



UNIVERSIDAD PERUANA  
**CAYETANO HEREDIA**  
FACULTAD DE MEDICINA

# TRABAJO DE INVESTIGACIÓN PARA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO CIRUJANO

## **TÍTULO:**

Respuesta inflamatoria cerebral post-tratamiento con Oxfendazol, Praziquantel y  
Niclosamida en cerdos naturalmente infectados con Neurocisticercosis

*Inflammatory brain response after anti helminthic treatment with Oxfendazole,  
Praziquantel and Niclosamide in naturally infected pigs with Neurocisticercosis*

## **ALUMNOS:**

Natalí Jazmin De la Cerna Luna

Miguel Gutierrez Díaz

Percy Fernando Nateros Baldeón

## **ASESORES:**

Héctor Hugo García Lescano, MD, PhD

Javier Arturo Bustos Palomino, MD, MSc, MPH

Lima, Perú

2019



## **JURADOS**

- Coordinador: Dr. Pedro Esteban Legua Leiva
- Profesor Calificador: Dr. Alejandro Leonardo Escalaya Advíncula
- Profesor Calificador: Lic. Adriana Paredes Arredondo

## **ASESORES DE TESIS**

- Dr. Héctor Hugo García Lescano
- Dr. Javier Arturo Bustos Palomino

## **DEDICATORIA**

El presente trabajo va dedicado a nuestras familias, por su paciencia, aliento y apoyo constante durante la elaboración de este trabajo. Así mismo a los maestros que enriquecieron nuestro conocimiento a lo largo de la carrera.

## **AGRADECIMIENTOS**

Por el tiempo, dedicación, enseñanzas y orientación recibida de nuestros asesores, grandes maestros investigadores: Héctor H. García, MD, PhD y Javier A. Bustos, MD, MSc, MPH, miembros del Grupo de Trabajo de Cisticercosis en el Perú (Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas y Centro de Salud Global Tumbes); y colaboradores: Carla Cangalaya, MSc (Laboratorio de Inmunopatología en Neurocisticercosis, Facultad de Ciencias y Filosofía, Universidad Peruana Cayetano Heredia), Gianfranco Arroyo, DVM (Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos), Laura Baquedano, MSc, DVM (Laboratorio de Diagnóstico Parasitológico, Universidad Peruana Cayetano Heredia) y Jaime Cáceres, MD (Jefe del Servicio Anatomía Patológica, Hospital Cayetano Heredia)

A Dios, por guiarnos a lo largo de nuestra existencia, ser el apoyo y fortaleza en aquellos momentos de dificultad y de debilidad, por la bendición de la vida. Y a nuestra familia, por su amor incondicional, por ser los principales promotores de nuestros sueños, confiar y creer en nuestras expectativas, sin ellos no tendríamos la fuerza y energía que nos anima a crecer como personas y como profesionales.

## **FUENTES DE FINANCIAMIENTO**

Esta investigación fue apoyada por Fogarty International Center, NIH (Training grant D43 TW001140, PI: Dr. Hector Garcia) y NIAID-NIH grant 1R01AI116456-01 (PI: Dr. Javier Bustos).

## **DECLARACIÓN DEL AUTOR**

La presente Tesis es un Trabajo de Investigación de Grado original y no es el resultado de un trabajo en colaboración con otros, excepto cuando así está citado explícitamente en el texto. No ha sido ni enviado ni sometido a evaluación para la obtención de otro grado o diploma que no sea el presente. No se declara conflicto de intereses

---

Firma del egresado  
DNI

## TABLA DE CONTENIDOS

RESUMEN	
ABSTRACT	
INTRODUCCIÓN .....	1
MATERIAL Y MÉTODOS.....	5
Diseño del estudio y animales .....	5
Tratamiento parasitológico.....	5
Procedimiento Post Tratamiento.....	5
Tinción Azul de Evans.....	6
Evaluación macroscópica .....	6
Evaluación histológica.....	6
Análisis Estadístico .....	8
Consideraciones Éticas.....	8
RESULTADOS.....	9
Distribución de quistes por animal y por grupo de tratamiento .....	9
Evaluación de la tinción de Azul de Evans (AE) según grupo de tratamiento .....	9
Evaluación del Score de Inflamación según grupo de tratamiento .....	9
Evaluación del Score de Daño según grupo de tratamiento.....	10
DISCUSIÓN .....	11
CONCLUSIONES .....	16
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	17
TABLAS, GRÁFICOS Y FIGURAS	

## RESUMEN

**Antecedentes:** La Neurocisticercosis es una enfermedad potencialmente erradicable, una medida que ha demostrado ser efectiva en detener la transmisión es el tratamiento de la Teniasis intestinal. El tratamiento estándar es Niclosamida 2g dosis única, sin embargo, su eficacia no es la ideal. En el parénquima cerebral el parásito se encuentra en un equilibrio inmune con el huésped, el cual puede ser alterado por la acción del fármaco antiparasitario generando síntomas como cefalea y crisis epiléptica. Se necesita un fármaco con mayor eficacia para tratar la infección que altere mínimamente este equilibrio.

**Objetivo:** Comparar la respuesta inflamatoria cerebral posterior al tratamiento antiparasitario con Niclosamida 2g y 4g, Oxfendazol 3mg/kg y 6mg/kg, y Praziquantel.

**Material y Métodos:** Cuarenta cerdos (n=40) naturalmente infectados con neurocisticercosis fueron asignados aleatoriamente a cinco grupos de tratamiento NCS2, NCS4, OFZ3, OFZ6 y PZQ. Se determinó la alteración de barrera Hematoencefálica con la tinción de azul de Evans la cual se expresó en grados del 0 al 3. La inflamación y el daño a la cápsula del quiste fueron cuantificados con el Score de Inflamación y el Score de Daño.

**Resultados:** El grado 0 de tinción de AE estuvo asociado a OFZ6 y NCS2, mientras que el grado 3 a los grupos tratados con OFZ, esto concuerda con que estos últimos tuvieron un puntaje más alto en tanto en el Score compuesto de inflamación como en el de daño ( $p<0.05$ ).



**Conclusiones:** El uso de Oxfendazol para teniasis intestinal debería prescribirse con cautela.

**Palabras clave:** Neurocisticercosis, Praziquantel, Niclosamida, Oxfendazol, Teniasis

## **ABSTRACT**

**Background:** Neurocysticercosis has been recognized as a potentially eradicable disease. Mass treatment of human taeniasis has shown a critical role stopping disease transmission. The standard treatment for taeniasis is Niclosamide 2g however its efficacy is far from ideal. In the brain, there is an immune equilibrium between the host and the parasite, this equilibrium could be altered after receiving anthelmintic treatment, consequently symptoms such as headache and seizures may occur. It is necessary to develop a more effective drug that alters minimally the host-parasite relationship.

**Objective:** This study compares the brain inflammatory reaction after anthelmintic treatment with Niclosamide 2g y 4g, Oxfendazole 3mg/kg y 6mg/kg and Praziquantel.

**Methods:** Forty (n=40) naturally infected pigs with neurocysticercosis were assigned to five groups NCS2, NCS4, OFZ3, OFZ6 and PZQ. Blood-brain barrier disruption was determined using Evans blue stain and graded from 0 to 3. Cyst's capsule inflammation and damage were quantified with Inflammation Score (IS) and Damage Score (DS), respectively.

**Results:** EB Grade 0 was associated with OXF6 and NCS2, otherwise, EB grade 3 was associated with OFZ groups consistently with the high scores obtained in both scores, inflammatory and damage. ( $p < 0.05$ )

**Conclusions:** Oxfendazol should be used with caution in human taeniasis.

**Key words:** Neurocysticercosis, Praziquantel, Niclosamide, Oxfendazole, Taeniasis.

## INTRODUCCIÓN

La *Taenia solium*, también conocida como tenia del cerdo, es un cestodo perteneciente al filo de los platelmintos que presenta un ciclo de vida complejo con dos hospederos. El ser humano es el único hospedero definitivo ya que aloja a la *Tenia* adulta en su tracto gastrointestinal luego de la ingestión de carne mal cocida de cerdo, generando una infección llamada teniasis intestinal; mientras que, tanto los humanos como los cerdos, pueden ser hospederos intermedios y albergar la larva o cisticerco en distintos órganos luego de la ingestión de agua o alimento contaminado con huevos de *T. solium*, infección llamada cisticercosis(1). Luego de la ingestión de carne mal cocida infectada con cisticercos, la forma adulta del parásito (*Tenia*) se adhiere al duodeno donde puede permanecer por años y no generar síntomas. La tenia se compone de un escólex, un cuello y un cuerpo formado por cientos de segmentos conocidos como proglótides las cuales son hermafroditas y están en maduración continua para formar proglótides grávidas repletas de huevos infectantes, los que se liberan de forma intermitente con las heces contaminando manos, suelo, agua y alimentos en lugares con poco saneamiento(2). Los humanos y los cerdos se infectan por la ingestión de huevos de *T. solium* por la vía fecal-oral, es frecuente la autoinfección y la infección en miembros de una misma familia en lugares hacinados. Las oncosferas invasivas o embriones contenidos en los huevos se liberan por la acción de la bilis y enzimas intestinales, cruzan activamente la pared del intestino para alcanzar el torrente sanguíneo para terminar enquistándose como cisticercos en el músculo, cerebro u otro tejido del huésped(3) donde puede permanecer viable por años. Una vez alojado en el tejido

cerebral, el cisticerco utiliza numerosos mecanismos de evasión inmune como bloqueo del sistema de complemento, degradación de inmunoglobulinas del huésped, secreción de citoquinas que alteran la respuesta inmune celular, entre otros(4) lo que le permite permanecer en el parénquima cerebral sin generar síntomas. Una vez reconocido por el huésped, tanto humano como porcino, este despliega una respuesta mixta Th1-Th2(5). Se ha visto que la respuesta Th2 junto con la Th17, la activación alterna de macrófagos y de Linfocitos T reguladores(6), estas dos últimas promovidas por el parásito(7), generan una respuesta inmunomoduladora regulando la cascada inflamatoria (Th1) generada por el reconocimiento natural del quiste(8) o ,principalmente, por la acción de fármacos antiparasitarios(9) que, de no ser controlada, sería perjudicial para el huésped siendo de gran importancia en el sistema nervioso central. Precisamente esta reacción inflamatoria perilesional es la que genera las crisis epilépticas y otros síntomas característicos de la infección. Las manifestaciones clínicas de neurocisticercosis y la severidad de estas reflejan el número, localización, tamaño y estadio en el que se encuentra el parásito así como la presencia y grado de respuesta inflamatoria del huésped(10)-(9). Se ha visto que la mayoría de pacientes con neurocisticercosis sintomáticos, no presentan evidencia de teniasis intestinal al momento del diagnóstico, esto se explica por el largo periodo preclínico de la infección y el corto tiempo de vida del parásito adulto (3-5años). Sin embargo, se sabe que los individuos portadores de *T. solium* intestinal son los que infectan a las personas que viven cerca de ellos, esto se corroboró a través de un estudio que evidencia un gradiente de prevalencia de seropositivos para una antígeno específico de *T. solium* que variaba entre 21 a 64% mientras más cerca se viva del portador(11). Sabiendo que la neurocisticercosis es una

infección potencialmente eliminable, la detección y, sobretodo, el tratamiento antiparasitario de los portadores intestinales del cestodo adquiere gran importancia para interrumpir la transmisión del parásito entre humano-humano y humano-cerdo, siendo la única fuente de infección. Esta medida ya demostró ser efectiva, al menos en el corto plazo (2 años), en un estudio previo(12). En cuanto al tratamiento de la teniasis intestinal, es importante que se utilice un fármaco que altere mínimamente el equilibrio inmune huésped-parásito en el parénquima cerebral, ya que se evita el riesgo de desencadenar una reacción inflamatoria perjudicial para el hospedero en caso presente quistes viables asintomáticos en el cerebro(13). Los antiparasitarios utilizados para la teniasis intestinal son Niclosamida (2g, dosis única), Praziquantel (5-10mg/kg, dosis única) y Albendazol (3x400mg, por tres días). Tanto Albendazol como Praziquantel cruzan la Barrera Hemato-Encefálica (BHE) con facilidad por lo que hay riesgo de activar una neurocisticercosis latente oculta, que, aunque esto ocurre con una frecuencia muy baja, el que un paciente presente un episodio de crisis convulsiva, sería perjudicial para la administración en masa de tratamiento antiparasitario a personas sanas en una determinada población. La dosis triple de Albendazol es capaz de curar el 100% de casos de teniasis, mientras que Praziquantel y Niclosamida, por su parte, el 95 y 85% de casos, respectivamente(14). Se considera a Niclosamida como el fármaco de elección(15), ya que no se absorbe en el lumen intestinal por lo que no tiene efectos en el cerebro(16). El Oxfendazol es un benzimidazol utilizado en medicina veterinaria para controlar infecciones por cestodos. En parasitismo gastrointestinal en perros se recomienda una dosis de 5 mg/kg(17), dosis menor que la usada en cisticercosis porcina, la cual es 30mg/kg la cual tiene más eficacia cisticida en quistes de músculo,

lengua y corazón que en cerebro donde su eficacia es variable pero menor a la de Albendazol(18), esto probablemente por la dificultad para cruzar la BHE que presenta el compuesto o por la capa extra que presenta el quiste en el parénquima cerebral lo que dificultaría la acción del sistema inmune(19). Por ello, una dosis baja de Oxfendazol podría ser un tratamiento efectivo para la teniasis sin causar síntomas neurológicos. Con el fin de buscar un tratamiento más efectivo para teniasis intestinal en humanos que no involucre efectos adversos neurológicos, el objetivo de este estudio es comparar el grado de inflamación cerebral producido posterior al tratamiento antiparasitario con Oxfendazol, Praziquantel y Niclosamida en cerdos naturalmente infectados con cisticercosis.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

### Diseño del estudio y animales

Este fue un estudio pre clínico controlado. Se evaluó la reacción inflamatoria en el cerebro de cerdos naturalmente infectados con el cisticerco de *Taenia solium* luego recibir tratamiento antiparasitario. Se utilizó un total de cuarenta cerdos, los cuales fueron distribuidos aleatoriamente en cinco grupos de ocho cerdos cada uno para recibir diferentes esquemas de tratamiento antiparasitario con praziquantel (PZQ), Oxfendazol (OFZ) y Niclosamida (NCS). Los cerdos se sacrificaron 5 días después del tratamiento para evaluar el grado de inflamación y comparar los resultados entre los grupos.

### Tratamiento parasitológico

Los cinco grupos de cerdos (N=40) que recibieron tratamiento antiparasitario fueron: 1) NCS2 (2g, dosis única) grupo control; 2) NCS4 (4g, dosis única); 3) PZQ (10mg/kg, dosis única); 4) OFZ3 (3mg/kg, dosis única) y; 5) OFZ6 (6mg/kg, dosis única). Estos medicamentos fueron administrados por vía oral. Los cerdos fueron sacrificados en el día 5 post tratamiento. El grupo NCS2 fue tratado con el tratamiento estándar y usado como control.

### Procedimiento Post Tratamiento

Antes de ser eutanasiados, los animales fueron anestesiados con una combinación intramuscular de Ketamina (Ket-A-10® 20 mg/kg, Agrovvet Market SA, Perú) y Xilacina (Dormi-Xyl® 2mg/kg, Agrovvet Market SA, Perú) proporcionando una anestesia general. Una vez anestesiados se realizó el procedimiento del colorante vital Azul de Evans (AE). Posteriormente, para la eutanasia, se utilizó una sobredosis de

pentobarbital (Halatal®, Agrovvet Market SA, Perú, 120 mg/Kg, vía IM). Los animales fueron eutanasiados de acuerdo a procedimientos establecidos por la Asociación Americana de Médicos Veterinarios para minimizar estrés y dolor (20).

#### Tinción Azul de Evans

Luego de la anestesia, se administró una solución de Azul de Evans (AE) al 2% (80mg/kg, Sigma–Aldrich, St. Louis, MO) en solución salina fisiológica (NaCl 0.85%, Laboratorios Baxter, Colombia, Baxter del Perú) a razón de 80 mg/kg a través de la arteria carótida común. El colorante actuó por dos horas, durante las cuales el animal se mantuvo anestesiado con pentobarbital (Halatal®, Agrovvet Market SA, Perú, 25 mg/kg cada 30 min). Luego, se procedió a infundir solución salina fisiológica (NaCl 0.85%) mantenida a 4°C, a través de la arteria regulando el flujo con una bomba peristáltica. Inmediatamente se procedió a remover el cerebro en la necropsia.

#### Evaluación macroscópica

El cerebro se extrajo completamente para luego ser seccionado en cortes coronales de 1cm para la identificación de los quistes. Se examinó la presencia y la disposición del AE alrededor de los quistes ya que la extravasación del colorante en alrededor del cisticerco (cápsula) es una medida de la presencia y el grado de alteración de la BHE (21). Las cápsulas de los quistes se calificaron cualitativamente según la distribución del colorante. Los grados de tinción de AE fueron 0: 0% de azul; 1: hasta el 50% de la cápsula era azul; 2: más del 50% de la cápsula era azul; y, 3: 100% de la cápsula era azul. Posteriormente el cerebro se fijó con formalina para el análisis histopatológico.

#### Evaluación histológica



Las muestras fueron embebidas en parafina y cortadas en secciones coronales de 4 µm de grosor. Luego se realizó la tinción de hematoxilina y eosina (HE) y la tinción de Tricrómica de Masson (MT) usando los procedimientos estándar y observados en un microscopio de luz convencional (Primo Start, Zeiss, Alemania) y una cámara (AxioCam ICc1, Zeiss, Alemania) usando el software AxioVision v4.6 (Zeiss, Alemania). La evaluación semicuantitativa de la respuesta inflamatoria sólo se realizó en los quistes con cápsula completa tanto para el score de inflamación (SI) como para el score del daño del quiste (SD) puesto que requieren la medida de la circunferencia. La escala que se utilizó para evaluar las etapas de la inflamación se basó en la clasificación descrita por Álvarez et al (20) donde SI1 representa un quiste rodeado por una capa delgada de colágeno con escasas células inmunes, SI2 es una gruesa capa de colágeno con más células inmunes, SI3 es una reacción granulomatosa con abundantes células inmunes en capas y el SI4 presenta células gigantes multinucleadas alrededor del quiste dañado. El SD evalúa el daño en la pared del quiste y lo clasifica en SD0-SD4 según la descripción de Londoño et al(21). Donde SD0 indica pared del quiste sin alteración discernible; SD1, alteración mínima de la pared sin alteración de las capas de colágeno subtegumentarias con estructura conservada del quiste; SD2, alteración moderada de la pared y daño indistinto de la capa subtegumentaria; SD3 es alteración significativa de la pared con disrupción y vacuolización de las capas subtegumentarias y capas de colágeno internas; SD4, alteración severa de la pared del quiste con disrupción o pérdida de la capa subtegumentaria con vacuolización extensa y pérdida de la definición de la región interna del quiste. El SI y el SD se combinaron con el porcentaje de cápsula alrededor de cada quiste con cada etapa de inflamación o daño y

se utilizaron para generar el score de inflamación compuesto (SCI) y el score de daño compuesto (SCD)(22), para cada quiste usando la fórmula:  $SCI = SI_1\% * 1 + SI_2\% * 2 + SI_3\% * 3 + SI_4\% * 4$ , el  $SI_x\%$  se calcula usando la fórmula  $SI_x / (SI_1 + SI_2 + SI_3 + SI_4) * 100\%$ . El SCD se calcula de la misma manera.

### Análisis Estadístico

Respecto a las variables, tanto el score de daño como el de inflamación se tomaron como variables cuantitativas. El grado según la tinción de Azul de Evans se consideró variable cualitativa ordinal y la variable grupo de tratamiento como cualitativa nominal. La distribución de las variables cuantitativas no fue normal por lo que se utilizaron pruebas no paramétricas. Para realizar las asociaciones Grado de tinción de AE vs. Grupo de tratamiento se usó la prueba de chi-cuadrado de independencia ya que las frecuencias esperadas no fueron menores de 5 en ningún caso. Para la asociación Score compuesto de inflamación vs. Grupo de tratamiento y Score compuesto de daño vs. Grupo de tratamiento se utilizó el test de Kruskal-Wallis, posteriormente se realizó un análisis ad hoc para la comparación por pares con la prueba de U de Mann Whitney. Todos los análisis estadísticos se realizaron con un nivel de significancia del 95% utilizando el software estadístico STATA (STATA Corp LP, College Station, TX) 14,0.

### Consideraciones Éticas

Este estudio fue llevado a cabo de acuerdo con el National Institutes of Health/AALC guidelines y fue revisado y aprobado por el Comité Institucional de Ética para el Uso de Animales de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

## **RESULTADOS**

### Distribución de quistes por animal y por grupo de tratamiento

Dos cerdos del grupo tratado con OFZ3 no mostraron quistes en el cerebro por lo que no participaron del análisis del estudio. Se obtuvo 370 quistes cerebrales de 38 cerdos naturalmente infectados. La carga parasitaria por cerebro de cerdo se distribuyó ampliamente, con un rango de 1 a 24 quistes en el grupo de PZQ, de 1 a 34 quistes en NCS2, de 1 a 35 quistes en NCS4, de 1 a 70 quistes en el grupo OFZ3 y, de 1 a 29 quistes en el grupo OFZ6. Los cerdos en el grupo OFZ6 tenían más quistes (n=98) que en los otros grupos OFZ3 (n=86), NCS2 (n=60), NCS4 (n=77), PZQ (n=49). (Tabla 1).

### Evaluación de la tinción de Azul de Evans (AE) según grupo de tratamiento

Todos los quistes (n=370) fueron utilizados para la evaluación de la integridad de la barrera Hemato-encefálica a través de la tinción de Azul de Evans. Se encontró más quistes con cápsulas claras (grado 0) en los grupos de OFZ6 y NCS2, mientras que los quistes grado 2 y 3 (completamente azul) fueron más frecuentes en el grupo de OFZ3. Los quistes con cápsula grado 1 fueron más frecuentes en el grupo de NCS4 (Tabla 2 y Gráfico 1). Se realizó un análisis de correspondencia simple para determinar la asociación entre los grados de tinción de azul de Evans y grupo de tratamiento (Gráfico 2) en el cual se verifica la asociación entre grado 0 con los grupos tratados con OFZ6 y NCS2; grado 1 con NCS4; grado 2 con OFZ3 y PZQ y, por último, un poco alejado, el grado 3 con OFZ3.

### Evaluación del Score de Inflamación según grupo de tratamiento

Para determinar el Score de Inflamación (SI) se utilizó los quistes que mostraban estructuras parasitarias completas (pared del quiste y escólex con cerebro adyacente con respuesta inmune). 251/370 quistes de 31 cerdos cumplían estas características. Se presenta la mediana por grupo de tratamiento del SI% y del Score Compuesto de Inflamación (SCI) (Tabla 3). Se realizó la prueba de Kruskal Wallis la cual determinó diferencias significativas entre las medianas de las distintas categorías del SI% y del SCI de cada grupo de tratamiento. Posteriormente se realizó un análisis ad hoc para determinar entre qué grupos de tratamiento existían diferencias significativas. Al realizar el análisis por pares se obtuvo que el SCI es mayor en el grupo tratado con OFZ3 ( $p < 0.001$ ), seguido de los grupos OFZ6 y PZQ (no existen diferencias significativas entre estos dos tratamientos  $p > 0.05$ ); por último, los grupos NCS2 y NCS4 (no existen diferencias significativas entre estos dos tratamientos  $p > 0.05$ ). (Tabla 5, Gráfico 3).

#### Evaluación del Score de Daño según grupo de tratamiento

Del mismo modo se analizó el Score de Daño (SD). Se compararon el SD% y el Score de compuesto de daño (SCD) según grupo de tratamiento (Tabla 4). La prueba de Kruskal Wallis determinó diferencias significativas entre las medianas de las distintas categorías del SD% y del SCD de cada grupo de tratamiento. Posteriormente se realizó un análisis ad hoc para determinar entre qué grupos de tratamiento existían diferencias significativas. Al realizar el análisis por pares se obtuvo que el SCD es mayor en los grupos OFZ3 y OFZ6 (no existen diferencias significativas entre los dos tratamientos,  $p > 0.05$ ), seguido de los grupos PZQ y NCS2 (no existen diferencias significativas entre los dos tratamientos,  $p > 0.05$ ), por último, el grupo NCS4 (Tabla 6, Gráfico 4).

## DISCUSIÓN

La Teniasis/Cisticercosis se considera una enfermedad potencialmente erradicable, una de las medidas que ha mostrado mayor eficacia para interrumpir la transmisión de este parásito es el tratamiento de la teniasis intestinal en humanos(12). El fármaco a prescribir debe ser seleccionado con cautela ya que este podría activar los síntomas de una Neurocisticercosis latente. La respuesta inflamatoria inducida por el tratamiento varía según la dosis y tipo de antiparasitario. Actualmente el tratamiento estándar de teniasis intestinal es Niclosamida, sin embargo, su eficacia no es la ideal; como alternativa se puede utilizar Praziquantel cuya eficacia es mayor, aunque este fármaco de absorción sistémica puede activar la cascada inflamatoria y generar síntomas de Neurocisticercosis. Por lo mencionado se justifica la búsqueda de un fármaco más eficaz en el tratamiento de esta infección parasitaria que altere mínimamente el equilibrio huésped-parásito en el parénquima cerebral. Oxfendazol es un anti-helmíntico de la familia benzimidazol de amplio uso en cisticercosis porcina con más eficacia en quistes musculares que en cerebrales(18). La aprobación para su uso en humanos está en desarrollo, aunque ya se han hecho estudios pre-clínicos que muestran tolerabilidad y seguridad en voluntarios sanos(24).

Este estudio evaluó y comparó la respuesta inflamatoria cerebral posterior al tratamiento anti-helmíntico con Oxfendazol, Praziquantel y Niclosamida en cerdos naturalmente infectados con cisticercosis. La evaluación de la respuesta inflamatoria se realizó mediante la tinción con azul de Evans a nivel macroscópico y los scores de inflamación y de daño a nivel microscópico. Con la tinción de Evans Blue se evidenció

la disposición y extravasación de dicho tinte alrededor de la cápsula de los quistes como medida de la presencia y grado de alteración de la BHE(8). Se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas entre los cinco grupos de tratamiento antiparasitario, en cuanto al grado de coloración con la tinción E.B ( $p < 0.001$ ). Se observó un escenario de no alteración o una mínima alteración de la BHE en el grupo de cerdos tratados con OFZ6 y NCS2, los cuales se encontraron más asociados al Grado 0 de la tinción con AE, mostrando mayor cantidad de cápsulas claras. Dicho resultado era esperable por nosotros ya que se consideró a NCS2 como el tratamiento antiparasitario control, por ser el fármaco de elección, ya que al no absorberse en el lumen intestinal no causa efectos en el SNC(25), esto también se correlaciona con nuestros resultados al tener también el grupo de NCS2 el menor grado de SCI.. Así mismo, el grupo de NCS4 se encontró asociado a la categoría Grado 1 de tinción con AE, con mayor cantidad de quistes con grado 1 ó 50% de cápsula teñida. La alteración de la BHE y los puntajes de ambos scores en el grupo de NCS2 se toman como inflamación existente previa al tratamiento por las características farmacológicas ya mencionadas. Si bien consideramos que NCS2 es el tratamiento de elección ya que su efecto es solo intraluminal y los eventos adversos son leves y transitorios(25), vemos que al duplicarse la dosis a 4g se ve una mayor alteración de la permeabilidad de la BHE. No obstante, dicho grupo tratado obtuvo el menor SCD, sugiriéndonos un menor daño de pared de quiste, por lo cual no podría afirmarse que este tratamiento genere mayor inflamación que los anteriores mencionados. Esto podría deberse a que cualquier incremento de dosis podría producir mayor alteración a nivel de BHE, tejido superficial, al incrementarse su permeabilidad, sin generar daño a nivel de tejido

profundo, o parénquima cerebral, dando una especie de protección a la pared de quiste. El grupo tratado con PZQ se encontró asociado a la categoría Grado 2 de la tinción con AE mostrando mayor cantidad de cápsulas con más del 50% de tinción, resultado que también era esperado, ya que como se ha mencionado en estudios anteriores, el tratamiento con PZQ conduce a la inducción de la inflamación y la interrupción de la BHE(26) incluso en las primeras 48 horas post-tratamiento, haciéndose más evidente a las 120 horas (5días) lo que se demuestra también en nuestros resultados(22). Por último, el grupo tratado con OFZ3 y, en menor proporción, OFZ6, se encuentran más asociados, respecto a los demás, al grado 3 de AE, mostrando mayor cantidad de cápsulas con una tinción al 100% y mayor aumento en la permeabilidad de la BHE, así mismo estos dos grupos mostraron mayor SCI y SCD lo que evidenciaría que este fármaco es efectivo para cisticercosis porcina pero su uso en teniasis en humanos debería hacerse con cuidado ya que podría activar inflamación en el parénquima cerebral aunque estas conclusiones deben ser tomadas con cuidado ya que, aunque los cerdos como los humanos son huéspedes naturales de la *Tenia solium* y las características histopatológicas y las respuestas inmunes observadas en cerdos son similares a lo que se ha deducido de estudios en humanos, existen diferencias importantes que aconsejan precaución al interpretar las observaciones del cerdo como modelo para la enfermedad humana. Así mismo, la dosis conservadora recomendada en humanos obtenida por extrapolación de un estudio de toxicidad de Oxfendazol en modelos animales es de 0.3mg/kg(27) como dosis única, dosis que es menor a la utilizada en este estudio por lo que una dosis menor del fármaco podría llegar en menos concentración al parénquima cerebral y causar menor inflamación. Además, la

longevidad de la infección también es más corta en cerdos, y en consecuencia no hay quistes calcificados en los cerdos utilizados en nuestros experimentos. La pesada carga de los quistes extra cerebrales en cerdos también está en desacuerdo con las infecciones humanas en el momento de la presentación. La pesada carga de antígenos del parásito que se produce puede tener un efecto amortiguador sobre las respuestas inflamatorias, como se ha visto en otras infecciones por helmintos. Si bien en el grupo de OXF3 hay un cerdo con 70 quistes, no se encontró diferencias significativas en la mediana de los SCI y SCD con respecto a sus pares del mismo grupo por lo que la elevada carga parasitaria no influiría en los resultados obtenidos para este grupo. Por otro lado, los resultados de este estudio podrían ubicar al Oxfendazol como alternativa para el tratamiento de Neurocisticercosis. Si bien es cierto en estudios previos, Gonzales y Bustos et al (18) concluyeron que esquemas combinados de Albendazol y Praziquantel han tenido mejor efecto antiparasitario en el cerebro (eficacia cercana al 100%) que Oxfendazol (eficacia cercana al 60%), estudios posteriores por el mismo autor demostraron que el Oxfendazol a dosis única de 30mg/kg mostró una eficacia cercana al 100% en el parénquima cerebral y también en músculo, por la reducción y eliminación del total quistes viables descritos(28). En cuanto a las limitaciones del estudio una de ellas es el uso de cerdos naturalmente infectados, lo que implica la falta de información sobre la respuesta inflamatoria y el grado de degeneración del quiste antes de la intervención(8). Otros inconvenientes de los modelos actuales de Neurocisticercosis incluyen diferencias en la patogénesis del modelo y parásito de tipo salvaje, bajas tasas de eficacia de la infección y falta de reproducibilidad. Por lo que se sugeriría el uso de nuevos modelo porcinos que recrean la infección en el sistema



nervioso central (SNC) con alta eficiencia, como el modelo reciente descrito de infección de oncosferas de *tenia solium* vía carótida, modelo reciente descrito por Alroy y Arroyo et al(29). En comparación con modelos de cerdos naturalmente infectados con cisticercosis, este nuevo modelo, permite tener control sobre variables como longevidad del quiste en el SNC, dosis infectiva e infecciones concurrentes en el SNC. La importancia reside en el impacto que estas variables pueden tener sobre la interpretación de los diferentes regímenes de tratamiento en Neurocisticercosis. Además, tanto la inflamación del parénquima como el daño al parásito fueron evaluados mediante variables de puntuación recién construidas.

## CONCLUSIONES

En resumen, el grado de inflamación en el parénquima cerebral varía según las características del fármaco utilizado. Niclosamida probablemente seguirá siendo el fármaco de elección para el tratamiento de teniasis intestinal en regiones endémicas de Neurocisticercosis por su baja capacidad de generar inflamación en el parénquima cerebral como fue demostrado en los resultados de este estudio. De este estudio, se sugiere seguir utilizando Praziquantel ya que no mostró diferencias significativas con respecto a Niclosamida 2g en los scores compuestos de inflamación y daño. Por otra parte, Oxfendazol demostró tener actividad en el parénquima cerebral por lo que podría ser utilizado en Neurocisticercosis humana y/o cisticercosis porcina; en cuanto a su uso en teniasis intestinal, se debería tener precaución por su capacidad de alterar el equilibrio inmune entre el parásito y el huésped y no se recomendaría en regiones endémicas de la infección. Se debería continuar la búsqueda de un fármaco con el perfil deseado para tratar teniasis intestinal ya que esta es una medida importante para el control y erradicación de la Neurocisticercosis humana.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Gonzales I, Rivera JT, Garcia HH, for The Cysticercosis Working Group in Peru. Pathogenesis of *Taenia solium* taeniasis and cysticercosis. *Parasite Immunol.* marzo de 2016;38(3):136-46.
2. Willms K. Morphology and Biochemistry of the Pork Tapeworm, *Taenia solium*. *Curr Top Med Chem.* 1 de marzo de 2008;8(5):375-82.
3. Flisser A. Taeniasis and cysticercosis due to *Taenia solium*. *Prog Clin Parasitol.* 1994;4:77-116.
4. White AC, Robinson P, Kuhn R. *Taenia solium* cysticercosis: host-parasite interactions and the immune response. *Chem Immunol.* 1997;66:209-30.
5. Amit P, Prasad KN, Kumar GR, Shweta T, Sanjeev J, Kumar PV, et al. Immune response to different fractions of *Taenia solium* cyst fluid antigens in patients with neurocysticercosis. *Exp Parasitol.* marzo de 2011;127(3):687-92.
6. Fleury A, Cardenas G, Adalid-Peralta L, Fragoso G, Sciutto E. Immunopathology in *Taenia solium* neurocysticercosis. *Parasite Immunol.* marzo de 2016;38(3):147-57.
7. Adalid-Peralta L, Arce-Sillas A, Fragoso G, Cárdenas G, Rosetti M, Casanova-Hernández D, et al. Cysticerci Drive Dendritic Cells to Promote *In Vitro* and *In Vivo* Tregs Differentiation. *Clin Dev Immunol.* 2013;2013:1-9.
8. Guerra-Giraldez C, Marzal M, Cangalaya C, Balboa D, Orrego MÁ, Paredes A, et al. Disruption of the blood–brain barrier in pigs naturally infected with *Taenia solium*, untreated and after anthelmintic treatment. *Exp Parasitol.* agosto de 2013;134(4):443-6.
9. Garcia HH, Rodriguez S, Friedland JS, for The Cysticercosis Working Group in Peru. Immunology of *Taenia solium* taeniasis and human cysticercosis. *Parasite Immunol.* agosto de 2014;36(8):388-96.
10. Chavarría A, Fleury A, García E, Márquez C, Fragoso G, Sciutto E. Relationship between the clinical heterogeneity of neurocysticercosis and the immune-inflammatory profiles. *Clin Immunol.* septiembre de 2005;116(3):271-8.
11. Lescano AG, Garcia HH, Gilman RH, Gavidia CM, Tsang VCW, Rodriguez S, et al. *Taenia solium* Cysticercosis Hotspots Surrounding Tapeworm Carriers: Clustering on Human Seroprevalence but Not on Seizures. Bethony JM, editor. *PLoS Negl Trop Dis.* 27 de enero de 2009;3(1):e371.
12. Garcia HH, Gonzalez AE, Tsang VCW, O’Neal SE, Llanos-Zavalaga F, Gonzalez G, et al. Elimination of *Taenia solium* Transmission in Northern Peru. *N Engl J Med.* 16 de junio de 2016;374(24):2335-44.
13. Flisser A, Madrazo I, Plancarte A, Schantz P, Allan J, Craig P, et al. Neurological symptoms in occult neurocysticercosis after single taeniocidal dose of praziquantel. *The Lancet.* septiembre de 1993;342(8873):748.
14. Okello A, Thomas L. Human taeniasis: current insights into prevention and management strategies in endemic countries. *Risk Manag Healthc Policy.* junio de 2017;Volume 10:107-16.

15. Singh G, Prabhakar S. *Taenia Solium* Cysticercosis: From Basic to Clinical Science. CABI; 2002. 480 p.
16. Pawlowski ZS. Role of chemotherapy of taeniasis in prevention of neurocysticercosis. *Parasitol Int.* enero de 2006;55:S105-9.
17. Campbell WC. Benzimidazoles: Veterinary uses. *Parasitol Today.* abril de 1990;6(4):130-3.
18. Jimenez JA, Ramirez MG, Garcia HH, Bustos JA, Rodriguez ML, Gilman RH, et al. Efficacy of Diverse Antiparasitic Treatments for Cysticercosis in the Pig Model. *Am J Trop Med Hyg.* 1 de agosto de 2012;87(2):292-6.
19. Mkupasi EM, Ngowi HA, Sikasunge CS, Leifsson PS, Johansen MV. Efficacy of ivermectin and oxfendazole against *Taenia solium* cysticercosis and other parasitoses in naturally infected pigs. *Acta Trop.* octubre de 2013;128(1):48-53.
20. Alvarez JI, Londoño DP, Alvarez AL, Trujillo J, Jaramillo MM, Restrepo BI. Granuloma Formation and Parasite Disintegration in Porcine Cysticercosis: Comparison with Human Neurocysticercosis. *J Comp Pathol.* octubre de 2002;127(2-3):186-93.
21. Londoño DP, Alvarez JI, Trujillo J, Jaramillo MM, Restrepo BI. The inflammatory cell infiltrates in porcine cysticercosis: immunohistochemical analysis during various stages of infection. *Vet Parasitol.* noviembre de 2002;109(3-4):249-59.
22. Mahanty S, Orrego MA, Mayta H, Marzal M, Cangalaya C, Paredes A, et al. Post-treatment Vascular Leakage and Inflammatory Responses around Brain Cysts in Porcine Neurocysticercosis. Jones MK, editor. *PLoS Negl Trop Dis.* 16 de marzo de 2015;9(3):e0003577.
23. Zammarchi L, et al. Screening, diagnosis and management of human cysticercosis and *Taenia solium* taeniasis: technical recommendations by the COHEMI project study group. *Trop Med Int Health.* julio de 2017;22(7):881-94.
24. An G, et al. Pharmacokinetics, Safety, and Tolerability of Oxfendazole in Healthy Volunteers: a Randomized, Placebo-Controlled First-in-Human Single-Dose Escalation Study. *Antimicrob Agents Chemother.* 11 de febrero de 2019;63(4):e02255-18, /aac/63/4/AAC.02255-18.atom.
25. Bustos JA, Rodriguez S, Jimenez JA, Moyano LM, Castillo Y, Ayvar V, et al. Detection of *Taenia solium* Taeniasis Coproantigen Is an Early Indicator of Treatment Failure for Taeniasis. *Clin Vaccine Immunol.* abril de 2012;19(4):570-3.
26. Cangalaya C, Bustos JA, Calcina J, Vargas-Calla A, Mamani J, Suarez D, et al. Radiological evolution of porcine neurocysticercosis after combined antiparasitic treatment with praziquantel and albendazole. Mackenzie CD, editor. *PLoS Negl Trop Dis.* 2 de junio de 2017;11(6):e0005624.
27. Codd EE, Ng HH, McFarlane C, Riccio ES, Doppalapudi R, Mirsalis JC, et al. Preclinical Studies on the Pharmacokinetics, Safety, and Toxicology of Oxfendazole: Toward First in Human Studies. *Int J Toxicol.* marzo de 2015;34(2):129-37.
28. Gonzalez AE, Codd EE, Horton J, Garcia HH, Gilman RH. Oxfendazole: a promising agent for the treatment and control of helminth infections in humans. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2 de enero de 2019;17(1):51-6.

29. for the Cysticercosis Working Group in Peru, Alroy KA, Gilman RH, Rodriguez S, Arroyo G, Verastegui M, et al. Carotid *Taenia solium* Oncosphere Infection: A Novel Porcine Neurocysticercosis Model. *Am J Trop Med Hyg.* 2 de agosto de 2018;99(2):380-7.

## TABLAS, GRÁFICOS Y FIGURAS

**Tabla 1:** Distribución de quistes cerebrales por grupo de tratamiento y carga parasitaria

Grupo de Tratamiento	PZQ (n=8)	NCS2 (n=8)	NCS4 (n=8)	OFZ3 (n=6)	OFZ6 (n=8)	Total (n=38)
<b>Número de quistes cerebrales</b>	49	60	77	86	98	<b>370</b>
<b>Carga parasitaria por cerdo</b>	1,1,2 2,5,7 7,24	1,1,1 2,3,4 14,34	1,1,1 3,3,4 29,35	1,2,3 4,6,70	1,1,1 4,6,28 28,29	

**Tabla 2:** Distribución de los grados de tinción de Azul en grados según grupo de tratamiento.

Grupo de Tratamiento		PZQ (n=8)	NCS2 (n=8)	NCS4 (n=8)	OFZ3 (n=6)	OFZ6 (n=8)	Total (n=38)
<b>Tinción de Azul de Evans</b>	Grado 0	9 18.37	26 43.33	17 22.08	0 0	42 42.86	94 25.41
	Grado 1	14 28.57	25 41.67	44 57.14	6 6.98	22 22.45	111 30.00
	Grado 2	23 46.94	7 11.67	15 19.48	50 58.14	10 10.20	105 28.38
	Grado 3	3 6.12	2 3.33	1 1.30	30 34.88	24 24.49	60 16.22
		49	60	77	86	98	370
		100	100	100	100	100	100

**Tabla 3:** Score de inflamación y Score compuesto de inflamación por grupo de tratamiento.

	<b>PZQ</b> <i>Mediana</i> <i>(rango)</i>	<b>NCS2</b> <i>Mediana</i> <i>(rango)</i>	<b>NCS4</b> <i>Mediana</i> <i>(rango)</i>	<b>OFZ3</b> <i>Mediana</i> <i>(rango)</i>	<b>OFZ6</b> <i>Mediana</i> <i>(rango)</i>	<b>Prueba de Kruskal-Wallis</b> <i>P value</i>
<b>IS1</b>	21.1 0-95.5	44.3 0-100	0 0-100	0 0-45.2	0 0-100	<0.001
<b>IS2</b>	17 0-51.3	16.5 0-100	61.9 0-100	0 0-54.8	12.9 0-92.7	<0.001
<b>IS3</b>	5.7 0-29.4	0 0-63.3	7.8 0-59.4	27.9 0-100	9.6 0-73.5	<0.001
<b>IS4</b>	41 0-100	17 0-100	15.2 0-46.3	64.5 0-100	32 0-100	<0.001
<b>ISC</b>	272.4 105-400	199.7 100-400	239.8 100-309	363.6 155-400	287.7 100-400	<0.001

**Tabla 4:** Score de daño y Score compuesto de daño por grupo de tratamiento

	<b>PZQ</b> <i>Mediana</i> <i>(rango)</i>	<b>NCS2</b> <i>Mediana</i> <i>(rango)</i>	<b>NCS4</b> <i>Mediana</i> <i>(rango)</i>	<b>OFZ3</b> <i>Mediana</i> <i>(rango)</i>	<b>OFZ6</b> <i>Mediana</i> <i>(rango)</i>	<b>Prueba de Kruskal-Wallis</b> <i>P value</i>
<b>DS0</b>	5.6 0-100	15.6 0-87.3	71.8 0-100	0 0-86.6	0 0-79.2	<0.001
<b>DS1</b>	50 0-100	70.8 0-100	0 0-30.3	42.8 0-100	30.7 0-100	<0.001
<b>DS2</b>	0 0-100	0 0-95.7	28.2 0-100	0 0-84.8	12.2 0-100	<0.001
<b>DS3</b>	0 0-50	0 0-0	0 0-0	33.2 0-100	0 0-100	<0.001
<b>DSC</b>	199.6 100-300	198.0 125.4-219.3	156.4 100-300	266.7 113.4-400	268.3 141.6-400	<0.001

**Tabla 5:** Comparación por pares usando prueba U de Mann Whitney del Score compuesto de Inflamación por grupo de tratamiento.

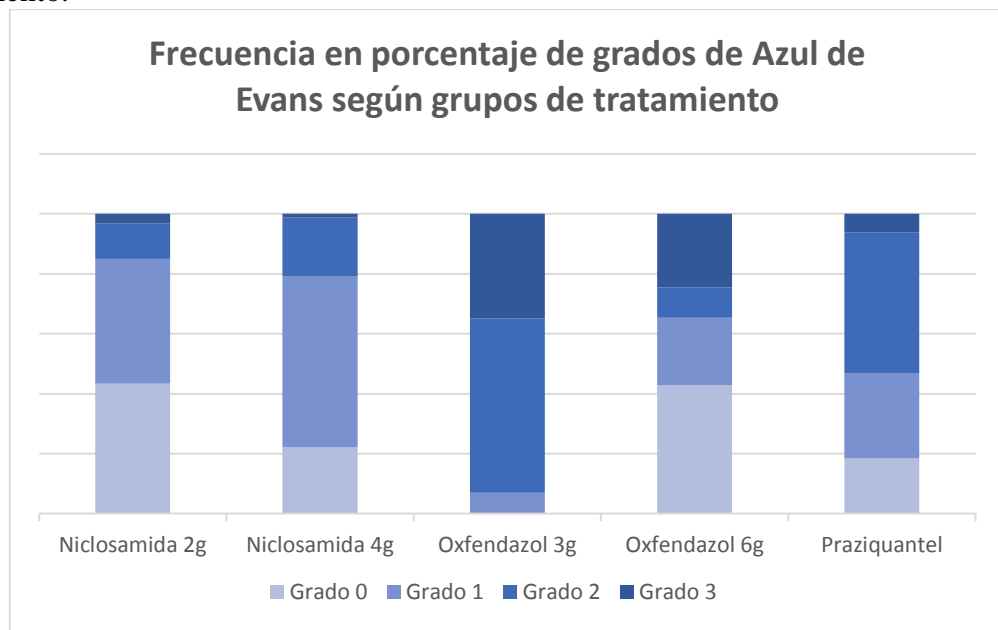
	<b>PZQ</b>	<b>NCS2</b>	<b>NCS4</b>	<b>OFZ3</b>
<b>NCS2</b>	0.09463	-	-	-

<b>NCS4</b>	0.49223	0.09463	-	-
<b>OFZ3</b>	<b>0.00012</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>	-
<b>OFZ6</b>	0.49223	<b>0.00024</b>	<b>0.01792</b>	<b>&lt;0.001</b>

**Tabla 6:** Comparación por pares con la prueba U de Mann Whitney del Score compuesto de Daño por grupo de tratamiento.

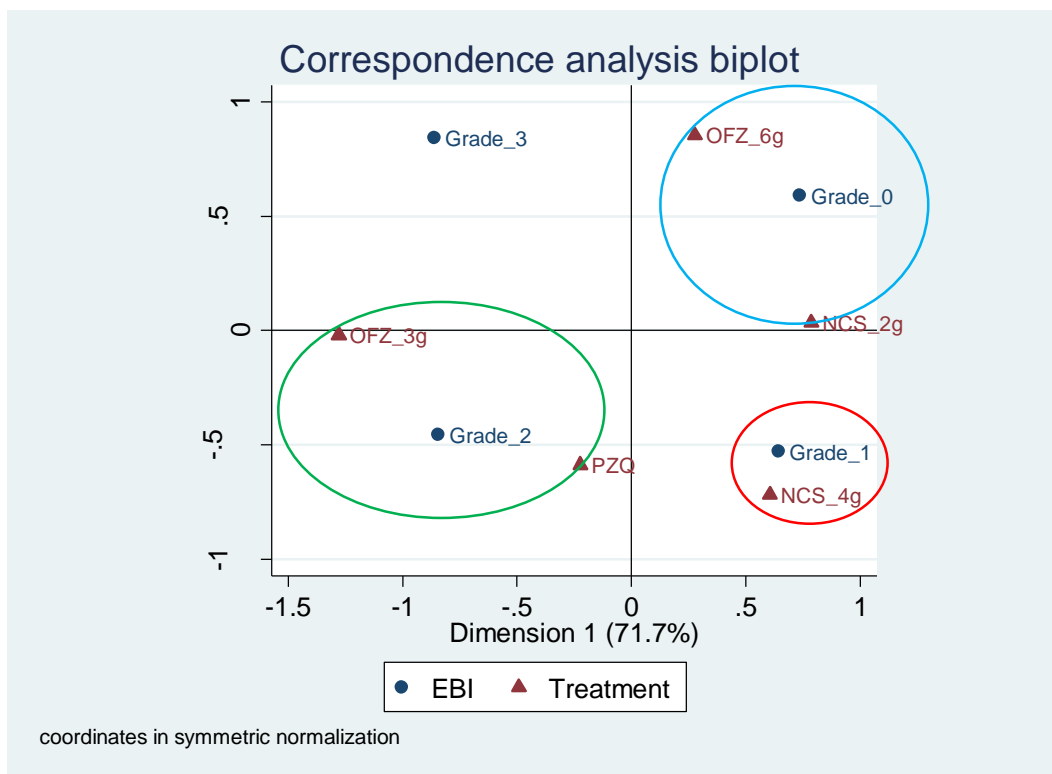
	<b>PZQ</b>	<b>NCS2</b>	<b>NCS4</b>	<b>OFZ3</b>
<b>NCS2</b>	1.00000	-	-	-
<b>NCS4</b>	0.07314	<b>0.02696</b>	-	-
<b>OFZ3</b>	<b>0.00035</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>	-
<b>OFZ6</b>	<b>0.00010</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>	1.000

**Gráfico 1:** Frecuencia en porcentaje de grados de Azul de Evans según grupos de tratamiento.

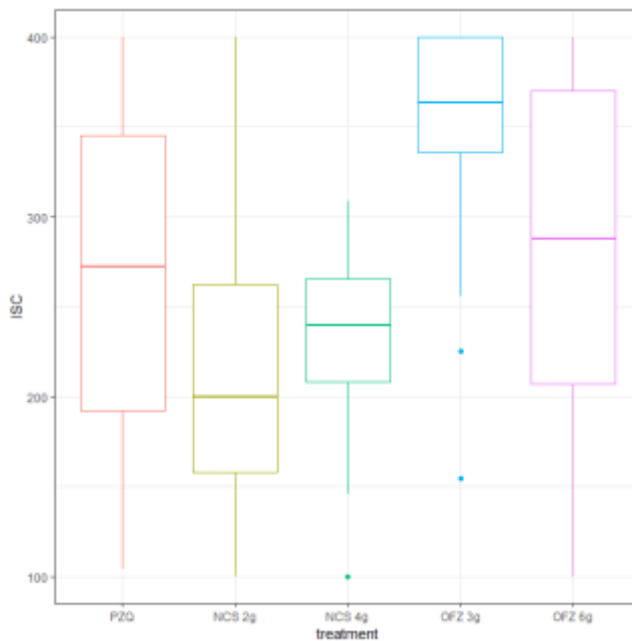


**Gráfico 2:** Tabla de dos dimensiones de Análisis de correspondencia simple entre las variables grado de tinción de Azul de Evans vs. Grupo de Tratamiento.





**Gráfico 3:** Diagrama de caja del Score de inflamación compuesto por grupo de tratamiento.



**Gráfico 4:** Diagrama de caja del Score de daño compuesto por grupo de tratamiento

