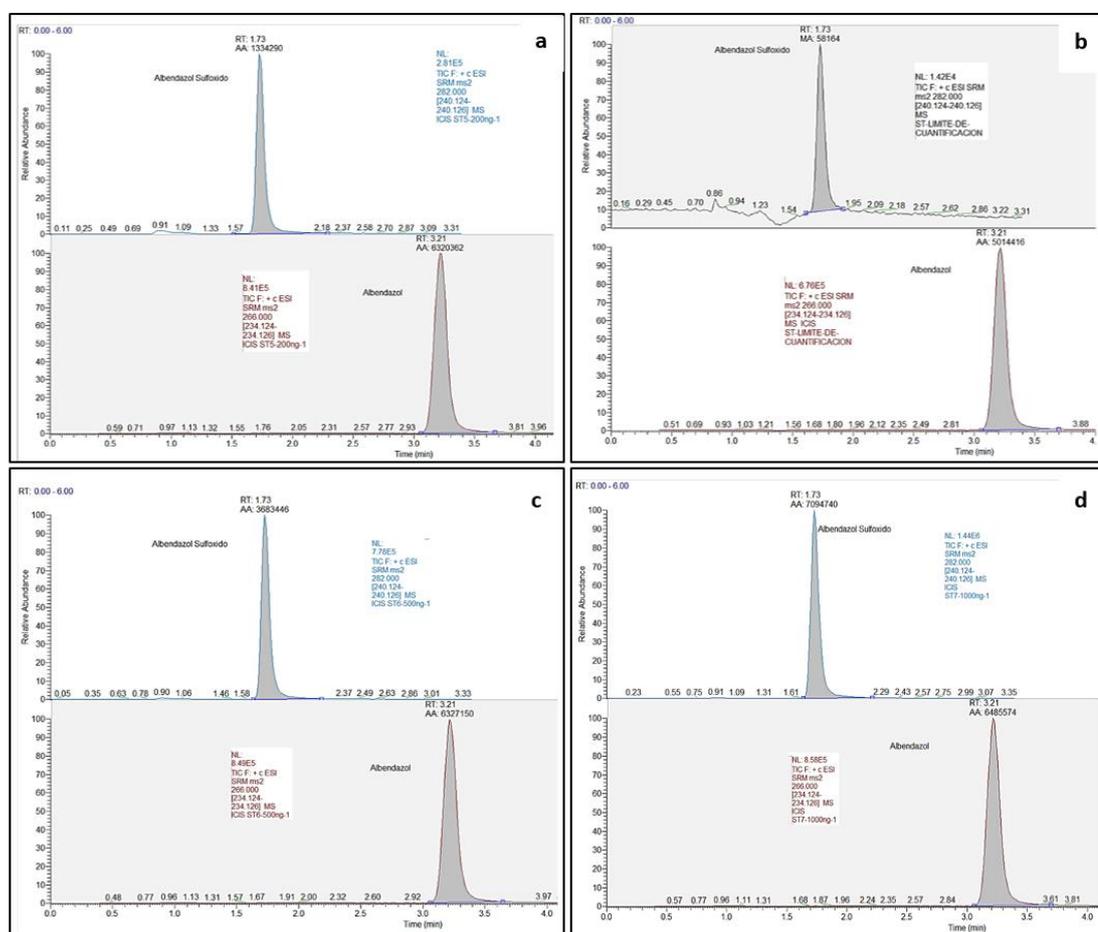
### 3.4.7. Tamaño de muestra o Potencia estadística

La cantidad de mediciones por cada parámetro de validez evaluado se consideraron en el numeral 3.4.3.1.

## 3.5. Resultados

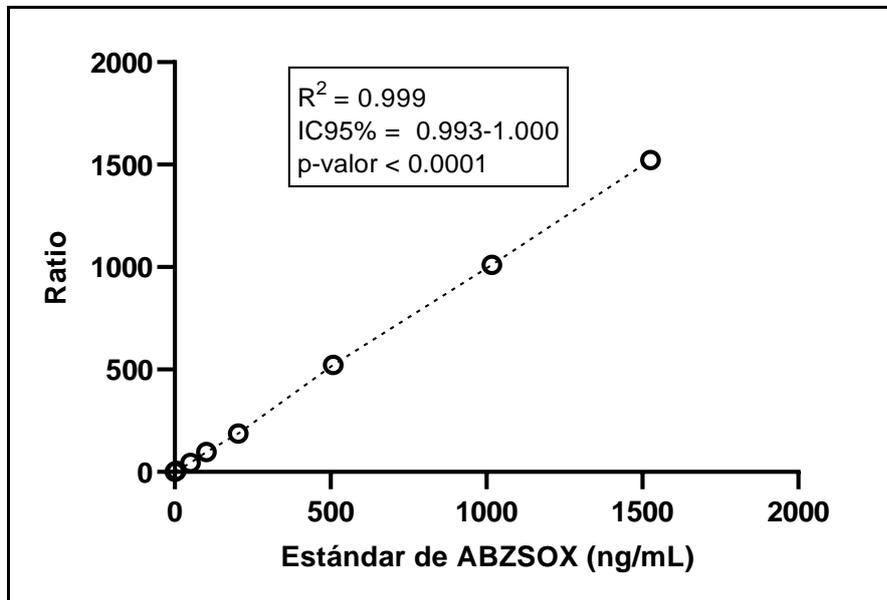
### 3.5.1. Enrolamiento y muestra de estudio

Los cromatogramas obtenidos para el ABZ y ABZSO no muestran interferencia de compuestos endógenos en el tiempo de retención. Así mismo, se presentan los parámetros cromatográficos (área (AA) y tiempo de retención (RT)) para cada corrida en concentraciones diferentes (figura 1).



**Figura 1.** Cromatogramas de las corridas realizadas. (a) Estándar de ABZ y de ABZSO, (b) Límite de cuantificación de ABZSO a 1 ng/mL, (c) ABZSO a 500 ng/mL, y (d) ABZSO a 1000 ng/mL

Los seis parámetros incluidos al plan de validación del método cumplieron con los valores esperados según lo establecido por la FDA. La concentración del ABZSO tuvo una respuesta lineal desde 1 a 1500 ng/mL, con un coeficiente  $r^2 = 0.999$ . La ecuación lineal para la curva de calibración fue  $Y = 1.000 X - 3.051$  (**figura 2**). La DER para concentraciones de ABZSO en 1, 5, 50, 100, 200, 500, 1000 y 1500 ng/mL fue de 10.4, 8.4, 7.8, 2.9, 7.4, 3.2, 3.4 y 1.3%, respectivamente.



**Figura 2.** Curva de calibración del ABZSO

### 3.5.1.1. Parámetros de la validación analítica

**Tabla 1.** Límite de Cuantificación, Precisión y Exactitud del Método HPLC-MS para la determinación de albendazol sulfóxido en plasma humano

| Matriz | Precisión |                 |        | Exactitud               |                          |            |
|--------|-----------|-----------------|--------|-------------------------|--------------------------|------------|
|        | Promedio  | DE <sup>a</sup> | CV (%) | [ABZSO] nominal (ng/mL) | [ABZSO] obtenida (ng/mL) | Sesgo (%)  |
| LLOQ   | 0.003     | 0.000           | 1.451  | 1.018                   | 0.901                    | -<br>11.46 |
| QCA    | 0.049     | 0.001           | 1.607  | 50.881                  | 43.400                   | -<br>14.70 |
| QCB    | 0.573     | 0.009           | 1.564  | 508.807                 | 522.794                  | 2.75       |
| QCC    | 1.110     | 0.012           | 1.062  | 1017.613                | 1009.427                 | -0.80      |

<sup>a</sup>Desviación estándar

El valor bajo para el límite de cuantificación del ABZSO a 1 ng/mL tuvo una señal cinco veces mayor a la respuesta del blanco. La precisión fue aceptable ya que el CV tuvo un valor de 1.451% en el límite de cuantificación del ABZSO. Así mismo, las cinco réplicas para los tres controles de calidad en diferentes niveles de concentración de ABZSO (QCA=3ng/mL, QCB=9 ng/mL y QCC=600 ng/mL)) tuvieron CV menores al 20%. Por otro lado, las concentraciones de los 3 controles respecto a sus valores nominales no excedieron el 15%, y sobre el límite de cuantificación fue de 12%, evidenciando una exactitud aceptable (**tabla 1**).

**Tabla 2.** Recuperación del método HPLC-MS para la determinación de albendazol sulfóxido en plasma humano

| Matriz          | [ABZSO]<br>teórica (ng/mL) | [ABZSO] obtenida (ng/mL) |               | Recuperación<br>(%) |
|-----------------|----------------------------|--------------------------|---------------|---------------------|
|                 |                            | En plasma                | En fase móvil |                     |
| QCA             | 50.881                     | 43.809                   | 57.689        | 75.94               |
| QCB             | 508.807                    | 520.811                  | 552.193       | 94.32               |
| QCC             | 1017.613                   | 1011.610                 | 1037.986      | 97.46               |
| <b>Promedio</b> | ---                        | ---                      | ---           | 89.20               |

La recuperación de un pool de siete muestras de plasma humano fortificadas con ABZSO a concentraciones teóricas de 50.9, 508.8 y 1017.6 ng/mL fue de 89.2%, evidenciando cumplimiento para este parámetro (**tabla 2**).

**Tabla 3.** Estabilidad del método HPLC para la determinación de albendazol sulfóxido en plasma humano

| Matriz           | [ABZSO]<br>teórica<br>(ng/mL) | [ABZSO] obtenida (ng/mL) |                     | Recuperación<br>(%) | CV<br>(%) |
|------------------|-------------------------------|--------------------------|---------------------|---------------------|-----------|
|                  |                               | Recién<br>preparado      | 24 horas<br>después |                     |           |
| <b>Muestra 1</b> | 50.881                        | 43.809                   | 47.624              | 108.39              | 5.90      |
| <b>Muestra 2</b> | 508.807                       | 520.811                  | 516.125             | 99.10               | 0.64      |
| <b>Muestra 3</b> | 1017.613                      | 1011.610                 | 1008.310            | 99.67               | 0.23      |
| <b>Promedio</b>  | ---                           | ---                      | ---                 | 102.4               | 2.30      |

Tres muestras de plasma fueron congeladas entre -15 y -20°C y la variación relativa entre sus concentraciones antes y después de congeladas fue de 2.3%, valor aceptable para la estabilidad a corto plazo (**tabla 3**).

### 3.5.1.2. Concentración de ABZSO en muestras de pacientes tratados con ABZ por vía oral

**Tabla 4.** Concentración de albendazol sulfóxido en muestras de pacientes tratados con albendazol

| Código de muestra | [ABZSO] (ng/mL) |           | Promedio (ng/mL) |
|-------------------|-----------------|-----------|------------------|
|                   | Réplica 1       | Réplica 2 |                  |
| BXSGM2370756      | 344.0           | 347.1     | 345.6 ± 2.2      |
| CDSSF4470115      | 607.0           | 627.5     | 617.3 ± 14.5     |
| DABBM4492946      | 433.6           | 441.2     | 437.4 ± 5.4      |

Finalmente, aplicamos el método validado en tres muestras de plasma criopreservadas y procedentes de pacientes con diagnóstico de neurocisticercosis, quienes completaron tratamiento oral con albendazol durante 2 semanas a dosis de 1200 mg/día (**tabla 4**).

### 3.6. Discusión

Nuestros resultados garantizan la validez analítica de la medición de ABZSO por HPLC-MS en un rango que abarcan las posibles concentraciones de ABZSO que se generan a partir del metabolismo de un individuo que recibe tratamiento oral con ABZ en dosis que oscilan entre 400 y 1200 g/día y periodos que se extienden hasta los 90 días (61). El método validado ofrece un bajo límite de cuantificación y rango de medición útil más amplio (1-1500 ng/mL) en comparación a otros estudios que han reportado valores entre 2 y 1500 ng/mL (52, 58, 62, 63), y con tiempos de lectura de 4 minutos por muestra,

Los estudios de validación para la medición del ABZSO presentan resultados muy dispersos. Por ejemplo, Kitzman et al reporto un método validado con tiempos de lectura de hasta 30 minutos y recuperación a 98%, rango de medición 20-1000 ng/mL, y CV de 6.7, 8.1 y 7.0%, para concentraciones de ABZSO de 20, 400 y 600 ng/mL, respectivamente (64). Bonato et al, reportó un método con tiempo de lectura de hasta 15 minutos y con recuperación promedio de 87.8% y con CV de 6.9 y 92% para concentraciones de ABZSO de 90 y 1000 ng/mL, respectivamente (51). Nuestro método presenta uno de los mejores tiempos de lectura reportados en la literatura científica, con CV que oscilan entre 1.062 y 1.607%, evidenciando una excelente precisión del ensayo, y con una tasa de recuperación aceptable (89.2%) y comparable a lo reportado en estudios previos

La absorción del ABZ puede incrementar con dietas altas en lípidos (65) o en condiciones ácidas a nivel gástrico, generando como consecuencia una alta variabilidad interindividual en los niveles de ABZ y ABZSO plasmático (66). Por otro lado, El metabolismo oxidativo del ABZ es rápido y el tiempo de vida media

de sus metabolitos (ABZSO y ABZSO<sub>2</sub>) oscila entre 1 y 24 horas alcanzando picos máximos de concentración entre 4 y 6 horas (67); por lo tanto su medición debe ser oportuna y con metodologías que tengan alta sensibilidad.

Las concentraciones de ABZSO obtenidas en muestras de plasma humano estuvieron dentro de la linealidad del método y guardaron coherencia con lo reportado en el estudio original (61).

La validación no incluyó el estudio de compuestos interferentes, los cuales podrían generar pérdida de la señal del ABZSO y alterar los parámetros de precisión y exactitud del método. Por consiguiente, es necesario evaluar matrices fortificadas con potenciales interferentes inherentes al paciente, como variación en el pH, concentración de lípidos, bilirrubina y hemoglobina (68); y otros externos, como la presencia de fármacos que forman parte del tratamiento combinado, por ejemplo, mebendazol (17) o praziquantel (69). Por otro lado, la implementación del método para determinar ABZSO por HPLC-MS es costosa, y requiere de la manipulación de insumos químicos fiscalizados, equipamiento de alta tecnología, infraestructura adecuada del laboratorio y personal entrenado y calificado (70). Estos requerimientos hacen que el método sea difícil de implementar en establecimientos de salud pública; sin embargo, sirve como prueba de oro para comparar resultados de otras pruebas alternativas que vienen evaluándose (56, 71). En nuestro estudio, el costo estimado para la medición por duplicado de ABZSO plasmático ascendió a un promedio de 50 dólares americanos. Este costo podría dificultar su inclusión en los programas de monitoreo biológico de pacientes en tratamiento con ABZ; sin embargo, su financiamiento podría ser a través del seguro integral de salud, previa implementación y validación de la metodología.

La variación en el centro quiral del grupo sulfóxido del ABZSO puede generar compuestos enantioméricos, cuya farmacocinética genera diferentes afinidades a proteínas citosólicas en los helmintos, y en consecuencia modificar la eficacia del tratamiento (72); sin embargo, existen metodologías cromatográficas con sistemas de detección en fluorescencia que permiten su medición con rangos bastante amplios que oscilan entre 5-2500 ng/mL (73). Para futuras validaciones, se debería considerar la medición de enantiómeros para los compuestos activos del ABZ.

En resumen, nuestro método cumple con todos los parámetros exigidos por FDA para la validación de ensayos bioanalíticos, y presenta una adecuada precisión y exactitud, y destaca el amplio rango para la cuantificación de ABZSO con un bajo límite de detección y tiempos cortos que no superan los 4 minutos de lectura, aspectos importantes a considerar en estudios de bioequivalencia, biodisponibilidad, ensayos clínicos, farmacovigilancia, entre otros.

## **IV. ASOCIACIÓN ENTRE LOS NIVELES PLASMÁTICOS DE ALBENDAZOL SULFÓXIDO CON LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA HEPÁTICA EN PACIENTES CON HIDATIDOSIS HEPÁTICA DURANTE EL TRATAMIENTO ORAL CON ALBENDAZOL**

### **4.1. Justificación**

La hidatidosis es una zoonosis parasitaria producida por la ingesta accidental de huevos de *E. granulosus*, el cual alcanza su fase larvaria en órganos como hígado y pulmón, donde forma el quiste hidatídico (74). El diagnóstico de hidatidosis hepática se establece por métodos imagenológicos (ultrasonografía, tomografía) que son acompañados de métodos serológicos (ELISA, western blot) (75-77). A pesar de contar con guías de tratamiento, que recomiendan el uso de diversas alternativas dependiendo de la clasificación ecográfica del quiste hidatídico (78), la cirugía es una opción de tratamiento más utilizada a nivel nacional (79), sin embargo esta tiene un alto porcentaje de recurrencias ya sea por cirugía inadecuada (80) o re infección por vivir en zonas endémicas (81). Por otro lado, el tratamiento con albendazol (ABZ) ha reducido la viabilidad del quiste de acuerdo a algunas series clínicas (34); aunque con ciertas limitaciones, entre las que destaca el abandono del tratamiento ante la falta de seguimiento durante el periodo prolongado (82), así como el de no alcanzar el nivel óptimo de albendazol sulfóxido (ABZSO) en sangre (83), metabolito producido en el hígado vía citocromo P450, que tiene la principal actividad escolicida (20).

El tratamiento oral por 3 meses con ABZ reduce significativamente la viabilidad de las escólices del parásito, para proseguir con la cirugía y 1 mes más de

tratamiento (84); sin embargo, no evita por completo la recurrencia de la enfermedad; y esto se debe a que el ABZ podría ser más parasitostático que parasitocida (85), alcanzando niveles máximos en sangre a las 4 horas con un tiempo de vida media de 6-15 horas (86). Existe poca evidencia que señale la eficacia del tratamiento con ABZ en la hidatidosis, tanto en su esquema cíclico como continuo, o evaluando dosis mínimas efectivas (87); sólo se ha demostrado eficacia del 94% en pacientes con hidatidosis abdominal que recibieron ABZ a 10 mg/kg diariamente durante 3 meses, y con cambios ecográficos en 68% (88). A esto se suma, la elevada variabilidad en cuanto al empleo de los tratamientos para hidatidosis, incluso de prácticas erróneas en el manejo de la enfermedad (89), aun cuando existen recomendaciones consensuadas por la IWGE-WHO (78). Por otro lado, poco se conoce sobre los cambios de las características estructurales del quiste hidatídico durante el periodo de tratamiento (90).

Se sabe que los quistes hidatídicos pueden formarse en cualquier área del cuerpo, siendo hígado, pulmones y riñones las áreas más afectadas; otros órganos comprometidos pueden ser el cerebro, tejido óseo, bazo, etc. (91). El propio ciclo biológico del parásito parte desde un escólex de la larva adulta que logra formar y diseminar huevos para repetir el ciclo. El parásito a lograr alojarse exitosamente en su hospedero (sea definitivo o accidental) tiene un periodo de vida aproximado de 180 a 240 días (92); el parásito empieza con la formación de vesículas con doble capa o membrana; una germinativa (interna) y endoquística (externa). En casos de mayor actividad, se logra formar una tercera capa llamada periquística (93). El aumento del líquido intraquístico (producto del propio metabolismo del parásito) provoca un mayor volumen, formando protoescólices, vesículas de proliferación

(vesículas hijas) y escólices; este último dando origen a la “arenilla hidática” (94). El líquido intraquístico es una formación de sodio, urea, agua, ácido úrico, lípidos y restos de albumina (95). Además, estos quistes pueden crecer un promedio de 1 - 50 mm por año, llegando a tener tamaños que oscilan entre 1 y 15 cm si tiene un metabolismo muy activo; en caso contrario se mantendrán del mismo tamaño si llegan a inactivarse (93). Cabe señalar que la OMS (así como muchos colaboradores en investigaciones) han determinado una clasificación estándar para el tamaño de los quistes, siendo los >10cm considerados quistes grandes, 5-10cm quistes medianos y los <5cm quistes pequeños (96).

La principal complicación que se desarrolla en la hidatidosis es la contaminación o infección del líquido intraquístico a otras estructuras anexas debido a la rotura o perforación del propio quiste, provocando infecciones agudas (ictericia) o severas (97); Otros problemas anexados a la enfermedad (y según su ubicación) pueden provocar obstrucción de vasos o conductos (98) y compresión de órganos, además de que el tratamiento con fármacos puede generar respuestas de hipersensibilidad en pacientes (shock anafiláctico) (99). Un aspecto general de las complicaciones de quiste es que siempre se manifiestan con dolor agudo, sea en área abdominal, torácico o regional (quistes ubicados en otras áreas del cuerpo), con una sensación de presión; a su vez, náuseas, cefalea, debilitamiento muscular y fatiga (100). Casos como la ruptura de un quiste hepático, sea antes o después de la cirugía, puede llegar a provocar una infección generalizada por el paso del líquido hidatídico; como pancreatitis aguda o dilatación de vasos biliares con formación de fistulas directas al quiste (101). Otras complicaciones que llegan a ser graves por la manifestación de un quiste roto (en su mayoría quistes pulmonares o hepáticos) son las invasiones

a zonas de irrigación importantes (como la vena cava inferior, los vasos hepáticos o la circulación linfática), creando una conexión por anastomosis (fistula quística); el tamaño del quiste puede llegar a extenderse a tal punto que puede alcanzar al corazón o diseminarse por los vasos hasta llegar al cerebro o riñones (102). Las complicaciones relacionadas a quistes pulmonares suelen darse debido a que su capa quística es mucho más fina y frágil que la de los quistes hepáticos, esto provoca un mayor riesgo de infección por rotura antes, durante o después de un procedimiento quirúrgico, sobre todo en niños (103). El expectorar material hidatídico (tos vómica hidatídica) es una de las principales señales de infección a nivel del tránsito bronquial principal, provocando inflamación alrededor de la pleura (pleuresía) y dificultad al respirar (disnea) (104). El padecer otras enfermedades tales como VIH sida, tuberculosis, cáncer, entre otros; aumenta el riesgo de que la salud de un paciente con hidatidosis empeore, esto suele deberse por el mismo sistema inmunológico descompensado o debilitado, lo que al ver alguna ruptura de la pared del saco quístico conlleva a una diseminación del parásito y provocar múltiples infecciones (105).

El monitoreo de la actividad hepática durante el tratamiento farmacológico de la hidatidosis es fundamental, puesto que cualquier factor interno o externo podría incrementar el riesgo de desarrollar efectos adversos como náuseas, vómitos, diarreas, e hipertransaminemia, siendo esta última un indicador de hepatotoxicidad aguda (15, 106). La alteración en la actividad enzimática hepática inducida por el tratamiento prolongado con ABZ ha sido poco explorada, existiendo estudios que han evidenciado alteración en las transaminasas después del uso prolongado de ABZ (107, 108). A pesar de esto, es limitada la evidencia

sobre la biodisponibilidad del albendazol y como este puede generar injuria hepática en quienes reciben el tratamiento. En relación a la biodisponibilidad, se conoce que el 70% del ABZSO se une a proteínas plasmáticas y representa el principal metabolito activo con capacidad antiparasitaria (109), en ese sentido su valoración en sangre, suero o plasma resulta importante para definir no solo la concentración ideal para alcanzar eficacia en el tratamiento, sino también para orientar al clínico en la toma de decisiones que eviten la manifestación de eventos adversos como la hepatotoxicidad, condicionada por el uso prolongado y a altas dosis de ABZ, características típicas del tratamiento de enfermedades como la hidatidosis (110-114).

En ese sentido, nuestro estudio evaluó los niveles de ABZSO asociados con la actividad enzimática hepática: alanino y asparatato amino transferasa (ALT y AST), gamma glutamil transferasa (GGT) y fosfatasa alcalina (FALC) (115). De forma complementaria, evaluamos la asociación del ABZSO plasmático con las características del quiste hidatídico en pacientes diagnosticados con hidatidosis hepática. Consideramos que el estudio permite mejorar la comprensión del tratamiento farmacológico con ABZ y los efectos que genera el ABZSO sobre el quiste hidatídico y el paciente tratado. Así mismo, podemos explorar el comportamiento de los niveles de ABZSO durante el periodo de tratamiento, y evaluar si a determinadas concentraciones en plasma, se alcanza cambios significativos en la estructura del quiste hidatídico, que puedan sugerir su inactivación y/o calcificación, como indicadores de eficacia de tratamiento; y por otro lado, vigilando la actividad enzimática hepática, como indicador de hepatotoxicidad aguda inducida por fármacos, de tal forma que el médico tratante

pueda suspender o continuar con el tratamiento, basado en información complementaria que mejore su decisión clínica.

#### **4.2. Pregunta de Investigación Principal de la investigación 2:**

¿Los niveles plasmáticos de albendazol sulfóxido estarán asociados con la actividad enzimática hepática en pacientes con hidatidosis hepática que reciban tratamiento oral con albendazol?

#### **4.3. Hipótesis de la investigación 2:**

En este estudio, se formulan las siguientes hipótesis:

- a) La concentración de albendazol sulfóxido (ABZSO) plasmático se asocia con la actividad enzimática hepática en pacientes con hidatidosis hepática que reciben tratamiento oral con albendazol. Esperamos encontrar asociación significativa entre las concentraciones plasmáticas de ABZSO con la actividad de la alanina aminotransferasa (ALT), aspartato aminotransferasa (AST), fosfatasa alcalina (FALC) y gamma glutamil transferasa ( $\gamma$ -GT) durante el periodo de tratamiento.
- b) La concentración de ABZSO plasmático se asocia con las características del quiste hidatídico en pacientes con hidatidosis hepática que reciben tratamiento oral con albendazol. Consideramos que conforme se incrementan las concentraciones de ABZO en plasma, debería existir disminución en el tamaño y volumen del quiste, desprendimiento de membrana quística, e idealmente, su calcificación e inactivación. Estos cambios deben expresarse en nueva calificación del quiste respecto a la evaluación ecográfica inicial, y de acuerdo con la clasificación que

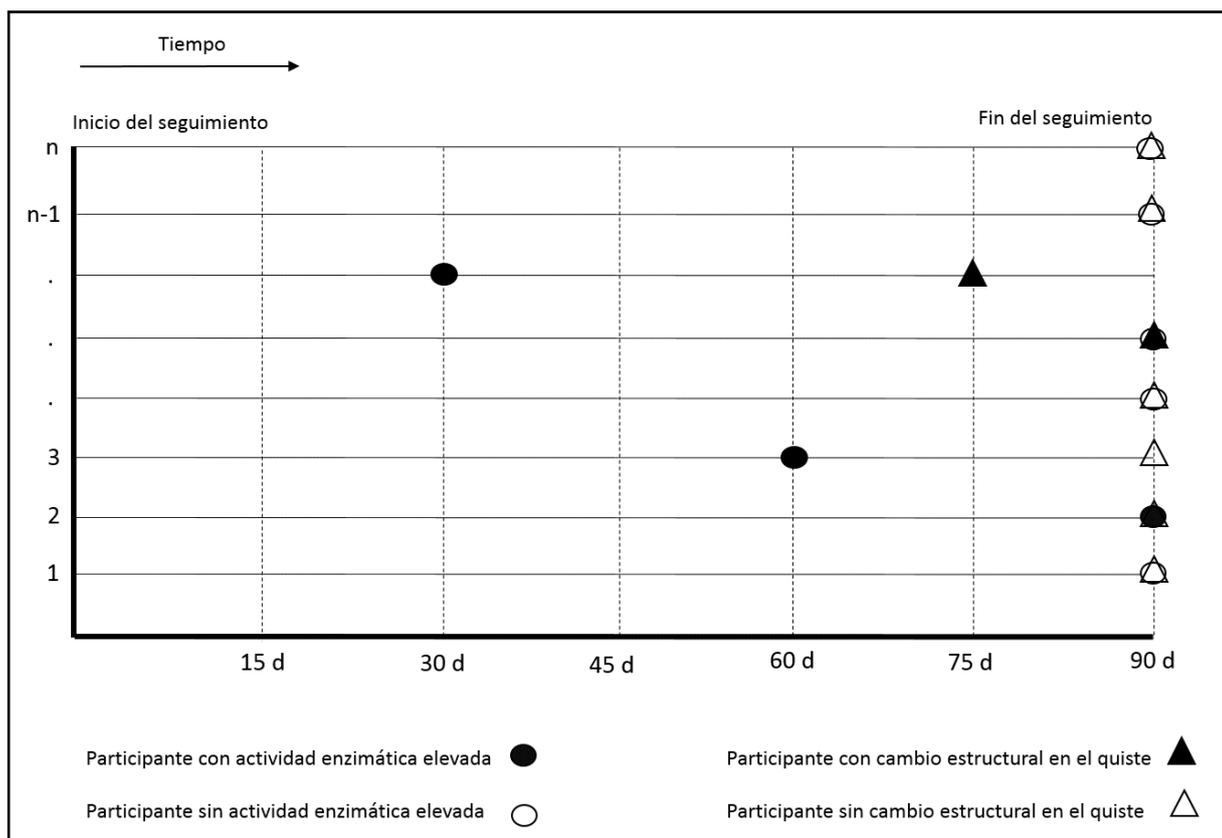
establece el grupo de trabajo informal de echinococcosis de la Organización Mundial de la Salud (IWGE-WHO).

## **4.4. Materiales y Métodos**

### **4.4.1. Diseño**

#### **1) Diseño del estudio primario**

Cohorte que incluyó pacientes con diagnóstico de hidatidosis hepática quienes recibieron tratamiento oral con ABZ como parte de su manejo habitual en el establecimiento de salud durante 3 meses. Se realizó evaluación por ultrasonografía abdominal antes del tratamiento y a los 15, 30, 45, 60, 75 y 90 días de haber iniciado el tratamiento asignado a cada paciente, con la finalidad de evaluar las características estructurales en el quiste hidatídico. Así mismo, el nivel de actividad enzimática hepática fue monitorizado antes de iniciar tratamiento y cada 15 días hasta completar los 90 días (tres ciclos). A continuación, se presentan el esquema de seguimiento:



**Figura 1.** Esquema de seguimiento en cohorte de pacientes con hidatidosis

#### 4.4.2. Población y Diseño muestral

##### 4.4.2.1. Población

Estuvo constituida por individuos diagnosticados con hidatidosis hepática mediante ultrasonografía abdominal, y confirmada por análisis de inmunoblot entre noviembre del año 2019 y marzo del año 2020. El proceso de reclutamiento fue a partir de una intervención dirigida al tamizaje de residentes de los Centros Poblados de Corpacancha, Chaquicocha, Ondores, Chala Alta, Chala Baja, Canchayllo y Pachacayo. Las comunidades están ubicadas en la región Junín, Perú, y tienen como actividad principal la crianza de ganado ovino, vacuno, equino y camélidos

sudamericanos. Además, en estudios previos, se ha reportado una prevalencia de hidatidosis hepática que oscila entre 5 y 15% aproximadamente en personas de los centros poblados mencionados. Por ello, la población de estudio procede de zonas endémicas a *E. granulosus*. Todos los participantes que resultaron positivos fueron derivados a su establecimiento de salud para el manejo respectivo. El tratamiento administrado a los participantes fue según lo establecido por cada establecimiento, quienes a la vez se guiaron de lo establecido por el Ministerio de Salud, la cual recomienda dosis de 12.5 mg/kg/día durante 3 meses (ciclos de tratamiento continuo de 1 mes con una semana de reposo). Las tabletas de ABZ fueron abastecidas por el Ministerio de Salud cuya marca Praxelmin, 200 mg (Jiangsu Pengyao Pharmaceutical Co., LTD, China) fue la misma para todos los pacientes, y recibieron la siguiente posología: vía oral 2 veces por día cada 12 horas, a las 8 de la mañana (2 tabletas) y 8 de la noche (2 tabletas); ósea, en total, 800 mg/día. Así mismo, el médico tratante indicó que se ingiera las tabletas después de haber consumido alimentos con contenido graso, para mejorar la absorción del fármaco. Se realizó un muestreo no probabilístico por conveniencia, y que dependió estrictamente de la identificación de individuos con hidatidosis hepática que recibieron tratamiento con ABZ y aceptaron participar en el estudio.

#### ***4.4.2.1.1. Criterios de inclusión***

Se incluyeron individuos de ambos sexos, mayores a 3 años, que tengan diagnóstico de hidatidosis hepática identificada por evaluación ultrasonográfica y que iniciaron tratamiento con ABZ en los establecimientos de salud respectivos.

#### **4.4.2.1.2. Criterios de exclusión**

Se excluyeron individuos que estuvieron recibiendo tratamiento con benzodiazepinas o fenitoina, individuos con hepatitis B, C o historial de alcoholismo y/o consumo de drogas de abuso. También se consideró para exclusión a individuos con diagnóstico de carcinoma hepatocelular, hipersensibilidad a ABZ, incapacidad o falta de voluntad para someterse a la evaluación ecográfica y/o colección de muestra de sangre en sus respectivos monitoreos mientras dure el tratamiento, e incapacidad o falta de voluntad del sujeto o tutor legal / representante para dar su consentimiento informado por escrito.

#### **4.4.3. Muestreo**

##### **4.4.3.1. Tipo de muestreo**

Se realizó un muestreo no probabilístico por conveniencia, y que dependió estrictamente de la identificación de individuos con hidatidosis hepática que recibieron tratamiento con ABZ y que desearon participar en el estudio.

#### **4.4.4. Procedimientos del estudio**

##### **4.4.4.1. Preparación**

Los encuestadores fueron entrenados para el llenado de la ficha de recolección de datos.

#### **4.4.4.2. Tamizaje y enrolamiento**

##### **1) Tamizaje:**

Todos los individuos reclutados fueron captados de las actividades de despistaje de hidatidosis que viene realizando el grupo de hidatidosis del Centro de Salud Global de la Universidad Peruana Cayetano Heredia en coordinación con las autoridades de las comunidades mencionadas. El programa de despistaje incluyó la evaluación ecográfica y muestreo de sangre para detección de anticuerpos contra *E. granulosus* en una prueba de inmunoblot. Para el presente estudio, se invitó a participar a todo individuo que haya sido diagnosticado y estuviese próximo a iniciar tratamiento. Todo individuo que aceptó participar del estudio fue entrevistado y se completó una ficha epidemiológica, dentro de las cuales se detallaron preguntas relacionadas al cumplimiento de los criterios de elegibilidad. Aquellos individuos que no cumplieron con dichos criterios fueron excluidos, pero recibieron los mismos beneficios de atención médica, como parte del programa de despistaje de hidatidosis.

##### **2) Enrolamiento:**

Todos los participantes que resultaron positivos fueron derivados a su establecimiento de salud para el manejo respectivo, de acuerdo con las recomendaciones establecidas por la OMS (116), a cada uno de ellos que cumplieron con los criterios de elegibilidad del estudio, se les informó de los beneficios y riesgos de su participación y los que aceptaron fueron incluidos previo consentimiento y/o asentimiento informado según fue el caso. El

tratamiento administrado a los participantes fue según lo establecido por cada establecimiento, quienes a la vez se guían de lo establecido por la OMS (116), la cual recomienda dosis de 12.5 mg/kg/día durante 3 meses (ciclos de tratamiento continuo de 1 mes con una semana de reposo). Las tabletas de ABZ fueron abastecidas por el Ministerio de Salud y de la misma marca, (ello evitó la variabilidad por efecto de manufactura), las cuales fueron administradas por vía oral 2 veces por día cada 12 horas, a las 8 de la mañana y 8 de la noche, y con la recomendación de consumirla después de haber ingerido alimentos con contenido graso para mejorar la absorción del fármaco.

#### **4.4.4.3. Recolección de datos**

##### **4.4.4.3.1. Cuestionarios**

Se empleó una ficha que fue elaborada en idioma castellano (no se presentaron casos de personas quechua hablante, pero se contó con el apoyo de una intérprete del equipo de investigación que facilitó la aplicación de la ficha) y estuvo constituida de preguntas dirigidas a obtener datos como edad, sexo, órgano afectado, tipo de quiste, número, diámetro, volumen y complicación del quiste, inflamación, anemia y diabetes mellitus (**Ver anexo 1**); y por otro lado, se empleó una ficha de control ecográfico para registrar características del quiste antes del tratamiento y a los 15, 30, 45, 60, 75 y 90 días de iniciado el tratamiento (**ver anexo 2**), la cual tuvo el mismo código asignado en el consentimiento y/o asentimiento informado, según correspondía. Las respuestas fueron cerradas y debidamente codificadas; sin embargo, hubo una sección para observaciones y comentarios adicionales. Su administración fue mediante un proceso de entrevista con el

participante, cuya información brindada fue además corroborada con el documento nacional de identidad. Los encuestadores previamente capacitados, no supieron de las características ecográficas del quiste en el participante tratado; el tiempo aproximado que tomó su aplicación fue de 20 minutos por participante, y se garantizó aspectos de seguridad de datos y confidencialidad de la información, donde la ficha completada fue almacenada en sobre cerrado y codificada, para su custodia por el investigador principal. Dado que la ficha no buscó evaluar algún tipo o nivel de constructo, se realizó la evaluación de la validez de cara del instrumento (117). Esta se realizó a través de la pertinencia, claridad y comprensión de los ítems considerados en la ficha de recolección de datos, la cual fue evaluada por tres médicos (2 epidemiólogos y 1 infectólogo), quienes otorgaron su conformidad sobre el instrumento.

#### ***4.4.4.3.2. Muestras biológicas***

La colección de muestras biológicas fue antes del tratamiento (24 horas antes de la ingesta de ABZ), a los 15, 30, 45, 60, 75 y 90 días de iniciado el mismo, y llevada a cabo por técnicos de laboratorio capacitados, quienes extrajeron muestras de sangre por punción venosa, en condiciones de ayuna de 12 horas, y en dos tubos de 3 mL con EDTA K<sub>2</sub> y sin anticoagulante con sistema al vacío, cuyos contenidos fueron centrifugados a 1200 g por 15 minutos para obtener plasma y suero, los cuales sirvieron para valorar analitos bioquímicos (glucosa, urea, creatinina y enzimas hepáticas) y hemograma. Las muestras de suero para el dosaje de enzimas hepáticas (ALT, AST, GGT y FALC) e identificación de hepatotoxicidad. El plasma obtenido del tubo con EDTA K<sub>2</sub> sirvió para la cuantificación de ABZSO por

HPLC-MS. Todas las muestras biológicas fueron trasladadas a los laboratorios del Instituto Nacional de Salud en Lima, conservando una cadena de frío entre 2 y 8°C, la cual fue garantizada con dos cámaras frigoríficas de la marca Dometic modelo TCW 2000 y con capacidad interna de 42 L y sistema de enfriamiento conectada a un balón de gas propano doméstico. Además, todo el proceso de transporte y mantenimiento de la cadena de frío desde los Centros Poblados de Marcapomacocha hasta Lima fue monitoreado en tiempo real con un sistema de registro de temperatura de la marca Trek View®.

#### **4.4.4.4. Procesamiento de muestras biológicas**

Las muestras de plasma y suero fueron alicuotadas y almacenadas a -80°C en una ultracongeladora de la marca Dometic modelo UF456, rotuladas con el código de identificación de participante. El proceso de almacenamiento de las muestras biológicas fue supervisado diariamente, utilizando registros para el control de temperaturas.

El análisis bioquímico se realizó sobre muestras de suero que fueron obtenidas antes de iniciar el tratamiento con ABZ y a los días 15, 30, 45, 60, 75, y 90. Las muestras de suero sirvieron para cuantificar la actividad de la ALT y FALC. Ambas pruebas fueron ejecutadas en un auto analizador bioquímico CM250 Wiener Lab. La actividad ALT y AST fue medida a una longitud de onda de 340 nm a 37°C en reacción cinética y se consideró como rango de normalidad para varones y mujeres hasta 41 y 31 U/L, respectivamente. La actividad FALC fue medida a 520 nm a 37°C, y se consideró como rango de normalidad en niños y

adultos de 100-400 U/L y 68-240 U/L, respectivamente. La actividad  $\gamma$ -GT fue medida a 405 nm a 37°C, y se consideró como rango de normalidad a valores entre 7 y 50 U/L. Todos los analitos bioquímicos fueron procesados bajo un proceso de control de calidad interno aplicado diariamente, utilizando controles de la marca Biorad (Lyphocheck assayed chemistry) en dos niveles de trabajo (normal y patológico); mientras que, para el hemograma, se utilizaron controles de sangre de la marca Sysmex (Eightcheck) en 3 niveles de trabajo (bajo, normal y alto). La precisión fue evaluada con gráficos de Shewart, considerándose valores alarmas (outliers) a aquellos que excedan  $\pm 2$  desviaciones estándar. Los análisis fueron realizados en el laboratorio clínico del Instituto Nacional de Salud, el cual cuenta con la acreditación internacional ISO/IEC 15189 (EMA, certificado NMX-EC-15189-IMNC-2015).

La medición de ABZSO fue realizada por cromatografía líquida de alto rendimiento con un sistema de detección en masas (HPLC-MS). Se preparó una curva de calibración usando un estándar de ABZSO a concentraciones de 0.5, 1.0, 2.5, 5.0, 7.5 y 10.0  $\mu\text{g/mL}$  en metanol (estabilidad de hasta 3 meses a -20°C). Como estándar para control interno, se utilizó una solución de mebendazol a 0.5  $\mu\text{g/mL}$ . La fase móvil estuvo constituida por una solución de acetato de sodio 0.25 N y acetonitrilo (3:7 v/v) a pH 5.0, empleándose una columna cromatográfica RP-18 de 125 x 4 mm, partícula de 5  $\mu\text{m}$ . La extracción del ABZSO se realizó usando 500  $\mu\text{L}$  de plasma y 2 mL de una solución de cloroformo e isopropanol (9:1, v/v), se añadieron 25  $\mu\text{L}$  de la solución de estándar interno (IS) y 200  $\mu\text{L}$  de HCl 0.01 M (conteniendo metabisulfito 4g/L) en agitación continua por 20 minutos, y su inmediata centrifugación a 1800 g por 5 minutos; luego la fase orgánica transferida a un tubo

cónico y se evaporó a corriente de aire a temperatura ambiente. Se reconstituyó los residuos con 100 uL de n-hexano y 100 uL de fase móvil, mezcló por 20 segundos y centrifugó a 1800 g por 5 minutos, 20 uL de la fase hexano fueron inyectados al equipo LC-MS. El equipo de HPLC-MS se programó a un flujo de 1.5 mL/min, volumen de inyección de 20 UL y sistema de detección detector en luz UV a 290 nm, preliminarmente, para luego proceder a la lectura confirmatoria en detección en masas. Los resultados fueron presentados de forma numérica y gráfica, expresando la concentración del ABZSO en µg/mL y mediante el cromatograma, el cual también incluyó los picos de absorción para el control interno (albendazol). El reporte incluyó el límite de detección de la metodología de medición y el coeficiente de correlación de la curva de calibración. La medición del ABZSO fue realizada en los laboratorios del Centro Nacional de Control de Calidad del Instituto Nacional de Salud, que cuenta con la acreditación internacional ISO/IEC 17025 (ANAB, certificado ACT-1385).

#### ***4.4.4.4.1. Ultrasonografía abdominal***

Este procedimiento se realizó a nivel abdominal superior a cada participante, antes del tratamiento y al día 15, 30, 45, 60, 75 y 90 de iniciado el tratamiento. La evaluación ecográfica se realizó en condiciones de ayunas de 8-12 horas evitando además la ingesta de líquidos. Para la evaluación ultrasonográfica se hizo uso de un ecógrafo de la marca Sonosite con transductores convexos de 3.5-5 MHz. Las ecografías fueron realizadas por un médico del equipo de investigación, capacitado en el diagnóstico de hidatidosis hepática por ecografía. Las imágenes se guardaron y almacenaron en un soporte electrónico utilizando el código único de

identificación del participante. Los resultados de las evaluaciones se entregaron de manera personal y confidencial a cada uno de los participantes. La sensibilidad de la ecografía abdominal para diagnóstico de hidatidosis hepática es de 100%, mientras que la especificidad de 95.6% (118); y cuando es aplicado a otra zona distinta al abdomen, la sensibilidad y especificidad oscilan entre 93-98% y 88-90%, respectivamente (119).

#### **4.4.4.5. Supervisión y monitoreo de actividades**

Se empleó una lista de chequeo que evidenció el cumplimiento en la verificación de cadena de frío para las muestras de suero y plasma, codificación de las muestras, reporte y entrega de resultados a los participantes del estudio.

#### **4.4.5. Variables de estudio**

##### **4.4.5.1. Variable desenlace (dependiente) y covariable principal (independiente)**

- Definición conceptual:
  - Actividad de la Alanino Aminotransferasa (ALT): es una enzima citoplasmática de mayor actividad hepática, que tiene por función catalizar la transferencia de un grupo amino de la alanina al compuesto alfa cetoglutarato, generando piruvato y glutamato. La reacción mediada por la ALT es reversible, y el incremento de su actividad se emplea como marcador de daño hepático (120).
  - Actividad de la Aspartato Aminotransferasa (AST): es una enzima bilocular (citoplasmática y mitocondrial) que se encuentra con mayor

actividad en el tejido hepático y cardíaco. Tiene la función de catalizar la reacción de transferencia de un grupo amino desde la L-aspartato al 2-oxoglutarato, generando L-glutamato y oxalacetato. Su actividad se incrementa en patologías como infarto agudo al miocardio y daño hepático (120).

- Actividad de la Fosfatasa Alcalina (FALC): es una hidrolasa encargada de eliminar grupos fosfato de moléculas como proteínas, nucleótidos y diversos compuestos fosforilados. Su actividad óptima se alcanza en condiciones de pH alcalino, razón de su denominación. Su distribución es mayor en los huesos, hígado, intestinos y riñón; y se destaca la presencia de isoenzimas con fracciones termoestables y termolábiles. Su incremento puede generarse por condiciones fisiológicas como el embarazo o el individuo en crecimiento; sin embargo, su elevación más significativa ocurre en enfermedades como cuadros colestásicos, hepatopatía por alcoholismo, leucemia, cáncer óseo, osteomalacia, entre otros (120).
- Actividad de la Gamma Glutamil Transferasa ( $\gamma$ -GT): es una enzima de membrana localizada principalmente en el riñón, vesículas seminales, páncreas, bazo, cerebro e hígado. Su función involucra la transferencia de aminoácidos a través de las membranas, y en el metabolismo de leucotrienos. Su actividad se incrementa por daño a nivel de membrana en cualquier órgano que la contenga, aunque principalmente cuando existe daño hepático, procesos obstructivos

en vías biliares y también en hepatopatía inducida por el consumo de alcohol (120).

- Característica del quiste: está referido a las características métricas (diámetro y volumen) del quiste, que son evaluadas por ultrasonografía abdominal.
  
- Definición operativa:
  - Actividad enzimática hepática: la actividad de las cuatro enzimas fueron medidas por duplicado en los sueros humanos procedentes de pacientes con hidatidosis, usando un autoanalizador bioquímico de la marca Wiener Lab modelo CM250, con un principio de medición cinético y bajo un proceso de control de calidad interno con controles en nivel normal y patológico y con una prueba validada bajo estándares de la ISO 15189, con una precisión de 4.2%. Los sueros ictericos que superaron actividades por encima de 200 U/L, fueron diluidos y finalmente multiplicados por el factor de dilución empleado. Cada enzima hepática evaluada fue evaluada de acuerdo con sus rangos de normalidad para valorar la presencia de hipertransaminasemia durante el seguimiento de los pacientes. Los niveles de actividad enzimática hepática fueron presentados de forma numérica continua y en U/L. La medición de la actividad enzimática hepática se realizó en los laboratorios del Instituto Nacional de Salud, cuya validez y confiabilidad se garantizan a través de la acreditación internacional

internacional ISO/IEC 15189 (EMA, certificado NMX-EC-15189-IMNC-2015).

- Característica estructural del quiste: La medición de estas características se realizó antes del tratamiento con ABZ, y cada 15 días hasta culminar el tratamiento al día 90. Así mismo, se evaluó la inactivación del quiste hidatídico hepático, a través de la reducción en el tamaño del quiste mayor al 25%, separación de la membrana quística o calcificación del quiste. Esta variable fue medida antes de que cada participante reciba el tratamiento con ABZ, y luego cada 15 días hasta completar el tratamiento a los 90 días. En total, se realizaron 7 mediciones a cada paciente enrolado (basal, día 15, 30, 45, 60, 75 y 90). No hubo seguimiento post tratamiento del día 90. La medición principal de esta variable fue realizada en escala numérica y de acuerdo con el número, diámetro, volumen y tipo de quiste, según la clasificación del IWGE-WHO. El instrumento utilizado para generar los datos de las características estructurales del quiste fue un ecógrafo portátil Sonosite con transductores de 3.5-5 MHz, rango recomendado para la evaluación de órganos blandos como el hígado. Así mismo, por estudios previos, se sabe que la ecografía es la técnica por excelencia para el cribado de hidatidosis hepática, alcanzado una sensibilidad y especificidad de 100 y 95.6%.

El tipo de quiste fue evaluado según criterio de clasificación WHO-IWGE (116), la cual establece 6 categorías:

CL/CE1/CE2/CE3/CE4/CE5, y es identificado por evaluación de la imagen ultrasonográfica, tal como se muestra a continuación:

| Tipo | Actividad    | Característica estructural  |
|------|--------------|---|
| CL   | Activo       | Quiste unilocular, anecoico y sin pared   |
| CE1  | Activo       | CL con pared y ecogenicidad interna móvil   |
| CE2  | Activo       | Multivesicular y septado, vesículas hijas y signo de panal                                |
| CE3  | Transicional | Unilocular con deprendimiento de membrana laminar dentro del quiste, “signo del camalote” |
| CE4  | Inactivo     | Heterogénea sin vesículas hijas, contenido degenerativo                                   |
| CE5  | Inactivo     | Calcificación parcial o total de la pared quística  |

Fuente; Adaptado de Brunetti et al. (78)

El número de quistes fue evaluado en función al total de quistes hallados en hígado y/o pulmón, evidenciado por examen ecográfico abdominal. El diámetro promedio del quiste fue expresado en centímetros, considerando un decimal para su valor final, y evidenciado por examen ecográfico abdominal. El volumen del quiste fue expresado en mililitros, considerando un decimal para su

valor final, y evidenciado por evaluación ultrasonográfica abdominal.

**Variable independiente:**

Niveles de albendazol sulfóxido: es un metabolito producido de la oxidación del albendazol en tejido hepático mediante reacción en fase 1, vía citocromo P450, presentando alta capacidad antihelmíntica. Su presencia estará definida por la concentración del ABZSO en plasma del paciente que haya consumido albendazol por vía oral como parte del tratamiento contra la hidatidosis, en un esquema supervisado y monitoreado durante 3 meses (medida antes del tratamiento y a los 15, 30, 45, 60, 75, y 90 días). La concentración de ABZSO fue medida por HPLC-MS, método previamente validado bajo criterios establecidos por la ISO 17025. La concentración de ABZSO fue representada en escala numérica de razón y en ng/dL. La medición del ABZSO fue realizada en los laboratorios del Centro Nacional de Control de Calidad del Instituto Nacional de Salud, que cuenta con la acreditación internacional ISO/IEC 17025 (ANAB, certificado ACT-1385)

**4.4.5.2. Otras covariables relevantes**

Complicación del quiste hidatídico: es la presencia de infección y/o rotura asociada al quiste hidatídico, la cual fue evidenciada por evaluación ultrasonográfica. La variable es dicotómica (presencia/ausencia), y aquellos quistes hidatídicos que tengan complicación serán subcategorizados como infección o rotura.

Tratamiento previo: Se basó en la pregunta sobre antecedente de tratamiento con albendazol, tomando los valores de Si o No

Anemia: Reducción en el número de eritrocitos circulantes o en la cantidad de hemoglobina. Su presencia estuvo definida por la concentración de hemoglobina en sangre total menor a 13 y 12 g/dL en varones y mujeres, respectivamente.

Diabetes Mellitus: Grupo heterogéneo de trastornos caracterizados por hiperglucemia e intolerancia a la glucosa. Se midió según los valores de glicemia en condiciones de ayuna de no menor a 8 horas y su valor deberá ser mayor a 126 mg/dL para considerarse como DM.

Edad: es el tiempo que ha vivido una persona contando desde su nacimiento. Fue definida como la diferencia entre la fecha de finalización del tratamiento oral con albendazol y la fecha de nacimiento. La medición fue en número de años vividos y en escala numérica discreta

Sexo: es la condición fenotípica que distingue a los hombres de las mujeres. Fue identificado según evaluación visual y con documento nacional de identidad.

### 4.4.5.3. Gráfico acíclico dirigido 2 (DAG)

A continuación, se presenta el DAG para identificar los potenciales confusores y modificadores de efecto ante una relación de interés entre niveles de ABZSO y actividad enzimática hepática, expresada como hepatotoxicidad.

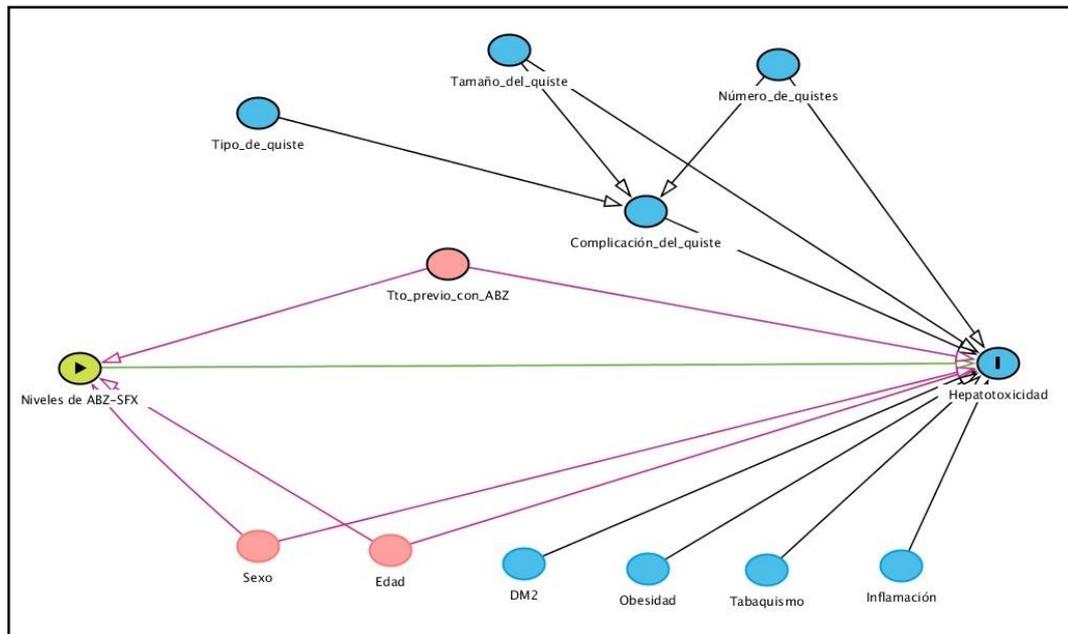


Gráfico 2. DAG que establece la relación causal entre niveles de ABZSO y hepatotoxicidad

### 4.4.6. Procesamiento y análisis estadístico

La data fue manejada en panel y los niveles de ABZSO, actividad enzimática hepática y características del quiste hidatídico fueron presentados en función a la media y desviación estándar total, entre componentes y dentro de ellos. Las concentraciones de ABZSO que estuvieron debajo del límite de detección (LOD=1 ng/mL), fueron tratados como data perdida, y su manejo fue según lo recomendado por Barr D. et al (121), quienes calculan el valor perdido en función al  $LOD/\sqrt{2}$ . Por otro

lado, empleamos gráficas longitudinales donde se representó a la media y su intervalo de confianza al 95% durante el periodo de tratamiento con ABZ. Los niveles obtenidos durante el periodo de tratamiento fueron comparados por la prueba no paramétrica de Friedman, y se consideró como diferencia significativa un p-valor menor a 0.05. La relación entre los niveles de ABZSO con las enzimas hepáticas y características del quiste fueron evaluadas en un modelo lineal de efectos mixtos, ajustados por edad y sexo. Los modelos para cada resultado incluyeron un efecto aleatorio para el sujeto, así como efectos fijos para edad y sexo. Los cálculos fueron realizados en el programa Stata/IC 15.1 (StataCorp. 2017).

#### **4.4.7. Tamaño de muestra y Potencia estadística**

La muestra estuvo constituida por 13 pacientes con hidatidosis hepática, quienes recibieron tratamiento oral con ABZ y fueron monitoreados cada 15 días durante el periodo de tratamiento de 3 meses. Así mismo, dado que es una investigación cuyo enrolamiento de pacientes resultó difícil debido las condiciones generadas por la pandemia COVID-19, se realizó un análisis descriptivo y no paramétrico. No obstante, los hallazgos adquieren relevancia en el sentido de las limitadas evidencias sobre el comportamiento de los cambios estructurales del quiste hidatídico con evaluación ultrasonográfica y en los niveles enzimáticos durante el tratamiento con albendazol que reciben las personas con hidatidosis hepática.

## **4.5. Resultados**

### **4.5.1. Enrolamiento y muestra de estudio**

El estudio se desarrolló sobre la identificación de personas con hidatidosis hepática en diferentes centros poblados aledaños a Huancayo, Junín. Para ello, se estableció un sistema de comunicación con la red de establecimientos de salud de nivel primario y los médicos responsables que sospechen de infección por hidatidosis. Estos pacientes fueron derivados a la ciudad de Huancayo, donde se les realizó la prueba ecográfica abdominal y se confirmó el diagnóstico de hidatidosis hepática. De estos pacientes, se lograron evaluar 14 personas, de las cuales 13 aceptaron participar del estudio y una no firmó el consentimiento informado y rechazó su inclusión al estudio. Los trece participantes fueron enrolados en diferentes momentos, entre el mes de diciembre 2019 y febrero 2020, y se les realizó el seguimiento cada 15 días durante los tres meses que duró el tratamiento con ABZ asignado por su médico. Ocho pacientes completaron el seguimiento hasta el día 90, uno hasta el día 75, uno hasta el día 60, dos hasta el día 45 y uno hasta el día 30. En marzo 2020, se declara la emergencia sanitaria a nivel nacional por la pandemia COVID-19, y el proceso de enrolamiento de pacientes se detiene de forma absoluta.

#### **4.5.1.1. Características sociodemográficas de la población de estudio**

En la tabla 1 se observa las características de los trece pacientes evaluados (9 mujeres y 4 varones) con hidatidosis hepática cuya edad fue  $54.8 \pm 15.6$  años. Tres de ellos tuvieron antecedentes de hidatidosis hepática, pero solo uno de ellos recibió tratamiento con ABZ. Cuatro pacientes presentaron dos quistes hidatídicos en el hígado. Durante el proceso de seguimiento de los pacientes enrolados, no se presentaron datos perdidos o censuras.

**Tabla 1.** Características descriptivas de los participantes del estudio

| Nº         | Características descriptivas del paciente  |
|------------|--|
| Paciente 1 | Varón de 70 años, con peso de 65 kg y sin antecedentes de hidatidosis previa y otras enfermedades concomitantes. Presentó un solo quiste y completó el esquema de tratamiento con ABZ hasta el día 90.   |
| Paciente 2 | Mujer de 35 años, con peso de 72 kg y sin antecedentes de hidatidosis previa y otras enfermedades concomitantes. Presentó un solo quiste y completó el esquema de tratamiento con ABZ hasta el día 75.   |
| Paciente 3 | Mujer de 58 años, con peso de 63 kg y sin antecedentes de hidatidosis previa y otras enfermedades concomitantes. Presentó dos quistes y completó el esquema de tratamiento con ABZ. Tuvo tratamiento previo con ABZ para el control de parasitosis intestinal hasta el día 90. |
| Paciente 4 | Mujer de 45 años, con peso de 57 kg y con antecedentes de hidatidosis hepática previa y tratamiento con ABZ hace 20 años. Presentó un solo quiste y completó el esquema de tratamiento con ABZ hasta el día 90.  |
| Paciente 5 | Mujer de 42 años, con peso de 61 kg y con antecedentes de hidatidosis hepática, pero sin tratamiento previo con ABZ. Presentó un solo quiste y completó el esquema de tratamiento con ABZ hasta el día 90.   |
| Paciente 6 | Varón de 55 años, con peso de 78 kg y sin antecedentes de hidatidosis previa y otras enfermedades concomitantes. Presentó un solo quiste y completó el esquema de tratamiento con ABZ hasta el día 90.   |

- Paciente 7 Varón de 72 años, con peso de 74 kg y sin antecedentes de hidatidosis previa y otras enfermedades concomitantes. Presentó un solo quiste y completó el esquema de tratamiento con ABZ hasta el día 90.
- Paciente 8 Mujer de 69 años, con peso de 55 kg y sin antecedentes de hidatidosis previa y otras enfermedades concomitantes. Presentó dos quistes y completó el esquema de tratamiento con ABZ hasta el día 60.
- Paciente 9 Mujer de 26 años, con peso de 58 kg y con antecedentes de hidatidosis hepática, pero sin tratamiento previo con ABZ. Presentó un solo quiste y completó el esquema de tratamiento con ABZ hasta el día 90.
- Paciente 10 Mujer de 71 años, con peso de 61 kg y sin antecedentes de hidatidosis previa y otras enfermedades concomitantes. Presentó dos quistes y completó el esquema de tratamiento con ABZ hasta el día 90.
- Paciente 11 Mujer de 58 años, con peso de 56 kg y sin antecedentes de hidatidosis previa y otras enfermedades concomitantes. Presentó un solo quiste y completó el esquema de tratamiento con ABZ hasta el día 45.
- Paciente 12 Varón de 67 años, con peso de 70 kg y sin antecedentes de hidatidosis previa y otras enfermedades concomitantes. Presentó dos quistes y completó el esquema de tratamiento con ABZ hasta el día 45.
- Paciente 13 Mujer de 41 años, con peso de 62 kg y sin antecedentes de hidatidosis previa y otras enfermedades concomitantes. Presentó un solo quiste y completó el esquema de tratamiento con ABZ hasta el día 30.
-

#### **4.5.1.2. Niveles de ABZSO, características estructurales del quiste hidatídico y actividad enzimática hepática en la población de estudio**

En la tabla 2, observamos que la variación intraindividual para los niveles de ABZSO, características del quiste hidatídico y actividad de enzimas hepáticas fue mayor a la interindividual. Esto también se expresa en la mayor diferencia entre los valores mínimos y máximos intraindividuales para los parámetros referidos. Respecto a la concentración de ABZSO, el valor mínimo estuvo representado por el límite de detección de la HPLC-MS, mientras que el valor máximo alcanzó una concentración de 552 ng/mL. El diámetro y volumen quístico osciló entre 10.4 y 109.5 mm y 0.5 y 619.0 mL. En el caso de la actividad enzimática hepática, el valor medio para las cuatro enzimas estuvo por encima del valor límite superior normal para cada una de ellas, siendo estas significativas.

**Tabla 2.** Características descriptivas de los análisis realizados en la población de estudio

| Parámetro medido               |       | Media | DE    | Mínimo - máximo |
|--------------------------------|-------|-------|-------|-----------------|
| ABZSO, <i>ng/mL</i>            | Total | 119.2 | 155.4 | 0.0 - 678.1     |
|                                | Inter |       | 77.2  | 16.9 - 275.3    |
|                                | Intra |       | 136.5 | -156.2 - 552.5  |
| Diámetro del quiste, <i>mm</i> | Total | 35.1  | 24.0  | 10.4 - 109.5    |
|                                | Inter |       | 23.9  | 11.6 - 97.2     |
|                                | Intra |       | 3.9   | 11.7 - 47.3     |
| Volumen del quiste, <i>mL</i>  | Total | 64.7  | 141.7 | 0.5 - 619.0     |
|                                | Inter |       | 135.8 | 0.8 - 496.3     |
|                                | Intra |       | 21.7  | -25.6 - 187.4   |
| ALT, <i>IU/L</i>               | Total | 85.0  | 171.4 | 5.3 - 1047.0    |
|                                | Inter |       | 128.8 | 18.3 - 490.4    |
|                                | Intra |       | 108.1 | -383.3 - 641.6  |
| AST, <i>IU/L</i>               | Total | 89.2  | 164.1 | 15.7 - 755.5    |
|                                | Inter |       | 128.4 | 27.4 - 496.3    |
|                                | Intra |       | 96.6  | -372.8 - 412.9  |
| $\gamma$ -GT, <i>IU/L</i>      | Total | 36.1  | 39.9  | 9.1 - 203.4     |
|                                | Inter |       | 29.2  | 14.2 - 121.9    |
|                                | Intra |       | 26.6  | -72.7 - 141.2   |
| FALC, <i>IU/L</i>              | Total | 308.2 | 90.1  | 208.0 - 714.9   |
|                                | Inter |       | 75.3  | 226.1 - 531.0   |
|                                | Intra |       | 46.5  | 82.3 - 492.2    |

DE: Desviación estándar

## **4.5.2. Resultados bivariados**

### **4.5.2.1. Asociación de la actividad enzimática hepática con los niveles de ABZSO**

En la tabla 3, las transaminasas (AST y ALT) tuvieron un incremento significativo ( $p < 0.001$ ), y su actividad fue mayor al valor límite superior normal a partir del día 75 de tratamiento. La  $\gamma$ -GT también tuvo un incremento continuo durante el tratamiento, superando el rango normal al día 90. En relación con la FALC, la mediana basal estuvo por encima del rango normal y también tuvo un incremento progresivo durante todo el tratamiento, presentando, además, diferencias significativas ( $p < 0.001$ ).

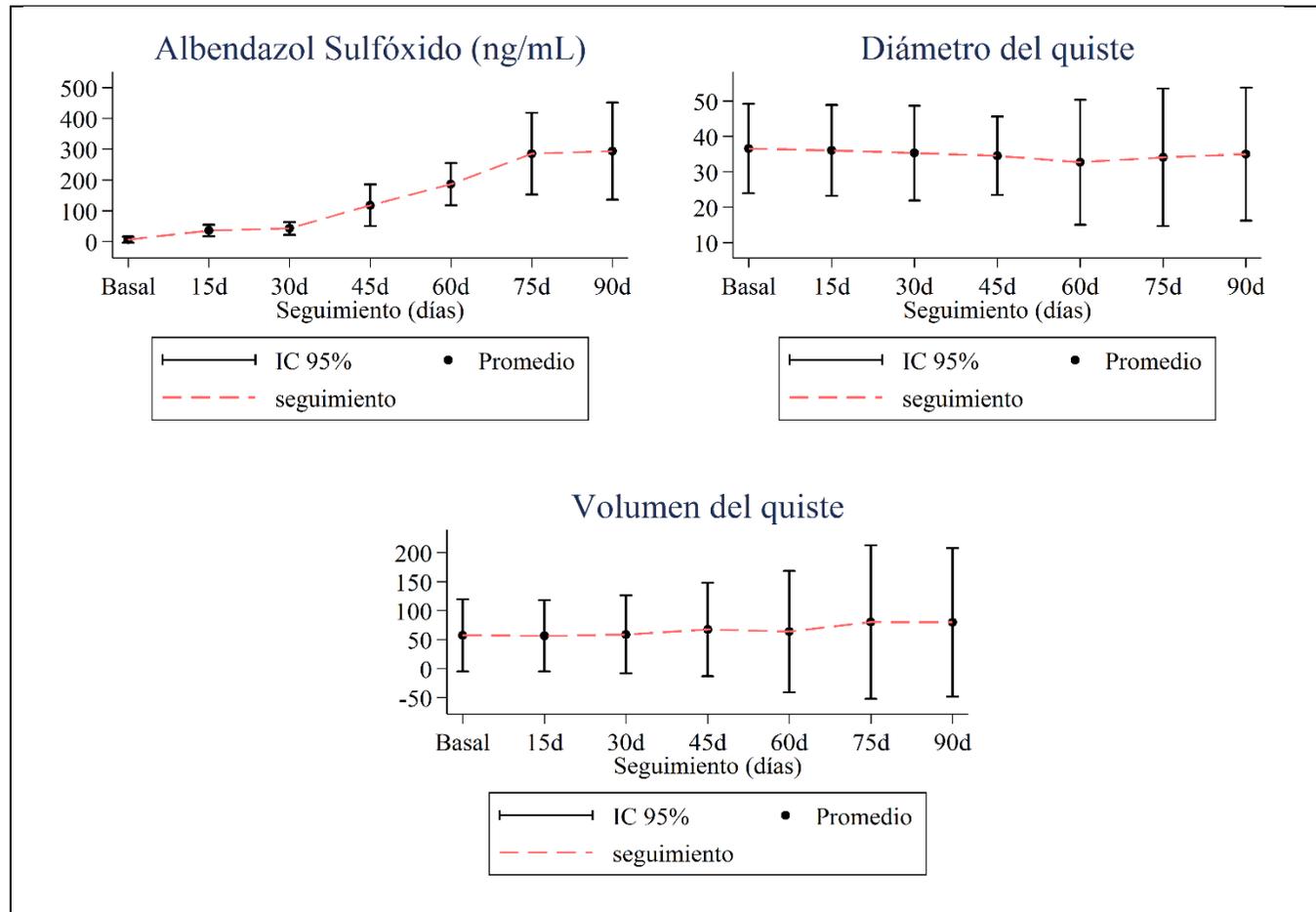
**Tabla 3.** Medianas de ABZSO, características quísticas y enzimas hepáticas

| Indicadores             | Seguimiento durante el tratamiento (mediana (rango intercuartílico)) |              |              |              |               |               |               | p-valor <sup>a</sup> |
|-------------------------|--|--------------|--------------|--------------|---------------|---------------|---------------|----------------------|
|                         | Basal  | Día 15       | Día 30       | Día 45       | Día 60        | Día 75        | Día 90        |                      |
| ABZSO, ng/mL            | 0.71 (0.0)   | 26.9 (41.3)  | 32.2 (34.1)  | 70.2 (100.5) | 138.8 (111.2) | 172.6 (278.3) | 226.8 (309.8) | 0.011                |
| Diámetro del quiste, mm | 32.5 (24.2)  | 29.0 (23.2)  | 29.8 (21.7)  | 30.0 (24.7)  | 28.5 (20.5)   | 30.5 (25.0)   | 31.5 (24.2)   | <0.001               |
| Volumen del quiste, mL  | 15.5 (37.2)  | 8.7 (41.3)   | 9.5 (30.5)   | 15.1 (30.5)  | 12.4 (20.5)   | 10.5 (29.7)   | 15.3 (31.0)   | <0.001               |
| ALT, IU/L               | 17.8 (10.2)  | 27.0 (19.2)  | 32.5 (29.1)  | 36.9 (36.6)  | 33.8 (68.7)   | 42.1 (21.8)   | 48.6 (277.0)  | <0.001               |
| AST, IU/L               | 21.1 (8.4)   | 26.7 (20.23) | 38.2 (21.0)  | 39.5 (42.0)  | 40.2 (60.2)   | 48.8 (26.1)   | 55.7 (220.2)  | <0.001               |
| γ-GT, IU/L              | 15.4 (6.7)   | 19.4 (12.2)  | 18.8 (13.9)  | 29.2 (23.4)  | 26.6 (26.3)   | 30.4 (22.5)   | 42.7 (82.2)   | <0.001               |
| FALC, IU/L              | 264 (53.9)   | 271.5 (27.4) | 280.6 (32.8) | 287.0 (57.2) | 293.4 (72.3)  | 310.8 (33.6)  | 328.7 (97.5)  | 0.0000               |

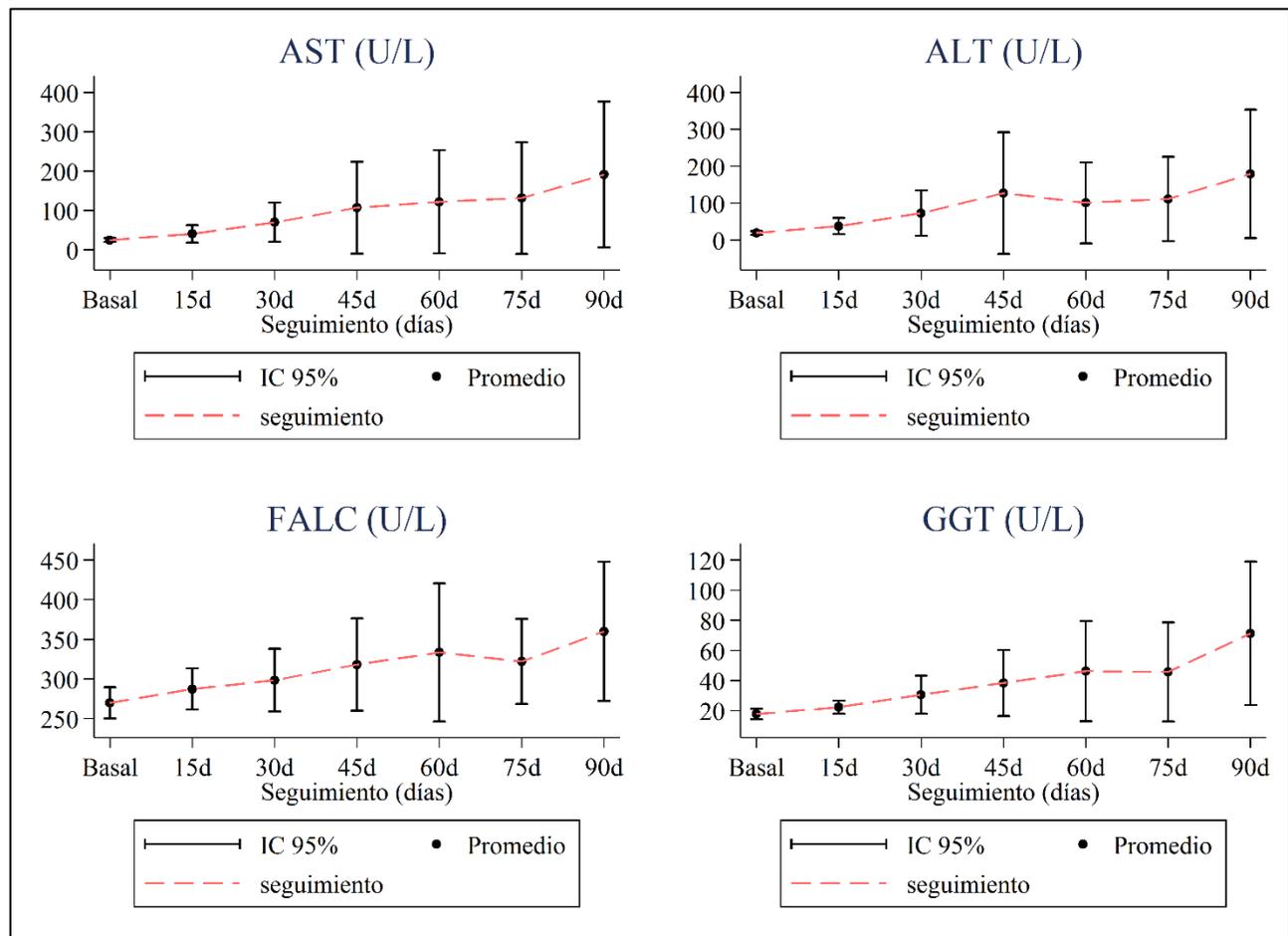
<sup>a</sup>Non-parametric Friedman test

En la figura 1, se evidencia que los niveles medios de ABZSO y sus intervalos de confianza al 95% aumentan durante el periodo de tratamiento; sin embargo, se hace más marcado a partir del día 30, alcanzando una meseta en su concentración al día 75. En el caso del diámetro quístico, se evidencia una ligera disminución de manera progresiva durante todo el tratamiento. Por otro lado, el volumen quístico, presenta un ligero incremento a partir del día 30 de tratamiento, y con un aumento progresivo de sus intervalos de confianza.

En la figura 2, se aprecia una tendencia al incremento de la actividad AST; mientras que la ALT aumenta hasta el día 45 y se genera una meseta en su actividad hasta el día 75, para finalmente aumentar al día 90. La actividad FALC tuvo un aumento progresivo hasta el día 60, luego una ligera disminución al día 75, y un aumento final al día 90. En el caso de la  $\gamma$ -GT, el aumento de su actividad fue progresivo durante todo el tratamiento.



**Figura 1.** Medias e intervalos de confianza al 95% de ABZSO y características del quiste hidatídico en pacientes monitoreados durante el periodo de tratamiento con ABZ



**Figura 2.** Medias e intervalos de confianza al 95% de la actividad de enzimas hepáticas en pacientes monitoreados durante el periodo de tratamiento oral con albendazol

### **4.5.3. Análisis en modelo lineal mixto**

En la Tabla 4, observamos que por cada cambio en 1 ng/mL de ABZSO, el diámetro del quiste hidatídico disminuye en 0.004 mm. En el caso del volumen, este aumenta en 0.025 mL por cada cambio en 1 ng/mL de ABZ. Sin embargo, en ambos casos, se evidenció que no existe asociación significativa con los niveles de ABZSO, ajustada por peso, sexo y edad. Respecto a las variables como complicación del quiste hidatídico, obesidad y anemia, estas no se presentaron en ninguno de los participantes del estudio, por lo que no fueron incluidas al modelo mixto. El peso, edad y sexo no influenciaron significativamente el diámetro y volumen del quiste.

**Tabla 4.** Modelo mixto entre niveles de ABZSO y características del quiste hidatídico

| Variables independientes | Diámetro (mm)       |                  | Volumen (mL)         |                   |
|--------------------------|---------------------|------------------|----------------------|-------------------|
|                          | $\beta$             | CI95             | $\beta$              | CI95              |
| ABZSO (ng/mL)            | -0.004 <sup>a</sup> | -0.011 a 0.003   | 0.025 <sup>a</sup>   | -0.015 a 0.063    |
| Peso (kg)                | 0.890 <sup>a</sup>  | -1.660 a 3.441   | 6.785 <sup>a</sup>   | -7.734 a 21.305   |
| Sexo (mujer)             | 30.996 <sup>a</sup> | -13.613 a 75.604 | 196.286 <sup>a</sup> | -57.652 a 450.224 |
| Edad (años)              | 0.184 <sup>a</sup>  | -0.761 a 1.128   | 2.573 <sup>a</sup>   | -2.806 a 7.952    |

<sup>a</sup> no significativo

En la Tabla 5, la actividad de las cuatro enzimas hepáticas se encuentra asociada significativamente a los niveles de ABZSO ( $p < 0.001$ ). Por cada cambio en 1 ng/mL de ABZSO, la actividad AST aumenta en 0.37 U/L; mientras que, para la ALT, el incremento es de 0.30 U/L. En caso de la  $\gamma$ -GT y FALC, el incremento es de 0.12 U/L y 0.19 U/L, respectivamente. Los coeficientes obtenidos estuvieron ajustados por peso, sexo y edad. Estas variables tampoco influenciaron significativamente la actividad de las cuatro enzimas hepáticas.

**Tabla 5.** Modelo mixto entre niveles de ABZSO y actividad de enzimas hepáticas

| Variables independientes | ALT (IU/L)          |                  | AST (IU/L)          |                  | $\gamma$ -GT (IU/L) |                | FALC (IU/L)         |                 |
|--------------------------|---------------------|------------------|---------------------|------------------|---------------------|----------------|---------------------|-----------------|
|                          | $\beta$             | CI95             | $\beta$             | CI95             | $\beta$             | CI95           | $\beta$             | CI95            |
| ABZSO (ng/mL)            | 0.30 <sup>a</sup>   | 0.12 a 0.47      | 0.37 <sup>a</sup>   | 0.22 a 0.52      | 0.12 <sup>a</sup>   | 0.08 a 0.16    | 0.19 <sup>a</sup>   | 0.12 a 0.25     |
| Peso                     | -3.49 <sup>b</sup>  | -17.09 a 10.11   | -3.66 <sup>b</sup>  | -16.90 a 9.59    | -0.74               | -3.52 a 2.03   | -5.09               | -12.56 a 2.38   |
| Sexo (mujer)             | -54.15 <sup>b</sup> | -293.36 a 185.06 | -53.50 <sup>b</sup> | -286.11 a 179.11 | -17.86 <sup>b</sup> | -66.71 a 30.98 | -56.49 <sup>b</sup> | -187.47 a 74.50 |
| Edad (años)              | -1.79 <sup>b</sup>  | -6.87 a 3.29     | -1.47 <sup>b</sup>  | -6.41 a 3.47     | -0.35 <sup>b</sup>  | -1.38 a 0.69   | 0.34 <sup>b</sup>   | -3.14 a 2.41    |

<sup>a</sup>p<0.001; <sup>b</sup> no significativo

## 4.6. Discusión

El tratamiento para la hidatidosis hepática es muy variado, y destacan la evaluación observacional, administración de fármacos, PAIR e intervención quirúrgica. Las tres últimas opciones incluyen el uso del ABZ en periodos que pueden extenderse hasta los 6 meses. De hecho, cuando las características del quiste y las condiciones del paciente lo permiten, la administración oral de ABZ a dosis diaria de 800 mg durante tres meses, es una de las opciones que manejan diferentes guías terapéuticas a nivel mundial. No obstante, esto debe ser bajo monitoreo biológico y control ecográfico de los pacientes, a fin de valorar la eficacia del tratamiento e identificar y prevenir eventos adversos asociados. En ese sentido, nuestros resultados muestran que, durante los tres meses de tratamiento, los cambios en las características del quiste hidatídico son mínimas y no significativas, aun cuando existe una ligera disminución del diámetro quístico. Por otro lado, si se evidencia un marcado incremento de la actividad enzimática hepática, sobre todo en las transaminasas (AST y ALT), con dos casos que presentaron un aumento de entre 10 y 15 veces el valor superior normal. El resto de los casos incrementaron sus valores entre 1.5 y 2 veces el valor superior normal. Este comportamiento fue similar para la FALC y  $\gamma$ -GT, cuyo incremento fue en su mayoría al doble del valor superior normal, a excepción de un paciente, cuya actividad  $\gamma$ -GT se incrementó casi 7 veces el valor superior normal. Nuestros hallazgos son similares a lo reportado por Teggi A. et al, quienes encontraron que el 12.9% (58/448) de pacientes que recibieron tratamiento ininterrumpido con ABZ (10-12 mg/kg por 3 meses) y mebendazol (5 mg/kg entre 3-12 meses) tuvieron un aumento entre 2 y 4 veces el valor superior normal para las

aminotransferasas, aunque en todos los casos este fue reversible, más aún después de la extracción quirúrgica de los quistes (108). En nuestro caso, observamos incrementos de casi el doble de actividad de ALT y AST respecto a su valor normal superior; sin embargo, no tuvimos la oportunidad de continuar con el monitoreo de la actividad enzimática hepática una vez que los participantes culminaron su tratamiento. Respecto a la actividad FALC (mediana: 249 U/L) y  $\gamma$ -GT (mediana: 190 U/L), ya se ha reportado niveles elevados en personas con hidatidosis hepática con compromiso biliar previo a la cirugía (122). Esto podría sugerir que la hidatidosis hepática, sobre todo con presencia de quistes grandes, puede impactar de manera negativa sobre el sistema biliar. De hecho, Alan B et al, evidenciaron que el diámetro y estadio del quiste y su localización segmentaria y lobular, con los niveles de FALC y  $\gamma$ -GT pueden predecir la presencia de una comunicación cistobiliar (123). Nuestros resultados son similares, dado que encontramos niveles elevados de FALC (264 U/L) antes del tratamiento con ABZ; mientras que  $\gamma$ -GT mantuvo niveles normales (15.4 U/L). Un reciente estudio publicado en el 2021, evidencia que las personas con hidatidosis hepática presentan niveles más elevados de  $\gamma$ -GT y FALC respecto a su grupo control ( $p < 0.001$ ), y con disminución significativa de ambas después de la cirugía (124). Ante los hallazgos descritos, es importante considerar una evaluación minuciosa de la actividad enzimática hepática en personas que presentan quistes hidatídicos hepáticos de gran tamaño, dado que podría inducir eventos adversos con compromiso hepatobiliar. Esta situación podría sugerir el detenimiento del tratamiento con ABZ, en tanto se realicen pruebas complementarias para garantizar la seguridad del paciente.

Nuestro estudio también evaluó los niveles plasmáticos de ABZSO, y se evidenció un incremento progresivo durante los 90 días de tratamiento. Se observó que los niveles de ABZSO se duplicaron aproximadamente cada 15 días, alcanzando concentraciones cercanas a los 230 ng/mL. Hubo dos personas que tuvieron presencia de ABZSO previo al inicio del tratamiento, esto debido a que consumieron ABZ en el último mes. Aquellos resultados que no fueron detectados por HPLC-MS, fueron asignados según lo recomendado por Barr D. et al (121), obteniéndose una concentración mínima de 0.71 ng/mL.

Las concentraciones obtenidas de ABZSO en nuestro estudio son inferiores (rango de medianas: 0.71 a 226.8 ng/mL) a lo reportado por Garcia H., et al, quienes encontraron concentraciones de ABZSO en plasma que osciló entre 300 y 500 ng/mL en pacientes con neurocisticercosis, cuya dosis fue de 1200 mg/día, aspecto que podría explicar los niveles más elevados de ABZSO en sangre. Por otro lado, es importante resaltar la importancia de la biotransformación del ABZ a nivel hepático. El metabolismo y la biotransformación del ABZSO se da por la super familia de enzimas Cyp450 (125), de las cuales, la alta tasa de polimorfismos genéticos para la Cyp 2J2 y 3A4 podrían explicar cambios en la concentración plasmática del ABZSO (126-128). A pesar de ello, es uno de los pocos estudios que ha evaluado los niveles de ABZSO bajo un esquema de tratamiento exclusivo por ABZ. Otros estudios han cuantificado ABZSO como parte de medidas profilácticas previas a la cirugía (84), o estudios de farmacocinética (61, 129). Por otro lado, al ser un estudio observacional, no se tuvo control sobre el tratamiento oral con ABZ, por lo que es posible que los participantes no hayan seguido estrictamente las indicaciones médicas durante el periodo de tratamiento. Sin

embargo, observamos que existe un incremento sostenido de los niveles de ABZSO plasmático, a partir del día 30 de tratamiento. Es posible que este cambio se deba a la exposición constante del sustrato (ABZ) a su enzima (Cyp3A4 principalmente), incrementando el valor del  $K_m$  (constante de Michaelis) de las enzimas involucradas en el metabolismo del ABZ y, en consecuencia, la capacidad de producción de ABZSO sea más eficaz (130), pero alcanzado un punto de saturación al día 75 del tratamiento.

El médico tratante brindó farmacoterapia oral con ABZ a una dosis de 800 mg/día (2 pastillas de 200 mg en la mañana y 2 en la noche) durante tres meses, e indicó su ingesta con dietas altas en grasas, considerando que se ha evidenciado incremento en la absorción de ABZ y niveles de ABZSO de 1371.7 ng/mL, comparado con dietas bajas en grasas y niveles obtenidos de ABZSO de 860.6 ng/mL (131). No obstante, para la medición de ABZSO en plasma, el médico indicó al paciente venir en condiciones de ayunas, dado que también se evaluó la actividad de enzimas hepáticas, y analitos de química clínica. Este hecho pudo generar la disminución de la concentración de ABZSO, e influir sobre la eficacia del tratamiento.

Diversos estudios muestran que los niveles de ABZSO plasmático explican la concentración intraquística de ABZSO, la cual tiene asociación significativa con la disminución de la viabilidad de las protoescolices de *E. granulosus*, parámetros considerados en la evaluación de la eficacia. Un ensayo clínico evidenció una concentración intraquística de ABZSO entre 500 y 4080 ng/mL, y los niveles de viabilidad y desintegración de protoescolices fue menor en comparación al grupo control (pacientes operados sin tratamiento profiláctico con ABZ) (90). En ese

sentido, es posible que las concentraciones de ABZSO en plasma hayan generado bajos niveles de ABZSO intraquístico, lo cual podría explicar los ligeros cambios en el diámetro y volumen quístico. No obstante, los niveles de ABZSO pueden variar por múltiples razones; entre las que destacan su capacidad de absorción a nivel gastrointestinal, sobre todo en estómago, donde puede ocurrir limitaciones debido a la solubilidad (influenciado por el pH gástrico), así como durante su transporte, donde el 62-67% de ABZSO se une a proteínas plasmáticas como la albúmina y alfa 1-glicoproteína (53). Estos hallazgos podrían explicar las dificultades para alcanzar una concentración óptima en plasma que garantice a su vez una concentración de ABZSO intraquístico con capacidad para inducir citotoxicidad en las protoescólices.

El tratamiento con ABZ previene la recurrencia de los quistes hidatídicos, reduce su tamaño y promueve la inactivación y/o calcificación haciéndolo inviable y no infeccioso (132). Desafortunadamente, solo el tamaño, volumen y tipo del quiste son evaluables mediante el estudio de imágenes (TC, ecografía, entre otros); mientras que la viabilidad depende del estudio del fluido hidatídico y sus protoescólices, aspecto que no fue evaluado en este estudio. Tampoco se pudo conocer los niveles de la actividad enzimática hepática o cambios estructurales del quiste hidatídico después de los 3 meses de tratamiento, ya que la cohorte fue cerrada. Así mismo, muchas de las respuestas que se obtuvieron fueron de auto reporte, tales como los relacionados al consumo de drogas de abuso, antecedentes de enfermedades como hidatidosis, tratamientos y consumo de fármacos; en ese sentido, hay variables confusoras que podrían haber influido sobre la actividad enzimática hepática. Existen algunas características raras o poco comunes que

pueden inducir elevación de la actividad enzimática y hepatotoxicidad, tales como infección por hepatitis A, Epstein bar, citomegalovirus, sepsis, enfermedades autoinmunes y embarazo, las cuales no fueron medidas en el estudio. Finalmente, la actual pandemia por COVID-19 ha generado el colapso en todos los niveles de atención en salud pública; y en el Perú, el impacto ha mermado significativamente la capacidad de atención de pacientes con enfermedades consideradas como olvidadas. Esta situación dificultó y limitó de sobremanera el enrolamiento de más participantes.

Esta investigación resalta la importancia de monitorear las concentraciones de ABZSO, el control ultrasonográfico y sobre todo, la actividad enzimática hepática en las personas con hidatidosis hepática que reciben tratamiento con ABZ durante periodos prolongados. Si bien no se evidenciaron cambios en la estructura del quiste que definan al tratamiento como eficaz, la disminución del volumen quístico es un indicador que hipotetiza que posteriormente se pudo desarrollar la calcificación y disminución de la viabilidad del quiste. Por otro lado, en tanto los niveles de las aminotransferasas no se eleven más de tres veces el valor superior normal, el tratamiento podría continuar de forma segura (88). El control ultrasonográfico quizá sea la herramienta más importante para identificar no sólo estadios tempranos de hidatidosis hepática, sino para el seguimiento y control de pacientes que reciben tratamiento con ABZ. Por ello, su implementación en las actividades de tratamiento, vigilancia, prevención y control de la hidatidosis es imprescindible (14).

En resumen, evidenciamos que el tratamiento oral con ABZ en pacientes con hidatidosis hepática en estadios iniciales de la enfermedad eleva la actividad

enzimática hepática, pero sin llegar a que el médico suspenda el esquema de tratamiento de 90 días. Por otro lado, si bien no evidenciamos cambios ultrasonográficos que sugieran un tratamiento eficaz, tampoco la descarta, aun cuando no se encontró una disminución significativa del diámetro y volumen quístico; por ello, se requiere futuras evaluaciones postratamiento. Y finalmente, los niveles de ABZSO se relacionan significativamente con el aumento de la actividad enzimática hepática y los cambios ultrasonográficos del quiste, por lo que sugerimos fuertemente que este metabolito sea medido e incluido en la evaluación de la eficacia y seguridad del tratamiento oral por ABZ.

## V. ASPECTOS ÉTICOS

El proyecto de tesis involucró la ejecución de dos investigaciones:

- 1) El sub-estudio 1 estuvo dirigido a validar una metodología para la medición de ABZSO en plasma humano procedente de la donación de un banco de sangre de un hospital de Lima Metropolitana; por lo que no se requirió de consentimiento o asentimiento informado.
- 2) El sub-estudio 2 fue una cohorte dirigida a evaluar la relación entre los niveles de albendazol sulfóxido con la actividad enzimática hepática y características estructurales del quiste hidatídico; por consiguiente, se involucró la participación de seres humanos y el uso de sus muestras biológicas. Participaron personas mayores a los 3 años y de ambos sexos, quienes fueron informados de los objetivos de la investigación, así como de los beneficios y riesgos que derivan de su participación. El enrolamiento estuvo supeditado a la autorización en un consentimiento (mayores de edad) y/o asentimiento informado (aplicado a niños de 7 a 12 años y de 12 a 17 años) (**ver anexo 3**); además el participante recibió una completa explicación de los beneficios y riesgos de la investigación y de cada aspecto que se detalla en el consentimiento o asentimiento informado. En caso de que el participante no supo leer, éste le fue leído por el investigador principal. Toda participación fue voluntaria y no hubo retribución económica que pueda asociarse a una posible coacción de los participantes. La atención inicial fue en sus domicilios y garantizando la confidencialidad de la información provista en la ficha de recolección de datos, la cual estuvo codificada sin incluir datos personales como nombres y apellidos y número de documento nacional de identidad. Los

resultados de las pruebas de tamizaje (ecografía abdominal) fueron entregados inmediatamente después de finalizado el procedimiento. En el caso de alteración de las pruebas de química analítica, hematología y de laboratorio en general, se priorizó la entrega inmediata de los resultados (específicamente antes de los 60 minutos de haber obtenido los resultados), vía correo electrónico del médico tratante para que evalúe la continuidad o detenimiento del tratamiento oral con ABZ. En el caso de que los valores de laboratorio estén normales, el informe de resultados fue enviado de igual manera durante las primeras 24 horas. Toda información que se obtuvo de la evaluación del participante y sus muestras biológicas fueron manipuladas en función a un código único de investigación, asignado durante la obtención del consentimiento y/o asentimiento informado. Las muestras biológicas fueron almacenadas para su custodia y preservación en el tiempo, en caso de que se tuviera que repetir algunos ensayos de laboratorio, y con fines de investigación estrictamente enmarcados en la problemática de estudio. Toda la data fue almacenada en una base de datos encriptada y de acceso exclusivo al investigador principal.

Dentro de los aspectos éticos-administrativos, el proyecto de tesis se registró en el Sistema Descentralizado de Información y Seguimiento a la Investigación (SIDISI) - Dirección Universitaria de Investigación, Ciencia y Tecnología (DUICT), y fue evaluado por el Comité de Ética de la UPCH (CIE-UPCH) previamente a su ejecución. Durante la implementación del estudio se respetaron los principios éticos delineados en la Declaración de Helsinki, y se siguieron estrictamente las recomendaciones realizadas por el CIE-UPCH.

## **VI. LIMITACIONES**

### **Limitaciones del estudio 1**

En el sub-estudio 1, no se ha identificado limitaciones que sean significativas, puesto que corresponde a un estudio que sigue una metodología basada en la validación analítica de un bioensayo, y cada procedimiento que se realice obedece al cumplimiento estricto de lo estipulado en en la guía de validación de ensayos bioanalíticos de la FDA.

### **Limitaciones del estudio 2**

En el sub-estudio 2, no se pudo conocer los niveles enzimáticos hepáticos o cambios estructurales del quiste hidatídico después de los 3 meses de tratamiento, ya que la cohorte fue cerrada. Así mismo, muchas de las respuestas que se obtendrán serán de auto reporte, tales como los relacionados al consumo de drogas de abuso, antecedentes de enfermedades como hidatidosis, tratamientos y consumo de fármacos; en ese sentido, la valoración es hasta cierto punto subjetiva; sin embargo, el resto de las variables serán medidas de forma objetiva. No obstante, existen algunas características raras o poco comunes que pueden inducir elevación de la actividad enzimática y hepatotoxicidad, tales como infección por hepatitis A, Epstein Bar, citomegalovirus, sepsis, enfermedades autoinmunes y embarazo, las cuales no fueron medidas en el estudio. Finalmente, la actual pandemia por COVID-19 viene generando colapso en todos los niveles de atención en salud pública; y considerando que la hidatidosis es una zoonosis considerada como “enfermedad olvidada”, esta ha dejado de recibir atención médica, lo que

dificulta de sobremanera el enrolamiento de pacientes para identificar y diagnosticar hidatidosis hepática. En ese sentido, es importante considerar que este contexto influye directamente en la cantidad de pacientes evaluados, por lo que los hallazgos deben ser presentados de forma descriptiva, a fin de generar hallazgos importantes para la generación de futuras hipótesis que puedan investigarse cuando el contexto epidemiológico de la COVID-19 lo permita.

## **VII.CONCLUSIONES GENERALES**

### **Conclusiones del estudio 1**

El método HPLC-MS para la cuantificación de ABZSO en plasma humano es válido de acuerdo con los estándares definidos por la FDA. El método ofrece una respuesta lineal entre 1 y 1500 ng/mL y con un límite de detección de 1 ng/mL. Es un método altamente preciso con un coeficiente de variación menor a 2% y exacto, con un nivel de sesgo bajo.

### **Conclusiones del estudio 2**

Los niveles de ABZSO estuvieron asociados significativamente con la actividad de las cuatro enzimas hepáticas (ALT, AST,  $\gamma$ -GT y FALC).

Los niveles de ABZSO se incrementaron progresivamente conforme aumentó el número de días de tratamiento. Esta característica también se observó en los niveles de actividad enzimática hepática (ALT, AST,  $\gamma$ -GT y FALC) y características quísticas (diámetro y volumen), más no para el tipo de quiste de acuerdo con la clasificación de WHO-IWGE, en aquellos que cumplieron el tratamiento hasta el día 90.

## **VIII. RECOMENDACIONES GENERALES**

### **Recomendaciones del estudio 1**

El método HPLC-MS para la cuantificación de ABZSO debe ser evaluada en otras matrices biológicas como suero, orina y líquido céfalo raquídeo, de tal forma que pueda servir como un instrumento válido en estudios de biodisponibilidad como parte de ensayos clínicos orientados a valorar la eficacia del tratamiento por ABZ y sus combinaciones ante diferentes patologías.

### **Recomendaciones del estudio 2**

Debe garantizarse el monitoreo de los niveles de ABZSO en pacientes que reciben tratamiento con ABZ de forma prolongada, dado que su incremento guarda coherencia con la elevación de la actividad enzimática hepática, y podría servir como un marcador que oriente al médico para continuar o suspender el tratamiento no sólo en base a la presencia de eventos adversos como es la hepatotoxicidad, sino ante los posibles cambios estructurales del quiste que evidencien eficacia del tratamiento. Se debe continuar con la evaluación de cohortes para caracterizar eventos post-tratamiento con ABZ, e incluir la medición de ABZSO y variantes enantioméricas, que podrían explicar con más exactitud, los cambios en la eficacia del tratamiento oral con ABZ.

## IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Brunetti E, Garcia H, Junghanss T, on behalf of the members of the International Ce Workshop in Lima P. Cystic Echinococcosis: Chronic, Complex, and Still Neglected. *PLOS Neglected Tropical Diseases*. **2011**;5(7):e1146.
2. Brunetti E, White A. Cestode infestations: hydatid disease and cysticercosis. *Infectious disease clinics of North America*. **2012**;26(2):421-35.
3. Eckert J, Deplazes P. Biological, Epidemiological, and Clinical Aspects of Echinococcosis, a Zoonosis of Increasing Concern. *Clinical Microbiology Reviews*. **2004**;17(1):107-35.
4. Gavidia C, Gonzalez A, Zhang W, McManus D, Lopera L, Ninaquispe B, et al. Diagnosis of Cystic Echinococcosis, Central Peruvian Highlands. *Emerging Infectious Diseases*. **2008**;14(2):260-6.
5. Salgado S, Cabrera R. Características clínicas y epidemiológicas de la equinococosis quística registradas en un área endémica en los andes centrales del Perú (1991-2002). *Neotrop Helminthol*. **2007**;1(2):69-84.
6. Moro P, McDonald J, Gilman R, Silva B, Verastegui M, Malqui V, et al. Epidemiology of Echinococcus granulosus infection in the central Peruvian Andes. *Bulletin of the World Health Organization*. **1997**;75(6):553-61.
7. Moro P, Lopera L, Cabrera M, Cabrera G, Silva B, Gilman R, et al. Short report: endemic focus of cystic echinococcosis in a coastal city of Peru. *Am J Trop Med Hyg*. **2004**;71(3):327-9.

8. Aslan M, Yuksel P, Polat E, Cakan H, Ergin S, Oner Y, et al. The diagnostic value of Western blot method in patients with cystic echinococcosis. *The new microbiologica*. **2011**;34(2):173-7.
9. Junghanss T, da Silva A, Horton J, Chiodini P, Brunetti E. Clinical Management of Cystic Echinococcosis: State of the Art, Problems, and Perspectives. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. **2008**;79(3):301-11.
10. Brunetti E, Kern P, Vuitton D. Expert consensus for the diagnosis and treatment of cystic and alveolar echinococcosis in humans. *Acta Tropica*. **2010**;114(1):1-16.
11. Sozuer E, Akyuz M, Akbulut S. Open Surgery for Hepatic Hydatid Disease. *International Surgery*. **2014**;99(6):764-9.
12. Prousalidis J, Kosmidis C, Anthimidis G, Kapoutzis K, Karamanlis E, Fachantidis E. Postoperative recurrence of cystic hydatidosis. *Canadian journal of surgery Journal canadien de chirurgie*. **2012**;55(1):15-20.
13. Chautems R, Buhler L, Gold B, Giostra E, Poletti P, Chilcott M, et al. Surgical management and long-term outcome of complicated liver hydatid cysts caused by *Echinococcus granulosus*. *Surgery*. **2005**;137(3):312-6.
14. Del Carpio M, Hugo Mercapide C, Salvitti J, Uchiumi L, Sustercic J, Panomarenko H, et al. Early Diagnosis, Treatment and Follow-Up of Cystic Echinococcosis in Remote Rural Areas in Patagonia: Impact of Ultrasound Training of Non-Specialists. *PLoS neglected tropical diseases*. **2012**;6(1):e1444.

15. Moroni S, Moscatelli G, Bournissen F, González N, Ballering G, Freilij H, et al. Abdominal Cystic Echinococcosis Treated with Albendazole. A Pediatric Cohort Study. *PloS one*. **2016**;11(9):e0160472.
16. Shams U, Arif S, Malik A, Khaja A, Dass T, Naikoo Z. Role of Albendazole in the Management of Hydatid Cyst Liver. *Saudi Journal of Gastroenterology*. **2011**;17(5):343-7.
17. Franchi C, Di Vico B, Teggi A. Long-term evaluation of patients with hydatidosis treated with benzimidazole carbamates. *Clinical infectious diseases*. **1999**;29(2):304-9.
18. Salinas J, Vildozola Gonzales H, Astuvilca J, Arce Y, Carbajal D, Talledo L, et al. Long-term albendazole effectiveness for hepatic cystic echinococcosis. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. **2011**;85(6):1075-9.
19. Karabulut K, Ozbalci G, Kesicioglu T, Tarim I, Lap G, Kamali Polat A, et al. Long-term outcomes of intraoperative and perioperative albendazole treatment in hepatic hydatidosis: single center experience. *Annals of Surgical Treatment and Research*. **2014**;87(2):61-5.
20. NCBI. Albendazole United States: National Center for Biotechnology Information; 2018. Available online: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2082>.
21. Radko L, Minta M, Jedziniak P, Stypuła S. Comparison of Albendazole Cytotoxicity in Terms of Metabolite Formation in Four Model Systems. *Journal of veterinary research*. **2017**;61(3):313-9.

22. Castro L, Kwiecinski M, Ourique F, Parisotto E, Grinevicius V, Correia J, et al. Albendazole as a promising molecule for tumor control. *Redox biology*. **2016**;10:90-9.
23. Belaz K, Cass Q, Oliveira R. Determination of albendazole metabolites by direct injection of bovine plasma and multidimensional achiral-chiral high performance liquid chromatography. *Talanta*. **2008**;76(1):146-53.
24. Li L, Xing D, Li Q, Xiao Y, Ye M, Yang Q. Determination of Albendazole and Metabolites in Silkworm *Bombyx mori* Hemolymph by Ultrafast Liquid Chromatography Tandem Triple Quadrupole Mass Spectrometry. *PLOS ONE*. **2014**;9(9):e105637.
25. Prochazkova A, Chouki M, Theurillat R, Thormann W. Therapeutic drug monitoring of albendazole: determination of albendazole, albendazole sulfoxide, and albendazole sulfone in human plasma using nonaqueous capillary electrophoresis. *Electrophoresis*. **2000**;21(4):729-36.
26. Swamy N, Basavaiah K. Simple and rapid spectrophotometric assay of albendazole in pharmaceuticals using iodine and picric acid as CT complexing agents. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. **2014**;50:839-50.
27. INACAL. Lista de laboratorios acreditados: Instituto Nacional de Calidad; 2022. Available online: <https://www.inacal.gob.pe/acreditacion/categoria/acreditados>.
28. Vorrink S, Zhou Y, Ingelman M, Lauschke V. Prediction of Drug-Induced Hepatotoxicity Using Long-Term Stable Primary Hepatic 3D Spheroid

- Cultures in Chemically Defined Conditions. *Toxicological Sciences*. **2018**;163(2):655-65.
29. Adas G, Arikan S, Kemik O, Oner A, Sahip N, Karatepe O. Use of albendazole sulfoxide, albendazole sulfone, and combined solutions as scolicidal agents on hydatid cysts (in vitro study). *World Journal of Gastroenterology*. **2009**;15(1):112-6.
  30. Choi G, Yang H, Cho S, Kang D, Go H, Lee W, et al. Acute Drug-Induced Hepatitis Caused by Albendazole. *Journal of Korean Medical Science*. **2008**;23(5):903-5.
  31. Shah C, Mahapatra A, Shukla A, Bhatia S. Recurrent acute hepatitis caused by albendazole. *Tropical gastroenterology*. **2013**;34(1):38-9.
  32. Chalasani N, BjÖRnsson E. Risk Factors for Idiosyncratic Drug-Induced Liver Injury. *Gastroenterology*. **2010**;138(7):2246-59.
  33. Aksit D, Yalinkilinc H, Sekkin S, Boyacioğlu M, Cirak V, Ayaz E, et al. Comparative pharmacokinetics and bioavailability of albendazole sulfoxide in sheep and goats, and dose-dependent plasma disposition in goats. *BMC Veterinary Research*. **2015**;11(1):124.
  34. Skuhala T, Trkulja V, Runje M, Vukelic D, Desnica B. Albendazole sulphoxide concentrations in plasma and hydatid cyst and prediction of parasitological and clinical outcomes in patients with liver hydatidosis caused by *Echinococcus granulosus*. *Croatian medical journal*. **2014**;55(2):146-55.
  35. Manterola C, Otzen T. Hepatic Echinococcosis with Thoracic Involvement. Clinical Characteristics of a Prospective Series of Cases. *Annals of hepatology*. **2017**;16(4):599-606.

36. Pinilla R, Quintana J, Pinilla M. Enfermedad hidatídica: resultados de trabajo en una colaboración internacionalista. *Revista Cubana de Cirugía*. **2015**;54:69-81.
37. Manterola D, Ávila A, Saco V, Ulloa M, Moraga C. Tránsito hepatotorácico, complicación evolutiva de la hidatidosis hepática: Características clínicas y morbilidad de una serie prospectiva de pacientes intervenidos quirúrgicamente. *Revista chilena de cirugía*. **2009**;61:345-9.
38. Islami P, Jahani M, Hosseinzadeh F, Taghian S, Rostami F, Mousavi A, et al. Epidemiology and Clinical Features of Hydatid Cyst in Northern Iran from 2005 to 2015. *Iran J Parasitol*. **2018**;13(2):310-6.
39. Bahamonde J. Diagnóstico ecográfico del quiste hidatídico. Lima, Perú: Universidad San Martín de Porres; 2013.
40. Benavente J. Características clínicas, terapéuticas y epidemiológicas en pacientes niños y adolescentes con diagnóstico hidatidosis hepática. Hospital Regional Honorio Delgado, Arequipa, 2005 - 2015. Arequipa, Perú: Universidad Nacional de San Agustín; 2016.
41. FDA. Bioanalytical Method Validation: Guidance for Industry. US: Food and Drug Administration; 2018.
42. Garvey B, Moyano L, Ayvar V, Rodríguez S, Gilman R, Gonzalez A, et al. Neurocysticercosis among People Living Near Pigs Heavily Infected with Cysticercosis in Rural Endemic Peru. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. **2018**;98(2):558-64.
43. Moyano L, O'Neal S, Ayvar V, Gonzalez G, Gamboa R, Vilchez P, et al. High Prevalence of Asymptomatic Neurocysticercosis in an Endemic Rural

- Community in Peru. *PLoS neglected tropical diseases*. **2016**;10(12):e0005130.
44. Reyes M, Taramona C, Saire M, Gavidia C, Barron E, Boufana B, et al. Human and canine echinococcosis infection in informal, unlicensed abattoirs in Lima, Peru. *PLoS neglected tropical diseases*. **2012**;6(4):e1462.
45. Santivanez S, Naquira C, Gavidia C, Tello L, Hernandez E, Brunetti E, et al. [Household factors associated with the presence of human hydatid disease in three rural communities of Junin, Peru]. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. **2010**;27(4):498-505.
46. García H, Evans C, Nash T, Takayanagui O, White A, Botero D, et al. Current Consensus Guidelines for Treatment of Neurocysticercosis. *Clinical microbiology reviews*. **2002**;15(4):747-56.
47. Horton J. Albendazole for the treatment of echinococcosis. *Fundamental & clinical pharmacology*. **2003**;17(2):205-12.
48. Dehkordi A, Sanei B, Yousefi M, Sharafi S, Safarnejhad F, Jafari R, et al. Albendazole and treatment of hydatid cyst, review of literature. *Infectious disorders drug targets*. **2018**. 2019;19(2):101-104
49. Aguilera M, Vidal J, Romero R, Frenich A. Multi-residue determination of veterinary drugs in milk by ultra-high-pressure liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of chromatography A*. **2008**;1205(1-2):10-6.
50. Shaw L, Lin L, Tsai T. HPLC-MS/MS analysis of a traditional Chinese medical formulation of Bu-Yang-Huan-Wu-Tang and its pharmacokinetics after oral administration to rats. *PloS one*. **2012**;7(8):e43848.

51. Bonato P, Lanchote V, Takayanagui O. Simultaneous liquid chromatography-tandem mass spectrometric determination of albendazole sulfoxide and albendazole sulfone in plasma. *Journal of chromatography B.* **2003**;783(1):237-45.
52. González I, Ruiz M, Cárdenas G, Jung H. A simple LC-MS/MS method to determine plasma and cerebrospinal fluid levels of albendazole metabolites (albendazole sulfoxide and albendazole sulfone) in patients with neurocysticercosis. *Biomedical chromatography : BMC.* **2012**;26(2):267-72.
53. Jung H, Medina L, García L, Fuentes I, Moreno R. Absorption studies of albendazole and some physicochemical properties of the drug and its metabolite albendazole sulphoxide. *The Journal of pharmacy and pharmacology.* **1998**;50(1):43-8.
54. Jenkins R, Duggan J, Aubry A, Zeng J, Lee J, Cojocar L, et al. Recommendations for validation of LC-MS/MS bioanalytical methods for protein biotherapeutics. *The AAPS journal.* **2015**;17(1):1-16.
55. Duggan J, Vazvaei F, Jenkins R. Bioanalytical method validation considerations for LC-MS/MS assays of therapeutic proteins. *Bioanalysis.* **2015**;7(11):1389-95.
56. Wojnicz A, Cabaleiro T, Román M, Ochoa D, Abad F, Ruiz A. A simple assay for the simultaneous determination of human plasma albendazole and albendazole sulfoxide levels by high performance liquid chromatography in tandem mass spectrometry with solid-phase extraction. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry.* **2013**;426:58-63.

57. Rathod D, Patel K, Mistri H, Jangid A, Shrivastav P, Sanyal M. Liquid chromatography--tandem mass spectrometry method for simultaneous determination of albendazole and albendazole sulfoxide in human plasma for bioequivalence studies. *J Pharm Anal.* **2016**;6(4):226-34.
58. Saraner N, Özkan G, Güney B, Alkan E, Burul N, Sağlam O, et al. Determination of albendazole sulfoxide in human plasma by using liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography B.* **2016**;1022:1-5.
59. Chhonker Y, Edi C, Murry D. LC–MS/MS method for simultaneous determination of diethylcarbamazine, albendazole and albendazole metabolites in human plasma: Application to a clinical pharmacokinetic study. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis.* **2018**;151:84-90.
60. EMA. Guideline on bioanalytical method validation. Committee for Medicinal Products for Human Use: European Medicines Agency; 2011.
61. Garcia H, Lescano A, Lanchote V, Pretell E, Gonzales I, Bustos J, et al. Pharmacokinetics of combined treatment with praziquantel and albendazole in neurocysticercosis. *British journal of clinical pharmacology.* **2011**;72(1):77-84.
62. Wojnicz A, Cabaleiro T, Roman M, Ochoa D, Abad F, Ruiz A. A simple assay for the simultaneous determination of human plasma albendazole and albendazole sulfoxide levels by high performance liquid chromatography in tandem mass spectrometry with solid-phase extraction. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry.* **2013**;426:58-63.

63. Rathod DM, Patel KR, Mistri HN, Jangid AG, Shrivastav PS, Sanyal M. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for simultaneous determination of albendazole and albendazole sulfoxide in human plasma for bioequivalence studies. *J Pharm Anal.* **2016**;6(4):226-34.
64. Kitzman D, Cheng K-J, Fleckenstein L. HPLC assay for albendazole and metabolites in human plasma for clinical pharmacokinetic studies. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis.* **2002**;30(3):801-13.
65. Lange H, Eggers R, Bircher J. Increased systemic availability of albendazole when taken with a fatty meal. *European journal of clinical pharmacology.* **1988**;34(3):315-7.
66. Kataoka M, Fukahori M, Ikemura A, Kubota A, Higashino H, Sakuma S, et al. Effects of gastric pH on oral drug absorption: In vitro assessment using a dissolution/permeation system reflecting the gastric dissolution process. *European journal of pharmaceuticals and biopharmaceutics.* **2016**;101:103-11.
67. Mirfazaelian A, Rouini M, Dadashzadeh S. Dose dependent pharmacokinetics of albendazole in human. *Biopharmaceutics & Drug Disposition.* **2002**;23(9):379-83.
68. Salvagno G, Danese E, Lippi G. Preanalytical variables for liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) analysis of human blood specimens. *Clinical biochemistry.* **2017**;50(10-11):582-6.
69. Garcia H, Lescano A, Gonzales I, et al. Cysticidal Efficacy of Combined Treatment With Praziquantel and Albendazole for Parenchymal Brain Cysticercosis. *Clinical Infectious Diseases.* **2016**;62(11):1375-9.

70. He Z, Diao Z, Guo Y, Xie K, Chen L, Xue C, et al. Simultaneous Determination of Albendazole and Its Three Metabolites in Pig and Poultry Muscle by Ultrahigh-Performance Liquid Chromatography-Fluorescence Detection. *Foods*. **2021**;10(10).
71. Suaifan G, Khanfar M, Shehadeh M, Alnajajrah A, Abuhamdan R, Hasan S. An Electrochemical Sensor for the Detection of Albendazole Using Glassy Carbon Electrode Modified with Platinum-Palladium Nanocomposites. *Biosensors*. **2022**;12(11):1026.
72. Solana H, Sallovitz J, Lanusse C, Rodriguez J. Enantioselective binding of albendazole sulphoxide to cytosolic proteins from helminth parasites. *Methods and findings in experimental and clinical pharmacology*. **2002**;24(1):7-13.
73. Lanchote V, Marques M, Takayanagui O, de Carvalho R, Paias F, Bonato P. Simultaneous determination of albendazole sulfoxide enantiomers and albendazole sulfone in plasma. *Journal of chromatography B*. **1998**;709(2):273-9.
74. Eckert J, Deplazes P. Biological, epidemiological, and clinical aspects of echinococcosis, a zoonosis of increasing concern. *Clinical microbiology reviews*. **2004**;17(1):107-35.
75. Tamarozzi F, Mariconti M, Covini I, Brunetti E. [Rapid diagnostic tests for the serodiagnosis of human cystic echinococcosis]. *Bulletin de la Societe de pathologie exotique*. **2017**;110(1):20-30.
76. Fotoohi S, Hashemi Tabar G, Borji H. Serodiagnosis of human hydatidosis with an ELISA developed based on antigens derived from sheep hydatid cysts

- and comparison with a commercial human ELISA kit. *Asian Pacific journal of tropical medicine*. **2013**;6(9):723-7.
77. Wuestenberg J, Gruener B, Oeztuerk S, Mason R, Haenle M, Graeter T, et al. Diagnostics in cystic echinococcosis: serology versus ultrasonography. *The Turkish journal of gastroenterology*. **2014**;25(4):398-404.
78. Brunetti E, Kern P, Vuitton D. Expert consensus for the diagnosis and treatment of cystic and alveolar echinococcosis in humans. *Acta tropica*. **2010**;114(1):1-16.
79. Gomez C, López R, Belda T, Ramia J, Moya Á, Orbis F, et al. Review of the treatment of liver hydatid cysts. *World Journal of Gastroenterology*. **2015**;21(1):124-31.
80. Vennarecci G, Manfredelli S, Guglielmo N, Laurenzi A, Goletti D, Ettorre G. Major liver resection for recurrent hydatid cyst of the liver after suboptimal treatment. *Updates in surgery*. **2016**;68(2):179-84.
81. Velasco V, Romero Á, Belhassen M, Alonso M, Esteban C, López A, et al. Recurrence of cystic echinococcosis in an endemic area: a retrospective study. *BMC Infectious Diseases*. **2017**;17:455.
82. Li T, Ito A, Pengcuo R, Sako Y, Chen X, Qiu D, et al. Post-treatment follow-up study of abdominal cystic echinococcosis in tibetan communities of northwest Sichuan Province, China. *PLoS neglected tropical diseases*. **2011**;5(10):e1364.
83. Fattahi S, Lari S, Fattahi A, Ahmadnia N, Rajabi M, NaderiKalat M. Albendazole therapy in human lung and liver hydatid cysts: A 13-year experience. *The clinical respiratory journal*. **2018**;12(3):1076-83.

84. Bildik N, Cevik A, Altintas M, Ekinci H, Canberk M, Gulmen M. Efficacy of preoperative albendazole use according to months in hydatid cyst of the liver. *Journal of clinical gastroenterology*. **2007**;41(3):312-6.
85. Hemphill A, Stadelmann B, Rufener R, Spiliotis M, Boubaker G, Müller J, et al. Treatment of echinococcosis: albendazole and mebendazole--what else? *Parasite*. **2014**;21:70-.
86. Smego R, Sebanego P. Treatment options for hepatic cystic echinococcosis. *International Journal of Infectious Diseases*. **2005**;9(2):69-76.
87. Horton R. Albendazole in treatment of human cystic echinococcosis: 12 years of experience. *Acta tropica*. **1997**;64(1-2):79-93.
88. Gil L, Sánchez J, García F, Bárcena R, Rodríguez F, Brasa C, et al. Randomised controlled trial of efficacy of albendazole in intra-abdominal hydatid disease. *The Lancet*. **1993**;342(8882):1269-72.
89. Nabarro L, Amin Z, Chiodini P. Current Management of Cystic Echinococcosis: A Survey of Specialist Practice. *Clinical Infectious Diseases*. **2015**;60(5):721-8.
90. Stanković N, Ignjatović M, Nozić D, Hajduković Z. Liver hydatid disease: morphological changes of protoscoleces after albendazole therapy. *Vojnosanitetski pregled*. **2005**;62(3):175-9.
91. San Juan C, Lázaro M, Barrientos A, Casado M, Hallouch S, Vega J. Hipertensión portal como complicación de hidatidosis hepática. *Gastroenterología y hepatología*. 2018;41(10):648-9.
92. OPS. La echinococcosis quística como enfermedad parasitaria transmitida por alimentos. Organización Panamericana de la Salud, 2008. Disponible en:

<https://www.paho.org/uru/dmdocuments/OPS%20Libro%20Equinococosis.pdf>

93. Lewall D. Hydatid disease: biology, pathology, imaging and classification. *Clinical radiology*. **1998**;53(12):863-74.
94. Mahmoud L, el-Garhy M. A histochemical study on the hydatid cyst and electron microscopy of the hydatid sand of *Echinococcus granulosus*. *Journal of the Egyptian Society of Parasitology*. **2002**;32(2):647-56, 2 p following 56.
95. Montero L, Breña M. Hidatidosis Humana en el Perú. *Apunt. cienc. soc.* **2015**; 05(1):94-101.
96. IWGE-WHO. International classification of ultrasound images in cystic echinococcosis for application in clinical and field epidemiological settings. *Acta Tropica*. **2003**;85(2):253-61.
97. Zuñiga E, Terashima A, Falcon N. Características Epidemiológicas de Pacientes con Equinocosis Quística Humana en el Hospital Nacional Cayetano Heredia, Lima-Perú. Periodo 2008–2012. 2016.
98. Somocurcio J, Alvarez G, Lara Campos G, Cahuana Aparco J, Calongos Porras E, Bermejo Cataño P, et al. Oclusión arterial aguda asociada a hidatidosis diseminada. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*. **2014**;31:375-9.
99. Davarci I, Tuzcu K, Karcioğlu M, Yetim I, Aydoğan A, Turhanoglu S. Anaesthetic Management of Anaphylactic Shock Caused by Nonruptured Hydatid Cyst of the Liver. *The West Indian medical journal*. **2014**;63(5):545-7.

100. Baruah A, Sarma K, Barman B, Phukan P, Nath C, Boruah P, et al. Clinical and Laboratory Presentation of Hydatid Disease: A Study From Northeast India. *Cureus*. **2020**;12(9):e10260-e.
101. Sturlese Gaya A, Sagrañes Naval G, Ribera Ribas C, Pros Ribas I, Marcilla Galera V, Socías Seco M, et al. Complicaciones Secundarias al Quiste Hidatídico con Ruptura Intrabiliar. *Cir. Esp*. **2017**;95(Espec Congr):396.
102. Bahamondes S, Sandovl M, Losada M, Meriño S, Salman A, Silva V, et al. Quiste Hidatídico Hepático Complicado con Invasión a Vena Cava Inferior y Embolización de Membranas Hidatídicas a Aurícula Derecha: Caso clínico. *Revista chilena de cirugía*. **2010**;62:179-82.
103. Özdemir T, Sayan A, Candan B, Köylüoğlu G. Clinical features and treatment of ruptured pulmonary hydatid cyst in children. *Turk J Pediatr*. **2020**;62(4):578-83.
104. Kayal A, Hussain A. A comprehensive prospective clinical study of hydatid disease. *ISRN Gastroenterol*. **2014**;2014:514757-.
105. Singh U, Kumar S, Gour H, Singh N, Ramaraj M, Mittal V, et al. Complicated hydatid cyst and "air bubble" sign: a stepping-stone to correct diagnosis. *The American journal of case reports*. **2015**;16:20-4.
106. Alvela L, Velasco V, Belhassen M, Novo I, Pardo J, Romero A, et al. Safety of the Combined Use of Praziquantel and Albendazole in the Treatment of Human Hydatid Disease. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. **2014**;90(5):819-22.
107. Jevtic M, Mikic D, Arsic-Komljenovic G, Stankovic N, Ristanovic E, Sjenicic G, et al. [Adverse effects of longterm, continual administration of

- high doses of albendazole in the treatment of echinococcal disease]. *Vojnosanitetski pregled*. **2008**;65(7):539-44.
108. Teggi A, Giattino M, Franchi C, Lastilla M. [A hypothesis on the significance of an increase in serum transaminases in patients with hydatidosis treated with benzimidazole carbamates]. *Recenti progressi in medicina*. **1997**;88(10):452-8.
109. Dayan A. Albendazole, mebendazole and praziquantel. Review of non-clinical toxicity and pharmacokinetics. *Acta tropica*. **2003**;86(2):141-59.
110. Ríos D, Restrepo J. Albendazole-induced liver injury: a case report. *Colombia Médica*. **2013**;44(2):118-20.
111. Amoruso C, Fuoti M, Miceli V, Zito E, Celano M, De Giorgi A, et al. [Acute hepatitis as a side effect of albendazole: a pediatric case]. *La Pediatria medica e chirurgica*. **2009**;31(6):262-4.
112. Bilgic Y, Yilmaz C, Cagin Y, Atayan Y, Karadag N, Harputluoglu M. Albendazole Induced Recurrent Acute Toxic Hepatitis: A Case Report. *Acta gastro-enterologica*. **2017**;80(2):309-11.
113. Ben N, Chaabane A, Chadly Z, Boughattas N, Aouam K. Albendazole-induced associated acute hepatitis and bicytopenia. *Scandinavian journal of infectious diseases*. **2014**;46(2):149-51.
114. Verdugo F, Tapia A, Ramirez D, Oporto S. [Albendazole-induced toxic hepatitis]. *Gastroenterologia y hepatologia*. **2015**;38(7):436-8.
115. Teschke R, Schulze J, Eickhoff A, Danan G. Drug Induced Liver Injury: Can Biomarkers Assist RUCAM in Causality Assessment? *International Journal of Molecular Sciences*. **2017**;18(4):803.

116. WHO. Meeting of the WHO Informal Working Group on Echinococcosis. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2016.
117. Thomas S, Hathaway D, Arheart K. Face Validity. *Western Journal of Nursing Research*. **1992**;14(1):109-12.
118. Del Carpio M, Moguilansky S, Costa M, Panomarenko H, Bianchi G, Bendersky S, et al. Diagnosis of human hydatidosis. Predictive value of a rural ultrasonographic survey in an apparently healthy population. *Medicina*. **2000**;60(4):466-8.
119. Caremani M, Benci A, Maestrini R, Accorsi A, Caremani D, Lapini L. Ultrasound imaging in cystic echinococcosis. Proposal of a new sonographic classification. *Acta tropica*. **1997**;67(1):91-105.
120. Kalas M, Chavez L, Leon M, Taweeseedt P, Surani S. Abnormal liver enzymes: A review for clinicians. *World Journal of Hepatology*. **2021**;13(11):1688-98.
121. Barr D, Landsittel D, Nishioka M, Thomas K, Curwin B, Raymer J, et al. A survey of laboratory and statistical issues related to farmworker exposure studies. *Environ Health Perspect*. **2006**;114(6):961-8.
122. Dinc T, Kayilioglu S, Akturk O, Coskun F. Surgical Management of Liver Hydatid Cyst Related Non-traumatic Emergencies: Single Center Experience. *Iranian journal of parasitology*. **2016**;11(4):574-9.
123. Alan B, Kapan M, Teke M, Hattapoğlu S, Arıkanoğlu Z. Value of cyst localization to predict cystobiliary communication in patients undergoing conservative surgery with hydatid cyst. *Ther Clin Risk Manag*. **2016**;12:995-1001.

124. Fan Z, Hu Y, Wang L, Jiang H, Li D, Zhao H, et al. Evaluation of inflammatory parameters in patients with *hepatic hydatid disease*. *Annals of medicine*. **2021**;53(1):1370-6.
125. Hardman J, Limbird P, Gilman B. Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. ed. t, editor. New York: McGraw-Hill; 2001.
126. Berno G, Zaccarelli M, Gori C, Tempestilli M, Antinori A, Perno C, et al. Analysis of single-nucleotide polymorphisms (SNPs) in human CYP3A4 and CYP3A5 genes: potential implications for the metabolism of HIV drugs. *BMC medical genetics*. **2014**;15:76.
127. Berno G, Zaccarelli M, Gori C, Tempestilli M, Pucci L, Antinori A, et al. Potential implications of CYP3A4, CYP3A5 and MDR-1 genetic variants on the efficacy of Lopinavir/Ritonavir (LPV/r) monotherapy in HIV-1 patients. *Journal of the International AIDS Society*. **2014**;17(4 Suppl 3):19589.
128. Murray M. CYP2J2 - regulation, function and polymorphism. *Drug metabolism reviews*. 2016;48(3):351-68.
129. Ceballos L, Krolewiecki A, Juárez M, Moreno L, Schaer F, Alvarez L, et al. Assessment of serum pharmacokinetics and urinary excretion of albendazole and its metabolites in human volunteers. *PLoS neglected tropical diseases*. **2018**;12(1):e0005945.
130. Bu H. A literature review of enzyme kinetic parameters for CYP3A4-mediated metabolic reactions of 113 drugs in human liver microsomes: structure-kinetics relationship assessment. *Current drug metabolism*. **2006**;7(3):231-49.

131. Ochoa D, Saiz M, González E, Román M, Sánchez S, Wojnicz A, et al. High-Fat Breakfast Increases Bioavailability of Albendazole Compared to Low-Fat Breakfast: Single-Dose Study in Healthy Subjects. *Frontiers in Pharmacology*. **2021**;12(734).
132. Dehkordi A, Sanei B, Yousefi M, Sharafi S, Safarnezhad F, Jafari R, et al. Albendazole and Treatment of Hydatid Cyst: Review of the Literature. *Infectious disorders drug targets*. **2019**;19(2):101-4.

## X. ANEXOS

### 10.1. Anexo 1: Aprobación ética previa



UNIVERSIDAD PERUANA  
**CAYETANO HEREDIA**

Dirección Universitaria de  
INVESTIGACIÓN, CIENCIA Y  
TECNOLOGÍA (DUICT)

#### CONSTANCIA 278 - 27 - 21

El Presidente del Comité Institucional de Ética en Investigación (CIEI) de la Universidad Peruana Cayetano Heredia hace constar que el proyecto de investigación señalado a continuación fue **APROBADO** por el Comité de Ética.

Título del Proyecto : "Validación de la medición de albendazol sulfóxido y sus niveles plasmáticos, actividad enzimática hepática y características estructurales de quistes en pacientes con hidatidosis hepática durante".

Código de inscripción : 104243

Investigador principal : Rosales Rimache, Jaime Alonso.

La aprobación incluyó los documentos finales descritos a continuación:

1. Protocolo de investigación, versión recibida en fecha 21 de junio del 2021.
2. Consentimiento informado (mayores de edad), versión recibida en fecha 21 de junio del 2021.
3. Consentimiento informado (para padres y/o tutores de menores de edad), versión recibida en fecha 21 de junio del 2021.
4. Asentimiento informado (niños de 7 a 12 años), versión recibida en fecha 21 de junio del 2021.
5. Asentimiento informado (niños mayores de 12 a 17 años), versión recibida en fecha 21 de junio del 2021.

La **APROBACIÓN** considera el cumplimiento de los estándares de la Universidad, los lineamientos Científicos y éticos, el balance riesgo/beneficio, la calificación del equipo investigador y la confidencialidad de los datos, entre otros.

Cualquier enmienda, desviaciones, eventualidad deberá ser reportada de acuerdo a los plazos y normas establecidas. El investigador reportará cada seis meses el progreso del estudio y alcanzará un informe al término de éste. La aprobación tiene vigencia desde la emisión del presente documento hasta el 02 de agosto del 2022.

Si aplica, los trámites para su renovación deberán iniciarse por lo menos 30 días previos a su vencimiento.

Lima, 03 de agosto del 2021.

  
Dra. Prine Samalvides Cuba  
Presidenta  
Comité Institucional de Ética en Investigación



/ de

Av. Honor e Delgado 430, SMP 1 5102  
Apartado postal 4314  
(511) 319-0000 anexo 201352  
duict@oficinas.upch.pe  
www.cayetano.edu.pe

## 10.2. Anexo 2: Instrumento(s) de recolección de los datos

| FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS DEL PACIENTE      |   |  |  |
|---|---|--|--|
| Código de identificación                        |   | Fecha de evaluación                      | ____ / ____ / ____   |
| Centro Poblado                                  |   | Iniciales del entrevistador              |  |
| Datos personales y antecedentes de salud        |   |  |  |
| 1   | Fecha de nacimiento                                 | Día <input type="text"/>                 | Mes <input type="text"/> Año <input type="text"/>  |
| 2   | Sexo  | Varón <input type="checkbox"/>           | Mujer <input type="checkbox"/>   |
| 3   | Hidatidosis tratada anteriormente                   | No <input type="checkbox"/>              | Si <input type="checkbox"/> → ¿Órgano afectado? _____  |
| 4   | Tratamiento quirúrgico                              | No <input type="checkbox"/>              | Si <input type="checkbox"/> → ¿Fecha de cirugía? ____ / ____ / ____  |
| 5   | Tratamiento con albendazol                          | No <input type="checkbox"/>              | Si <input type="checkbox"/> → ¿Cuánto tiempo? ____ meses ____ días   |
| 6   | Historial de enfermedades                           | Hepatitis B <input type="checkbox"/>     | Hepatitis C <input type="checkbox"/> Cirrosis hepática <input type="checkbox"/><br>Ca. hepatocelular <input type="checkbox"/> Tuberculosis <input type="checkbox"/> Hipersensibilidad ABZ <input type="checkbox"/> |
| 7   | Historial de consumo de fármacos u otras sustancias | Benzodiazepinas <input type="checkbox"/> | Fenitoína <input type="checkbox"/> Alcohol <input type="checkbox"/><br>Tabaco <input type="checkbox"/> Cocaína <input type="checkbox"/> Marihuana <input type="checkbox"/>   |
| Estado comórbido (según pruebas de laboratorio) |   |  |  |
| 8   | Inflamación   | No <input type="checkbox"/>              | Si <input type="checkbox"/> Nivel de Proteína C reactiva <input type="text"/> g/dL   |
| 9   | Anemia  | No <input type="checkbox"/>              | Si <input type="checkbox"/> Nivel de hemoglobina <input type="text"/> g/L  |
| 10  | Diabetes mellitus                                   | No <input type="checkbox"/>              | Si <input type="checkbox"/> Nivel de glicemia <input type="text"/> mg/dL   |
| 11  | Obesidad  | No <input type="checkbox"/>              | Si <input type="checkbox"/> IMC <input type="text"/> mg/dL   |
| Esquema de tratamiento asignado                 |   |  |  |

|    |                          |   |
|----|--------------------------|---|
| 12 | Duración del tratamiento | Fecha de inicio de tratamiento: ____ / ____ / ____<br>Fecha de fin de tratamiento: ____ / ____ / ____ |
|----|--------------------------|---|

**Pruebas de laboratorio (Basal → antes del tratamiento con ABZ)**

|          |                      |        |      |                      |        |            |                      |        |
|----------|----------------------|--------|------|----------------------|--------|------------|----------------------|--------|
| Glicemia | <input type="text"/> | mg/dL  | Urea | <input type="text"/> | mg/dL  | Creatinina | <input type="text"/> | mg/dL  |
| ALT      | <input type="text"/> | U/L    | AST  | <input type="text"/> | U/L    | FALC       | <input type="text"/> | U/L    |
| Hb       | <input type="text"/> | g/dL   | Hto  | <input type="text"/> | %      | RBC        | <input type="text"/> | cel/uL |
| HCM      | <input type="text"/> | pg/cel | CHCM | <input type="text"/> | mg/dL  | VCM        | <input type="text"/> | fL     |
| RWD      | <input type="text"/> | %      | WBC  | <input type="text"/> | cel/uL | PLAQ       | <input type="text"/> | cel/uL |

**Variable exposición: Nivel de ABZ-SFX**

|                          |        |                      |       |        |                    |
|--------------------------|--------|----------------------|-------|--------|--------------------|
| Concentración de ABZ-SFX | Día 15 | <input type="text"/> | ng/mL | Fecha: | ____ / ____ / ____ |
|                          | Día 30 | <input type="text"/> | ng/mL | Fecha: | ____ / ____ / ____ |
|                          | Día 45 | <input type="text"/> | ng/mL | Fecha: | ____ / ____ / ____ |
|                          | Día 60 | <input type="text"/> | ng/mL | Fecha: | ____ / ____ / ____ |
|                          | Día 75 | <input type="text"/> | ng/mL | Fecha: | ____ / ____ / ____ |
|                          | Día 90 | <input type="text"/> | ng/mL | Fecha: | ____ / ____ / ____ |

**Variable desenlace (subestudio 2): Hepatotoxicidad**

|                    |        |     |                      |     |      |                      |     |
|--------------------|--------|-----|----------------------|-----|------|----------------------|-----|
| Control enzimático | Día 15 | ALT | <input type="text"/> | U/L | FALC | <input type="text"/> | U/L |
|                    | Día 30 | ALT | <input type="text"/> | U/L | FALC | <input type="text"/> | U/L |
|                    | Día 45 | ALT | <input type="text"/> | U/L | FALC | <input type="text"/> | U/L |
|                    | Día 60 | ALT | <input type="text"/> | U/L | FALC | <input type="text"/> | U/L |
|                    | Día 75 | ALT | <input type="text"/> | U/L | FALC | <input type="text"/> | U/L |
|                    | Día 90 | ALT | <input type="text"/> | U/L | FALC | <input type="text"/> | U/L |

\*Las fechas de análisis de las enzimas hepáticas son las mismas que para los niveles de ABZ-SFX

|                 |                             |                             |  |
|-----------------|-----------------------------|-----------------------------|--|
| Hepatotoxicidad | No <input type="checkbox"/> | Si <input type="checkbox"/> | Fecha de desenlace: ____ / ____ / ____ |
|-----------------|-----------------------------|-----------------------------|--|

| FICHA DE CONTROL ECOGRÁFICO DEL PACIENTE                                   |                                 |                                      |   |
|--|---------------------------------|--------------------------------------|---|
| Código de identificación   |                                 | Fecha de evaluación                  | ____ / ____ / ____  |
| Centro Poblado   |                                 | Iniciales del ecografista            |   |
| Control ecográfico   | Antes del tratamiento ( )       | Día 30 ( )                           | Día 60 ( )      Día 90 ( )  |
| Características del quiste hidatídico (Monitoreo ecográfico)               |                                 |                                      |   |
| Órgano afectado  | Hígado <input type="checkbox"/> | Otro órgano <input type="checkbox"/> | ¿Cuál? _____  |
| Tipo de quiste<br>(según IWGWHO)   | CE1 <input type="checkbox"/>    | CE2 <input type="checkbox"/>         | CE3a <input type="checkbox"/>                                       |
|  | CE3b <input type="checkbox"/>   | CE4 <input type="checkbox"/>         | CE5 <input type="checkbox"/>  |
| Número   | Hígado <input type="text"/>     | Otro órgano <input type="text"/>     |   |
| Diámetro (cm)  | Hígado:                         | Quiste 1 <input type="text"/>        | Quiste 2 <input type="text"/>                                       |
|  |                                 | Quiste 3 <input type="text"/>        | Quiste 4 <input type="text"/>                                       |
|  | Otro órgano:                    | Quiste 1 <input type="text"/>        | Quiste 2 <input type="text"/>                                       |
| Volumen (mL)   | Hígado:                         | Quiste 1 <input type="text"/>        | Quiste 2 <input type="text"/>                                       |
|  |                                 | Quiste 3 <input type="text"/>        | Quiste 4 <input type="text"/>                                       |
|  | Otro órgano:                    | Quiste 1 <input type="text"/>        | Quiste 2 <input type="text"/>                                       |
| Complicación del quiste  | No <input type="checkbox"/>     | Si <input type="checkbox"/> →        | Ruptura <input type="checkbox"/> Infección <input type="checkbox"/> |
| Variable desenlace (sub-estudio 1): Eficacia del tratamiento a los 90 días |                                 |                                      |   |
| Disminución en el 25% del tamaño del quiste                                | No <input type="checkbox"/>     | Si <input type="checkbox"/>          |   |
| Separación de la membrana del quiste                                       | No <input type="checkbox"/>     | Si <input type="checkbox"/>          |   |
| Calcificación del quiste   | No <input type="checkbox"/>     | Si <input type="checkbox"/>          |   |

### **10.3. Anexo 3: Consentimiento informado, asentimiento informado y/u hoja informativa**

#### **Anexo 10.3.1: Consentimiento informado (Para mayores de edad)**

##### **Consentimiento para la Participación en el Estudio: Validación de la medición de albendazol sulfóxido y sus niveles plasmáticos, actividad enzimática hepática y características estructurales de quistes en pacientes con hidatidosis hepática durante tratamiento oral con albendazol**

Este documento de consentimiento informado estará disponible en español. El documento de consentimiento tendrá que ser leído en voz alta a todos los participantes. Se les pedirá a los participantes que proporcionen una firma o la impresión dactilar de su dedo índice para documentar el consentimiento informado. El documento de consentimiento informado solicitará permiso para: (1) recolección y análisis de muestras de sangre, (2) almacenamiento y conservación de muestras biológicas (3) aplicación de una ficha epidemiológica y (4) uso de muestras biológicas para uso en investigaciones futuras relacionadas a la problemática de hidatidosis.

---

Buenos días. Mi nombre es Jaime Alonso Rosales Rimache, estudiante doctoral de la Universidad Peruana Cayetano Heredia, y estoy realizando una investigación con el objetivo de determinar los niveles plasmáticos de albendazol sulfóxido, actividad enzimática hepática y los cambios en la estructura del quiste hidatídico en pacientes con hidatidosis hepática durante el periodo de tratamiento. Quiero hacerle algunas preguntas y para luego si usted lo desea, obtener una muestra de sangre. La muestra de sangre servirá para monitorear el tratamiento que se le administrará por la presencia de hidatidosis, de tal forma que sea eficaz y no le genere efectos adversos a su salud. Los resultados de este estudio nos ayudarán a mejorar los esquemas de tratamiento farmacológico en pacientes con hidatidosis.

La participación en el estudio depende de su consentimiento. En el caso que tenga alguna duda, nosotros le vamos a responder a todas para que usted decida si participa o no. Si usted decide participar en el estudio, es necesario que firme este documento previa explicación de los beneficios y riesgos de la investigación y de cada aspecto que se detalla en el consentimiento o asentimiento informado.

Después de que usted firme este consentimiento, empezaremos con el estudio. Le haremos algunas preguntas con respecto a usted y su salud, si usted no quiere responder a alguna pregunta simplemente lo dice y pasamos a la siguiente pregunta, así mismo si usted decide detener el estudio lo puede hacer cuando usted lo quiera. También se le realizará una ecografía abdominal una vez que haya finalizado el tratamiento farmacológico.

Para la obtención de la muestra de sangre, esta se realizará por una punción en el antebrazo y se extraerá sangre venosa en 2 tubos de 3 mL cada uno (equivalente a 6 cucharaditas aproximadamente). Si usted está de acuerdo, nosotros congelaremos parte de su muestra de sangre de forma anónima, para que sea utilizada posteriormente si se requiere de alguna repetición en los análisis o para ensayos en toxicología molecular (análisis de enantiaómeros de albendazol sulfóxido y polimorfismos genéticos de cyp3A4 y cyp2J2). Las muestras serán guardadas bajo condiciones adecuadas por un tiempo no mayor de 10 años.

Como participante de este estudio, Usted podrá conocer su estado de salud en relación con la hidatidosis. Esta información es vital para que las autoridades de salud y representantes de su comunidad puedan tomar medidas de acción como actividades de diagnóstico y tamizaje, tratamiento farmacológico, educación en salud a su comunidad para que sepan cómo prevenir la enfermedad.

Todo lo que usted nos informe y todos los resultados de los análisis serán mantenidos en secreto tanto como lo permita la ley. La privacidad y confidencialidad de sus datos y resultados serán protegidas, porque toda la información obtenida a partir de su muestra y fichas serán codificadas y sólo de acceso al investigador principal del estudio. Los resultados de los análisis y su interpretación le serán entregados de manera personal por un médico que le explicará el estado de salud en que se encuentra. Por otra parte, la información que se obtenga será publicada a través de diferentes medios escritos, pero manteniendo la confidencialidad de su identidad.

La participación en este estudio no implica que usted haga algún pago por los análisis a realizar, son completamente gratuitos.

Si tiene preguntas sobre los aspectos éticos del estudio, o cree que ha sido tratado injustamente puede contactar a la Dra. Frine Samalvides Cuba, presidenta del Comité Institucional de Ética en Investigación de la Universidad Peruana Cayetano Heredia al teléfono 01-3190000 anexo 201355 o al correo electrónico: duict.cieh@oficinas-upch.pe, también puede ponerse en contacto con el investigador principal, Mg. Jaime Rosales Rimache al teléfono [REDACTED]

Finalmente, si Usted está de acuerdo en participar en este estudio, por favor marque con una "X" lo siguiente:

- Yo doy consentimiento para responder una ficha epidemiológica ( ) Si  
( ) No
- Yo doy consentimiento para que se me realice una ecografía abdominal ( ) Si  
( ) No
- Yo doy consentimiento para que se obtenga una muestra de mi sangre ( ) Si  
( ) No
- Yo doy consentimiento para que se almacene mi sangre ( ) Si  
( ) No
- Yo doy consentimiento para que se utilice mi muestra en futuras investigaciones ( ) Si  
( ) No

#### **CERTIFICADO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO**

He leído la información en este documento, he podido hacer las preguntas que he creído convenientes, las cuales fueron resueltas de una manera sencilla y amable. Doy mi consentimiento voluntario y firmado para participar en este estudio y entiendo que tengo el derecho de retirarme del estudio en cualquier momento de su duración sin que esta decisión afecte de ninguna manera mi atención médica.

Nombre \_\_\_\_\_ y \_\_\_\_\_ firma \_\_\_\_\_ del \_\_\_\_\_ participante:

Fecha y Hora: \_\_\_\_\_

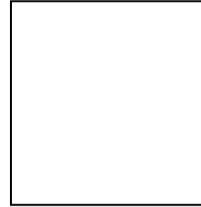
#### ***En caso de personas no letrados***

La persona que firma este Consentimiento Informado declara que ha escuchado la lectura de este documento de manera completa y entendible con respecto a todos los puntos que

refiere la investigación al posible participante. Así mismo, el participante ha tenido la oportunidad de hacer preguntas que han sido resueltas de manera satisfactoria, por lo tanto confirmo que el participante ha dado su consentimiento de manera voluntaria para participar en la investigación y en señal de conformidad, ha colocado su huella digital en este documento.

Nombre y huella del participante: \_\_\_\_\_

Fecha y Hora: \_\_\_\_\_



Huella del pulgar del participante

Nombre y firma del testigo quien certifica la lectura: \_\_\_\_\_

Fecha \_\_\_\_\_ y \_\_\_\_\_ Hora: \_\_\_\_\_

Nombre y firma del investigador principal: \_\_\_\_\_

Fecha \_\_\_\_\_ y \_\_\_\_\_ Hora: \_\_\_\_\_

|                          |  |
|--------------------------|--|
| CÓDIGO DE INVESTIGACIÓN: |  |
|--------------------------|--|

## **Anexo 10.3.2: Consentimiento informado (Para padres y/o tutores de menores de edad)**

### **Consentimiento para la Participación en el Estudio: Validación de la medición de albendazol sulfóxido y sus niveles plasmáticos, actividad enzimática hepática y características estructurales de quistes en pacientes con hidatidosis hepática durante tratamiento oral con albendazol**

Este documento de consentimiento informado estará disponible en español. El documento de consentimiento tendrá que ser leído en voz alta a todos los participantes. Se les pedirá a los padres de los participantes menores de edad que proporcionen una firma o la impresión dactilar de su dedo índice para documentar el consentimiento informado. El documento de consentimiento informado solicitará permiso para: (1) recolección y análisis de muestras de sangre, (2) almacenamiento y conservación de muestras biológicas (3) aplicación de una ficha epidemiológica y (4) uso de muestras biológicas para uso en investigaciones futuras relacionadas a la problemática de hidatidosis.

---

Buenos días. Mi nombre es Jaime Alonso Rosales Rimache, estudiante doctoral de la Universidad Peruana Cayetano Heredia, y estoy realizando una investigación con el objetivo de determinar los niveles plasmáticos de albendazol sulfóxido, la actividad enzimática hepática y los cambios en la estructura del quiste hidatídico durante el periodo de tratamiento. Quiero hacerle algunas preguntas y para luego si usted lo desea, autorizar se obtenga una muestra de sangre de su niño/a. La muestra de sangre servirá para monitorear el tratamiento que se le administrará por la presencia de hidatidosis, de tal forma que sea eficaz y no le genere efectos adversos a la salud de su niño/a. Los resultados de este estudio nos ayudarán a mejorar los esquemas de tratamiento farmacológico en pacientes con hidatidosis.

La participación de su niño/a en el estudio depende de su consentimiento. En el caso que tenga alguna duda, nosotros le vamos a responder a todas para que usted decida si su niño/a participa o no. Si usted decide que su niño/a participe en el estudio, es necesario que firme este documento previa explicación de los beneficios y riesgos de la investigación y de cada aspecto que se detalla en el consentimiento informado.

Después de que usted firme este consentimiento, empezaremos con el estudio. Le haremos algunas preguntas con respecto a su niño/a y su salud, si usted no quiere responder a alguna pregunta simplemente lo dice y pasamos a la siguiente pregunta, así mismo si usted decide que su niño/a ya no participe del estudio lo puede hacer cuando usted lo quiera. También se le realizará una ecografía abdominal una vez que haya finalizado el tratamiento farmacológico.

Para la obtención de la muestra de sangre, esta se realizará por una punción en el antebrazo y se extraerá sangre venosa en 2 tubos de 3 mL cada una (equivalente a 6 cucharaditas aproximadamente). Si usted está de acuerdo, nosotros congelaremos parte de la muestra de sangre de su niño/a de forma anónima, para que sea utilizada posteriormente si se requiere de alguna repetición en los análisis o para ensayos en toxicología molecular (análisis de enantiaómeros de albendazol sulfóxido y polimorfismos genéticos de cyp3A4 y cyp2J2). Las muestras de su niño/a serán guardadas bajo condiciones adecuadas por un tiempo no mayor de 10 años.

Como su niño/a es participante de este estudio, Usted podrá conocer su estado de salud en relación con la hidatidosis. Esta información es vital para que las autoridades de salud y

representantes de su comunidad puedan tomar medidas de acción como actividades de diagnóstico y tamizaje, tratamiento farmacológico, educación en salud a su comunidad para que sepan cómo prevenir la enfermedad.

Todo lo que usted nos informe y todos los resultados de los análisis de su niño/a serán mantenidos en secreto tanto como lo permita la ley. La privacidad y confidencialidad de los datos y resultados de su niño/a serán protegidas, porque toda la información obtenida a partir de las muestras de su niño/a y fichas llenadas serán codificadas y sólo de acceso al investigador principal del estudio. Los resultados de los análisis y su interpretación le serán entregados de manera personal por un médico que le explicará el estado de salud en que se encuentra su niño/a. Por otra parte, la información que se obtenga será publicada a través de diferentes medios escritos, pero manteniendo la confidencialidad de la identidad de su niño/a.

La participación de su niño/a en este estudio no implica que usted haga algún pago por los análisis a realizar, son completamente gratuitos.

Si tiene preguntas sobre los aspectos éticos del estudio, o cree que usted o su niño/a han sido tratados injustamente, puede contactar a la Dra. Frine Samalvides Cuba, presidenta del Comité Institucional de Ética en Investigación de la Universidad Peruana Cayetano Heredia al teléfono 01-3190000 anexo 201355 o al correo electrónico: duict.cieh@oficinas-upch.pe, también puede ponerse en contacto con el investigador principal, Mg. Jaime Rosales Rimache al teléfono [REDACTED]

Finalmente, si Usted está de acuerdo en que su niño/a participe en este estudio, por favor marque con una "X" lo siguiente:

Yo doy consentimiento para responder una ficha epidemiológica

Si  No

Yo doy consentimiento para que se me realice una ecografía abdominal

Si  No

Yo doy consentimiento para que se obtenga una muestra de sangre de mi niño/a

Si  No

Yo doy consentimiento para que se almacene la sangre de mi niño/a

Si  No

Yo doy consentimiento para que se utilice la muestra de mi niño/a en futuras investigaciones  Si  No

### **CERTIFICADO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO**

He leído la información en este documento, he podido hacer las preguntas que he creído convenientes, las cuales fueron resueltas de una manera sencilla y amable. Doy mi consentimiento voluntario y firmado para que mi niño/a participe en este estudio y entiendo que tengo el derecho de que mi niño/a se retire del estudio en cualquier momento de su duración sin que esta decisión afecte de ninguna manera la atención médica de mi niño/a.

Nombre y firma del padre o tutor del participante:

\_\_\_\_\_

Fecha y Hora: \_\_\_\_\_

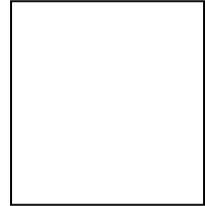
### ***En caso de personas no Letrados***

La persona que firma este Consentimiento Informado declara que ha escuchado la lectura de este documento de manera completa y entendible con respecto a todos los puntos que

refiere la investigación al posible participante. Así mismo, el padre o tutor del participante ha tenido la oportunidad de hacer preguntas que han sido resueltas de manera satisfactoria, por lo tanto, confirmo que el padre, madre o tutor/a del participante ha dado su consentimiento de manera voluntaria para participar en la investigación y en señal de conformidad, ha colocado su huella digital en este documento.

Nombre y huella del niño/a: \_\_\_\_\_

Fecha y Hora: \_\_\_\_\_



Huella del pulgar del niño/a

Nombre y firma del testigo quien certifica la lectura: \_\_\_\_\_

Fecha \_\_\_\_\_ y \_\_\_\_\_ Hora: \_\_\_\_\_

Nombre y firma del investigador principal: \_\_\_\_\_

Fecha \_\_\_\_\_ y \_\_\_\_\_ Hora: \_\_\_\_\_

|                          |  |
|--------------------------|--|
| CÓDIGO DE INVESTIGACIÓN: |  |
|--------------------------|--|

### Anexo 10.3.3: Asentimiento informado (Para niños de 7 a 12 años)

#### Asentimiento para la Participación en el Estudio: Validación de la medición de albendazol sulfóxido y sus niveles plasmáticos, actividad enzimática hepática y características estructurales de quistes en pacientes con hidatidosis hepática durante tratamiento oral con albendazol

Hola, mi nombre es Jaime Alonso Rosales Rimache, estudiante doctoral de la Universidad Peruana Cayetano Heredia y vengo trabajando para saber si la medición del medicamento utilizado para el tratamiento de tu enfermedad es válido; así como los niveles del medicamento, enzimas del hígado y los cambios en la estructura del quiste. Te invitamos a ser parte de este estudio porque tal vez puedas presentar algún efecto no deseado durante el tratamiento y para eso necesitamos obtener una pequeña muestra de sangre; de esta manera poder tomar medidas para que te sientas mejor y mejore tu salud.

Queremos que participes en nuestro estudio, y si lo quieres hacer entonces, te invitaremos a que nuestro personal te tome una muestra de sangre en 2 tubos pequeños (equivalente a 6 cucharaditas aproximadamente), y se te practique una prueba de imágenes en tu abdomen cuando finalice el tratamiento de tu enfermedad.

Si no quieres participar en este estudio, no te obligamos a hacerlo. Si no participas, eso no cambiará en nada las cosas en tu casa o colegio.

Tus padres y/o apoderados saben de este estudio, y están de acuerdo en que tú participes, pero no pueden obligarte a participar si es que tú no quieres. Ellos estarán contigo en todo momento.

Si deseas hablar con alguien acerca de este estudio podrás llamar a Jaime Rosales Rimache al teléfono celular [REDACTED]

Si deseas hablar acerca del estudio porque crees que se te ha tratado injustamente o mal o porque se te ha hecho algún daño por participar en el estudio por favor comunicarte con la Dra. Frine Samalvides Cuba, presidenta del Comité Institucional de Ética en Investigación de la Universidad Peruana Cayetano Heredia al teléfono 01-3190000 anexo 201355 o al correo electrónico: [duict.cieh@oficinas-upch.pe](mailto:duict.cieh@oficinas-upch.pe)

Tienes alguna pregunta:  Sí  No  
Quieres participar en este estudio:  Sí  No

Yo doy mi consentimiento para que se extraiga una muestra de mi sangre y además sea almacenada para realizar algún análisis posterior:  Sí  
 No

\_\_\_\_\_  
Mi nombre es (nombre del participante)

Fecha: \_\_\_\_\_



Huella del pulgar del  
participante

---

Nombre y Apellido del Entrevistador Firma

Fecha: \_\_\_\_\_

Nombre y firma del investigador principal: \_\_\_\_\_

Fecha y Hora:

---

|                          |  |
|--------------------------|--|
| CÓDIGO DE INVESTIGACIÓN: |  |
|--------------------------|--|

**Anexo 10.3.4: Asentimiento informado (Para niños mayores a 12 hasta 17 años)**

**Asentimiento para la Participación en el Estudio: Validación de la medición de albendazol sulfóxido y sus niveles plasmáticos, actividad enzimática hepática y características estructurales de quistes en pacientes con hidatidosis hepática durante tratamiento oral con albendazol**

Hola, mi nombre es Jaime Alonso Rosales Rimache, estudiante doctoral de la Universidad Peruana Cayetano Heredia y vengo trabajando para saber si la medición del medicamento utilizado para el tratamiento de tu enfermedad es válido; así como los niveles del medicamento, enzimas del hígado y los cambios en la estructura del quiste. Te invitamos a ser parte de este estudio porque tal vez puedas presentar algún efecto no deseado durante el tratamiento y para eso necesitamos obtener una pequeña muestra de sangre; de esta manera poder tomar medidas para que te sientas mejor y mejore tu salud.

Queremos que participes en nuestro estudio, y si lo quieres hacer entonces, te invitaremos a que nuestro personal te tome una muestra de sangre en 2 tubos pequeños (equivalente a 6 cucharaditas aproximadamente), y se te practique una prueba de imágenes en tu abdomen cuando finalice el tratamiento de tu enfermedad.

Si no quieres participar en este estudio, no te obligamos a hacerlo. Si no participas, eso no cambiará en nada las cosas en tu casa o colegio.

Tus padres y/o apoderados saben de este estudio, y están de acuerdo en que tú participes, pero no pueden obligarte a participar si es que tú no quieres. Ellos estarán contigo en todo momento.

Si deseas hablar con alguien acerca de este estudio podrás llamar a Jaime Rosales Rimache al teléfono celular [REDACTED]

Si deseas hablar acerca del estudio porque crees que se te ha tratado injustamente o mal o porque se te ha hecho algún daño por participar en el estudio por favor comunicarte con la Dra. Frine Samalvides Cuba, presidenta del Comité Institucional de Ética en Investigación de la Universidad Peruana Cayetano Heredia al teléfono 01-3190000 anexo 201355 o al correo electrónico: duict.cieh@oficinas-upch.pe

Tienes alguna pregunta:  Sí  No  
Quieres participar en este estudio:  Sí  No

Yo doy mi consentimiento para que se extraiga una muestra de mi sangre y además sea almacenada para realizar algún análisis posterior:  Sí  
 No

\_\_\_\_\_  
Mi nombre es (nombre del participante)

Fecha: \_\_\_\_\_



Huella del pulgar del participante

---

Nombre y Apellido del Entrevistador Firma

Fecha: \_\_\_\_\_

Nombre y firma del investigador principal: \_\_\_\_\_

Fecha y Hora:

---

|                          |  |
|--------------------------|--|
| CÓDIGO DE INVESTIGACIÓN: |  |
|--------------------------|--|