

T
308

84248



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO SISTEMAS BIOLÓGICOS

MAESTRÍA EN CIENCIAS FARMACÉUTICAS

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN
INVESTIGACION BIOFARMACÉUTICA

EVALUACIÓN DEL EFECTO CISTICIDA RESULTANTE DE LA
COMBINACIÓN DE SULFÓXIDO DE ALBENDAZOL Y PRAZICUANTEL

COMUNICACIÓN IDÓNEA DE RESULTADOS
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS FARMACÉUTICAS
P R E S E N T A
FRANCISCA PALOMARES ALONSO

MATRICULA 201180960

COMITÉ TUTORIAL

TUTOR: DRA. HELGI JUNG COOK

ASESOR: M. EN C. MARCELA HURTADO Y DE LA PEÑA

ASESOR: M. EN C. NELLY NORMA CASTRO TORRES

MÉXICO, D.F.

MAYO 2003

PORTADA

COMITE TUTORIAL

VoBo

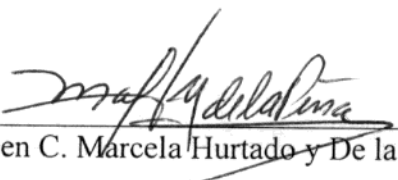
TUTOR



Dra. Helgi Jung Cook

ASESOR

ASESOR



M. en C. Marcela Hurtado y De la Peña



M. en C. Nelly Norma Castro Torres

SUSTENTANTE



I.B.I. Francisca Palomares Alonso

SINODALES

Presidente

Dra. María Alicia Sánchez Mendoza

Secretaría

M. en C. Marcela Hurtado y De la Peña

Vocal

M. en C. Dinora Fabiola González Esquivel

Comisión de la Maestría

Dr. Carlos Tomas Quirino Barreda

Agradecimientos

Hago patente mi agradecimiento

A mis padres

A mis hermanos

A mis amigos y compañeros

A mis maestros

A mi tutora

A mis asesores

A el jurado evaluador de este trabajo

Y a todas aquellas personas que de alguna u otra manera estuvieron involucradas en la realización de este trabajo y que sin su desinteresada colaboración no hubiese sido posible su conclusión.

*Todos los triunfos nacen cuando nos atrevemos
a comenzar.*

Anonimo

Este trabajo se desarrolló en el Laboratorio de Neuropsicofarmacología del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía “Manuel Velasco Suárez”

México D.F.

CONTENIDO

	Pág.
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. OBJETIVOS.....	3
III. HIPÓTESIS.....	4
IV. GENERALIDADES	
4.1 <i>Taenia solium</i>	
4.1.1 Descripción biológica.....	5
4.1.2 Ciclo biológico.....	5
4.1.3 Fases evolutivas en el hombre.....	8
4.1.4 Localización.....	9
4.2 <i>Taenia crassiceps</i>	
4.2.1 Descripción biológica.....	10
4.2.2 Ciclo biológico.....	10
4.2.3 Utilidad como modelo biológico.....	13
4.2.4 Semejanza de <i>Taenia crassiceps</i> con <i>Taenia solium</i>	14
4.3 Neurocisticercosis	
4.3.1 Epidemiología.....	16
4.3.2 Manifestaciones clínicas.....	17
4.3.3 Clasificación de neurocisticercosis.....	17
4.3.4 Tratamiento.....	18
4.4 Albendazol	
4.4.1 Propiedades fisicoquímicas.....	19
4.4.2 Farmacocinética	
4.4.2.1 Absorción.....	20
4.4.2.2 Distribución.....	20
4.4.2.3 Metabolismo.....	20
4.4.2.4 Eliminación.....	21

4.4.3	Propiedades farmacológicas.....	22
4.4.4	Mecanismo de acción.....	23
4.4.5	Efectos adversos.....	23
4.5	Prazicuantel	
4.5.1	Propiedades fisicoquímicas.....	25
4.5.2	Farmacocinética	
4.5.2.1	Absorción.....	26
4.5.2.2	Distribución.....	26
4.5.2.3	Metabolismo.....	27
4.5.2.4	Eliminación.....	28
4.5.3	Propiedades farmacológicas.....	28
4.5.4	Mecanismo de acción.....	29
4.5.5	Efectos adversos.....	30
4.6	Estudios relacionados con prazicuantel y albendazol.....	31
V.	PARTE EXPERIMENTAL	
5.1	Reactivos, materiales y equipos.....	33
5.2	Metodología	
5.2.1	Obtención de cisticercos.....	35
5.2.2	Preparación de medio de cultivo.....	36
5.2.3	Estudios <i>in vitro</i>	
5.2.3.1	Preparación de soluciones de PZQ, ALB y SOALB en medio de cultivo.....	36
5.2.3.2	Determinación de la estabilidad de los fármacos en medio de cultivo.....	39
5.2.3.3	Condiciones experimentales para el estudio <i>in vitro</i>	40
5.2.3.4	Determinación del tiempo de exposición.....	40
5.2.3.5	Determinación de la concentración efectiva 50 (CE ₅₀).....	40
5.2.3.6	Evaluación del efecto de la combinación de PZQ y SOALB.....	41
5.2.4	Análisis de resultados.....	41

VI.	RESULTADOS y DISCUSIÓN	
6.1	Obtención de cisticercos.....	42
6.2	Estudios <i>in vitro</i>	
6.2.1	Preparación de soluciones de PZQ, ALB y SOALB en medio de cultivo.	43
6.2.2	Estabilidad de fármacos en medio de cultivo.....	43
6.2.3	Efecto sobre la estructura del parásito.....	44
6.2.4	Determinación del tiempo de exposición.	
6.2.4.1	Determinación del tiempo de exposición de cisticercos de <i>T. crassiceps</i> a PZQ.....	47
6.2.4.2	Determinación del tiempo de exposición de cisticercos de <i>T. crassiceps</i> a ALB y SOALB.....	48
6.2.4.3	Determinación del tiempo de exposición de cisticercos de <i>T. solium</i> a PZQ.....	51
6.2.5	Análisis comparativo del efecto de PZQ sobre cisticercos de <i>T. crassiceps</i> y <i>T. solium</i>	52
6.2.6	Determinación de la concentración efectiva 50 (CE ₅₀).....	53
6.2.7	Evaluación del efecto de la combinación de PZQ y SOALB.....	57
VII.	CONCLUSIONES.....	61
VIII.	BIBLIOGRAFÍA.....	62

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. A, escólex de <i>T. solium</i> ; B, proglótido maduro de <i>T. solium</i> ; C, huevo.....	6
Figura 2. Ciclo de vida de <i>Taenia solium</i>	7
Figura 3. Fase evolutivas de un cisticerco en cerebro.....	8
Figura 4. Localización de cisticercos en cerebro. Corte coronal.....	9
Figura 5. Localización de cisticercos en cerebro. Corte sagital.....	9
Figura 6. Ciclo de vida de <i>Taenia crassiceps</i>	11
Figura 7. Ciclo de reproducción asexual de <i>T. crassiceps</i>	12
Figura 8. Cisticercos de <i>Taenia crassiceps</i>	42
Figura 9. Cisticercos de <i>Taenia solium</i>	42
Figura 10. Cisticercos de <i>T. solium</i> , evaginado. Tratamiento con PZQ 0.1 µg/mL.....	46
Figura 11. Cisticercos de <i>T. crassiceps</i> . Con tratamiento de PZQ. 0.072 µg/mL.....	46
Figura 12. Efecto del tratamiento con PZQ en cisticercos de <i>T</i>	46
Figura 13. Cisticercos de <i>T. crassiceps</i> después de 11 días con tratamiento de ALB 0.25 µg/mL.....	46
Figura 14. Membrana de cisticercos con tratamiento de SOALB 0.1 µg/mL.....	46
Figura 15. Efecto <i>in vitro</i> de Prazicuantel sobre la mortalidad de cisticercos de <i>Taenia crassiceps</i>	47
Figura 16. Efecto <i>in vitro</i> de Albendazol sobre la mortalidad de <i>Taenia crassiceps</i>	49
Figura 17. Efecto <i>in vitro</i> de Sulfoxido de Albendazol sobre la mortalidad de <i>Taenia crassiceps</i>	50
Figura 18. Efecto <i>in vitro</i> de Prazicuantel sobre la mortalidad de cisticercos de <i>Taenia solium</i>	51
Figura 19. Relación de mortalidad obtenida en <i>T. solium</i> y <i>T. crassiceps</i> frente a PZQ.....	52
Figura 20. Curvas concentración–respuesta.....	53

Figura 21. Curvas de ajuste obtenidas del análisis de regresión <i>logit</i>	54
Figura 22. Efecto sobre la mortalidad de cisticercos de <i>T. crassiceps</i> de: combinación prazicuantel y sulfóxido de albendazol (0.012 µg/ml + 0.025 µg/ml).....	57
Figura 23. Efecto sobre la mortalidad de cisticercos de <i>T. crassiceps</i> de: combinación prazicuantel y sulfóxido de albendazol (0.028 µg/ml + 0.1 µg/ml).....	58

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Localización de bandas de antígenos encontradas en fluido vesicular de <i>T. solium</i> y <i>T. crassiceps</i> , ordenadas por peso molecular (kD).....	15
Tabla 2. Clasificación de la neurocisticercosis.....	17
Tabla 3. Valores de CE ₅₀ y IC _{95%} para PZQ, ALB y SOALB.....	55

ÍNDICE DE ESQUEMAS

Esquema 1. Procedimiento para la preparación de soluciones de PZQ en medio de cultivo Dulbecco.....	37
Esquema 2. Procedimiento para la preparación de soluciones de ALB en medio de cultivo Dulbecco.....	38
Esquema 3. Procedimiento para la preparación de soluciones de SOALB en medio de cultivo Dulbecco.....	39

I. INTRODUCCIÓN

La neurocisticercosis es la infección parasitaria más importante del sistema nervioso, siendo frecuente en comunidades que viven en condiciones higiénicas deficientes. Es un problema de salud pública en México y otros países subdesarrollados donde se consume carne de cerdo y donde la inspección de rastros de matanza es deficiente.

La incidencia nacional de esta enfermedad es de 0.6 por cada 100,000 habitantes y cada año se reporta un promedio de 500 nuevos casos (Sarti, 2002).

La frecuencia de neurocisticercosis registrada por los hospitales y servicios de salud de México es alta, notificándose hasta 8.6 pacientes con esta enfermedad por cada 100 pacientes hospitalizados y es considerada como causa de muerte en un 40 a 80 % de los pacientes diagnosticados.

En el humano esta enfermedad a menudo se acompaña por severos problemas neurológicos (Sotelo y Del Brutto, 1989).

La neurocisticercosis es una enfermedad muy compleja, en la cual el cuadro clínico depende del número y localización del ó de los parásitos, el tipo de fase evolutiva del mismo y de la respuesta inmune del paciente (Bale, 2000).

La introducción de fármacos cisticidas como el prazicuantel (PZQ) y albendazol (ALB), ha cambiado dramáticamente el manejo médico de la neurocisticercosis. La efectividad clínica de estos fármacos depende de su habilidad de alcanzar el sitio en el cual el parásito está localizado (Escobedo y col., 1987; Sotelo y Flisser, 1997). De hecho, actualmente se considera importante el uso de la farmacocinética para proponer nuevos esquemas de tratamiento (Jung y col., 1990).

El esquema de tratamiento comúnmente empleado con PZQ es de 50 mg/kg/día, mientras que para ALB es de 15 mg/kg/día. Estos dos fármacos presentan mecanismos de acción completamente diferentes. El PZQ altera la homeostasis intracelular de Ca^{++} en la membrana del parásito, modificando la permeabilidad y afectando el metabolismo, mientras que el ALB daña directamente los microtúbulos, los cuales son esenciales para la nutrición del parásito. La inhibición de la función microtubular causada por el ALB conduce a la pérdida de los mecanismos de captación de nutrientes, por lo que repercute directamente en los niveles energéticos del parásito, que son indispensables para su sobrevivencia.

Dado que estos fármacos presentan mecanismos de acción diferentes, la combinación de ambos podría producir un efecto sinérgico.

En la clínica el uso del ALB ó PZQ en el tratamiento de la neurocisticercosis depende de factores como son: número, tamaño y localización del parásito, así como de la respuesta inmunológica del paciente al tratamiento. Algunos pacientes responden favorablemente al PZQ, pero otros requieren de cambio de terapia por ALB. A la fecha, aún no se ha evaluado el efecto de la combinación de estos fármacos en el tratamiento de la enfermedad.

El presente trabajo tiene como finalidad evaluar el efecto cisticida *in vitro* de la combinación del PZQ y el sufóxido de albendazol (SOALB), el cual es el metabolito activo de ALB.

II. OBJETIVOS

Objetivo General

Determinar el efecto *in vitro* de la combinación de prazicuantel y sulfóxido de albendazol.

Objetivos Particulares

- 1) Determinar la concentración mínima cisticida *in vitro* de prazicuantel.
- 2) Determinar la concentración mínima cisticida *in vitro* de albendazol.
- 3) Determinar la concentración mínima cisticida *in vitro* de sulfóxido de albendazol.

III. HIPÓTESIS

Hipótesis

Ho: La combinación de sulfóxido de albendazol y prazicuantel no produce un efecto cisticida sinérgico.

Ha: La combinación de sulfóxido de albendazol y prazicuantel produce un efecto cisticida sinérgico.

IV. GENERALIDADES

4.1 *Taenia solium*

4.1.1 Descripción biológica

El céstodo de *Taenia solium* es un gusano plano y segmentado que vive adherido al intestino delgado del hombre. En fase adulta mide de 3 a 8 metros. Posee una cabeza ó escólex de 0.6 a 1 mm y un rostelo que presenta 22 a 32 ganchos en dos coronas, con los que se fija al intestino delgado del huésped. En la parte final del céstodo, se ubica el estróbilo que es una cadena de proglótidos que contiene una gran cantidad de huevecillos esferoides que miden de 10 a 12 micras de diámetro, los cuales son expulsados en las heces fecales del huésped. La fase larvaria de *T. solium* es el *cisticercus cellulosae* y es una pequeña vesícula de aspecto translúcido, de forma esferoide u ovoide que mide de 8 a 12 mm por 4 a 8 mm. Tiene un punto blanco opaco que corresponde al escólex invaginado (**Figura 1**) (Náquira, 1996).

4.1.2 Ciclo biológico

El hombre es el único hospedero definitivo de *T. solium* adulta, en donde logra sobrevivir hasta 25 años. Se encuentra en el intestino delgado del hombre a consecuencia de la ingestión de carne contaminada con cisticercos, siendo el cerdo el hospedero intermediario de la forma larvaria de *T. solium*.

El ciclo biológico se inicia cuando los huevos de la forma adulta de la *Taenia solium*, son eliminados en las heces fecales de un individuo parasitado. Dichos huevos se encuentran dentro de los proglótidos grávidos que se desprenden de la *Taenia* adulta.

Estos huevos, al ser ingeridos por los cerdos, son sometidos a la acción de los jugos digestivos, los cuales ocasionan la liberación de oncósferas (embriones de *Taenia*), que se adhieren a la mucosa y luego penetran en la pared intestinal para alcanzar los vasos sanguíneos. Por esta vía, los embriones alcanzan la circulación general llegando a diversos órganos y tejidos, siendo de mayor importancia para el ciclo evolutivo su localización en la musculatura del cerdo, donde se desarrolla la larva o cisticercos. El hombre, al ingerir carne de cerdo contaminada e insuficientemente cocida desarrolla la taeniasis.

Por otro lado, la putrefacción de proglótidos en el medio ambiente permite la liberación de los huevos, que contaminan el agua de riego, vegetales de tallo corto, alimentos expuestos al medio, etc. El hombre al ingerir agua o alimentos contaminados con huevos de *T. solium*, adquiere la enfermedad conocida como cisticercosis (Gutiérrez, 1997), ya que al igual que en el cerdo, dichos huevecillos llegan al intestino delgado donde se liberan las oncosferas, que atraviesan la pared intestinal y por vía sanguínea o linfática, se distribuyen a diversos tejidos, donde después de 60 a 90 días se transforman en cisticercos (Figura 2) (Alarcón, 1999a).

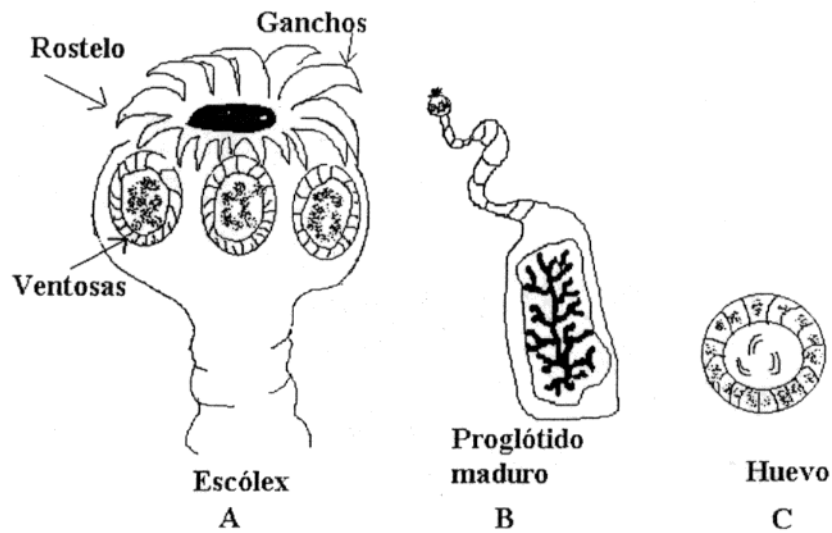


Figura 1. A, escólex de *T. solium*, B, proglótido maduro de *T. solium*; C, huevo.

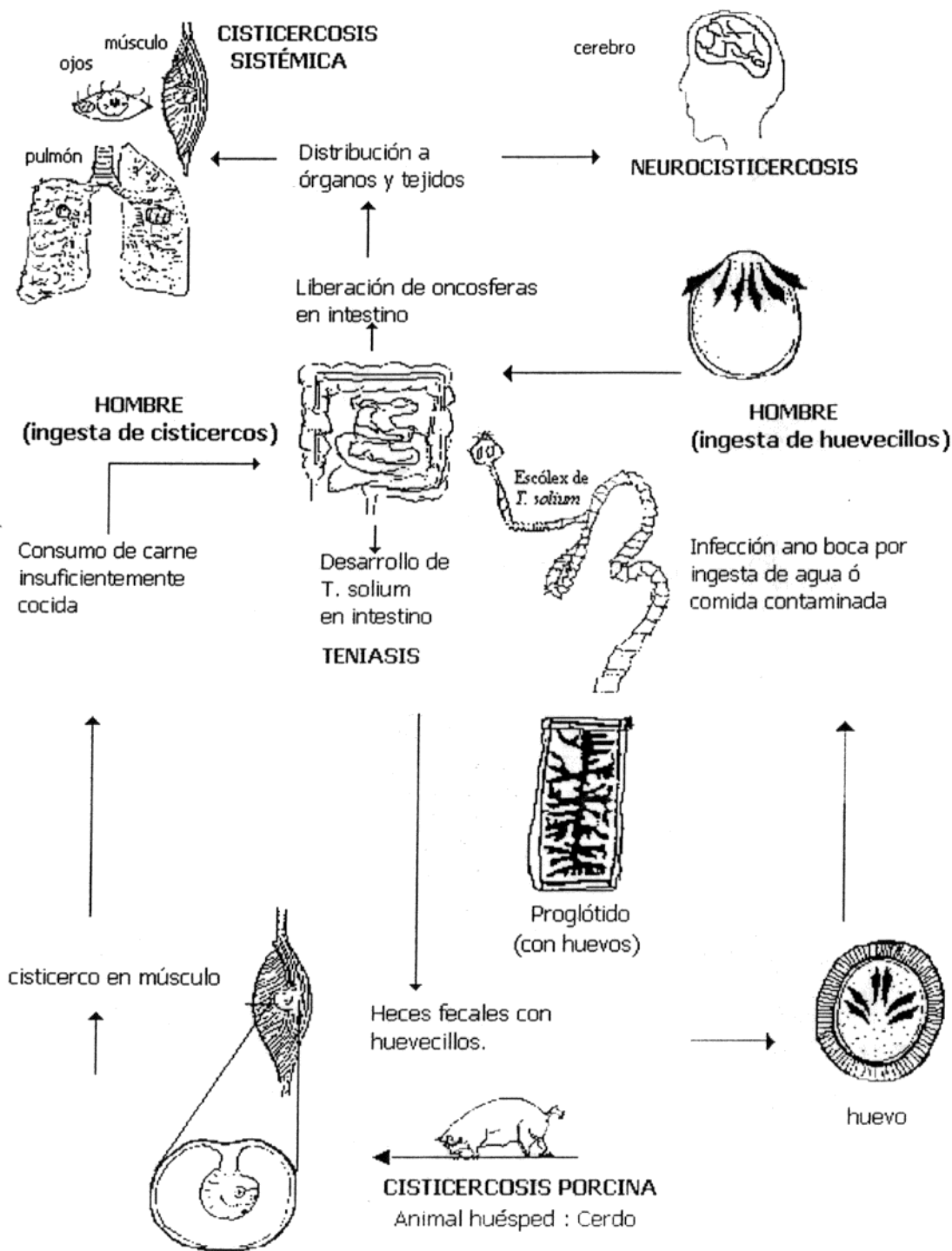


Figura 2. Ciclo de vida de *Taenia solium*.

4.1.3 Fases evolutivas en el hombre

Una vez que los cisticercos se encuentran en un tejido huésped sufren cambios estructurales que incluyen las siguientes etapas (**Figura 3**).

Etapa vesicular o quística: es considerada la etapa más temprana. En esta etapa el parásito tiene su membrana bien definida y transparente con líquido quístico en su interior y tiene el escólex invaginado. Este tipo de vesícula se desprende fácilmente del lecho en el que se encuentra y los tejidos que la alojan presentan poca reacción inflamatoria.

Etapa coloidal: la membrana de la vesícula presenta engrosamiento, con formación de cápsula conectiva secundaria que la rodea, siendo fácil identificar las dos cápsulas: una del parásito y otra del tejido conectivo del huésped. El contenido tiene una consistencia gelatinosa y es opaco blanquecino. El escólex aún está invaginado.

Etapa granular nodular: la vesícula reduce su tamaño y su contenido se vuelve semisólido, todavía encapsulado. El escólex no es reconocible como tal, confundándose con el resto del contenido del nódulo. Además se observa el depósito temprano de sales de calcio en la membrana y en el interior de la vesícula.

Etapa nodular calcificada: el parásito se ve reducido a un nódulo sólido calcificado totalmente y envuelto en una cápsula de tejido conectivo de espesor variable.

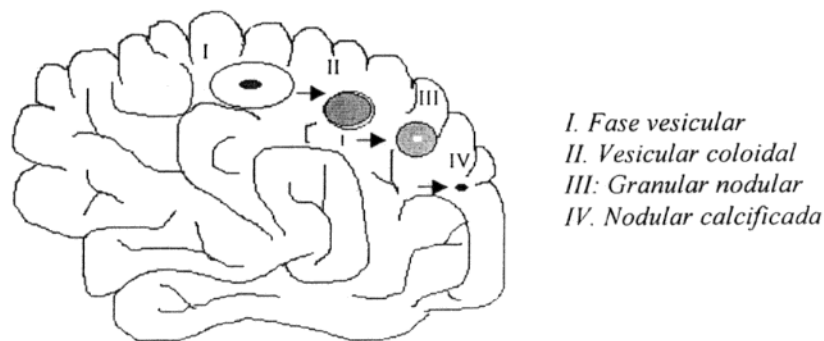


Figura 3. Fases evolutivas de un cisticerco en cerebro.

4.1.4 Localización

En el sistema nervioso la diseminación de los huevecillos es por vía vascular. En el cerebro específicamente, los parásitos pueden alojarse a nivel de parénquima, ventrículos y de meninges (Figura 4 y 5).

La forma del cisticerco y su dimensión son afectados por su localización. Los ventriculares y subaracnoideos tienden a ser más grandes y multilovulados (racemosos), mientras que los parenquimatosos tienden a ser vesículas únicas homogéneas que no sobrepasan 1 cm de diámetro. El 4º ventrículo es más común de parasitarse que los ventrículos laterales y el 3º ventrículo (Alarcón, 1999b; Del Brutto y col., 1998).



Figura 4
Localización de cisticercos en cerebro.
Corte coronal.
Parenquimatosos:

- A. Corticoméngeas
- B. Substancia blanca
- C. Ganglios basales
- D. Centrales subependimarias

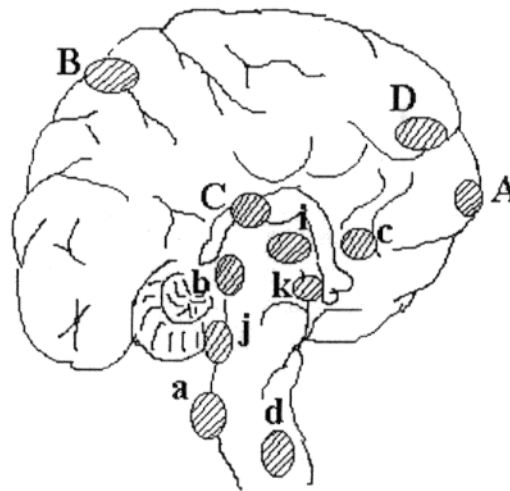


Figura 5
Localización de cisticercos en cerebro.
Corte sagital.
Parenquimatosos:

- A y B. Corticoméngeas
- C. Centrales subependimarias
- D. Intramedular

Meningeos:

- a. Cisternas magna
- b. Lámina cuadrigémina
- c. Interhemisférica subcallosa
- d. Convexidad hemisférica

Intraventricular:

- i. Ventrículo lateral
- j. Cuarto ventrículo
- k. Tercer ventrículo

4.2 *Taenia crassiceps*

4.2.1 Descripción biológica

La *Taenia crassiceps* es un céstodo común en el intestino del zorro rojo (*Vulpes vulpes L.*). Su metacéstodo, *cisticercus longicollis* se encuentra en varios roedores pequeños y en topos.

4.2.2 Ciclo biológico

El ciclo de vida requiere al zorro como hospedero de la *Taenia* adulta y a pequeños roedores como hospederos intermediarios.

El ciclo inicia cuando el zorro, ingiere proglótidos de *T. crassiceps* que se encuentran en las heces fecales de otros caninos con la infección. En dichos proglótidos se encuentran pequeños huevecillos que al llegar al intestino liberan pequeñas oncósferas. Estas se transportan por vía sanguínea a varios tejidos subcutáneos y a la cavidad abdominal, una vez implantadas estas oncósferas, se desarrollan a embriones, los cuales tienen un rápido incremento en el tamaño y desarrollan una espesa estructura en la parte final del mismo, que constituirá el futuro escólex (Freeman y col., 1973).

El pequeño metacéstodo con menos de 3 semanas de desarrollo varía en tamaño de 0.87 por 0.49 mm a aproximadamente 3 por 1.7 mm y contienen un prominente canal al final de su estructura en el cual se localiza el escólex con incipientes ganchos rostellares casi indetectables (Freeman, 1962).

Después de 40 días la estructura de la *Taenia* esta conformada en su totalidad. En la parte final, de la tenia adulta, se ubican los proglótidos, donde se producen los huevos. De tal forma que después de 2 meses, pequeños segmentos de proglótidos maduros, con huevos, son desechados en las heces fecales. El zorro es el único portador de la *Taenia* adulta (Freeman, 1962). En la **Figura 6** se muestra de forma esquemática el ciclo de vida de *T. crassiceps*.

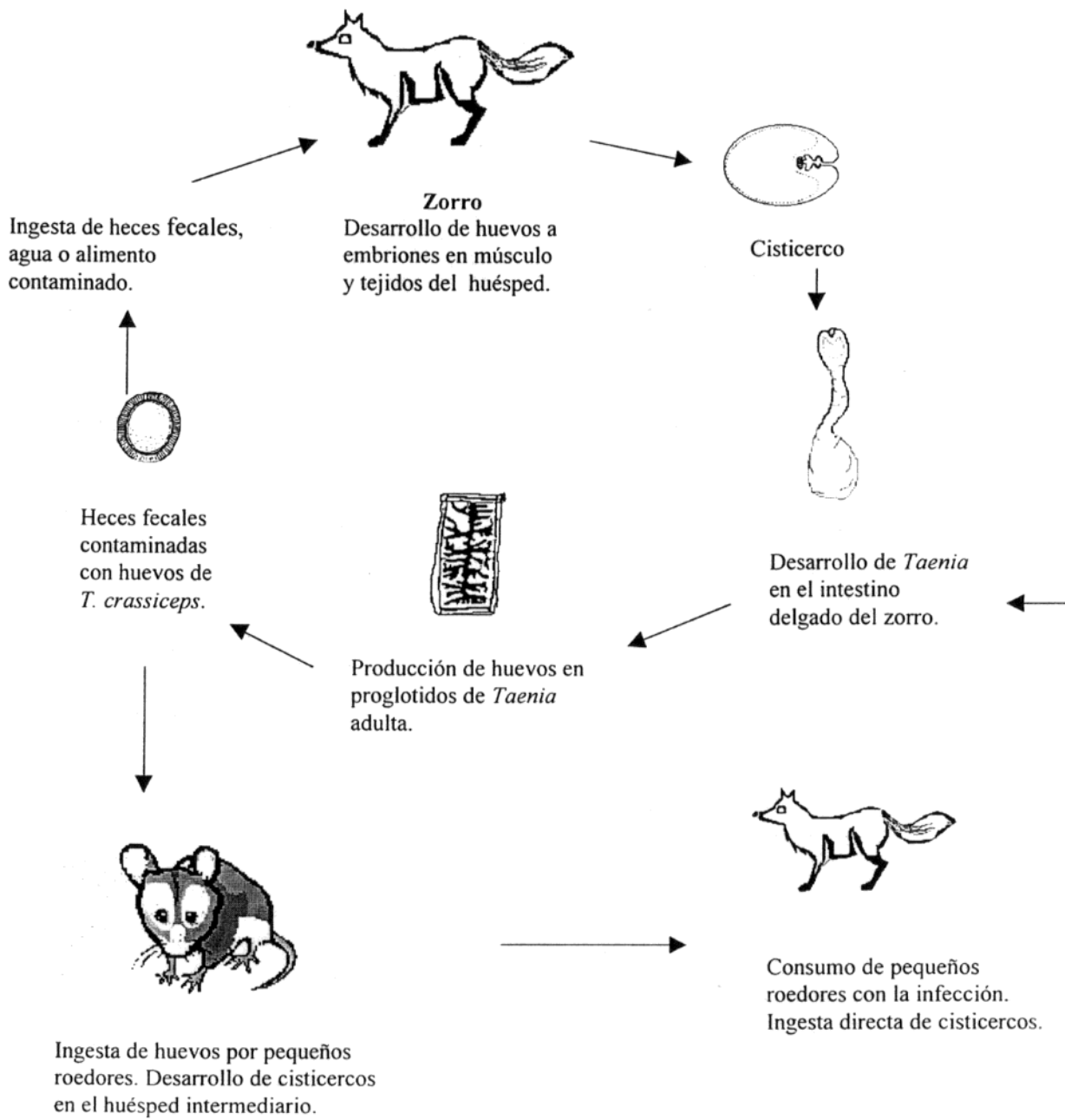


Figura 6. Ciclo de vida de *Taenia crassiceps*.

Ciclo asexual

Los cisticercos de *T. crassiceps* se pueden reproducir asexualmente por gemación cuando se encuentran en la cavidad peritoneal de diferentes especies de roedores.

El metacéstodo desarrolla pequeños brotes exógenos, estos se relacionan con el aparente alargamiento y diferenciación de las estructuras del mismo; así por la cuarta semana de infección algunos brotes se han despegado del padre, formando nuevos cisticercos.

La mayoría de los brotes con un surco indistinguible son metacéstodos jóvenes, que se desprenden mientras tienen 2mm de diámetro. El cisticerco adulto frecuentemente mide más de 5 por 3 mm en tamaño, presenta un total desarrollo del escólex por la quinta semana. En infecciones a largo plazo el cisticerco puede medir más de 11 por 6 mm (**Figura 7**) (Freeman y col., 1973).

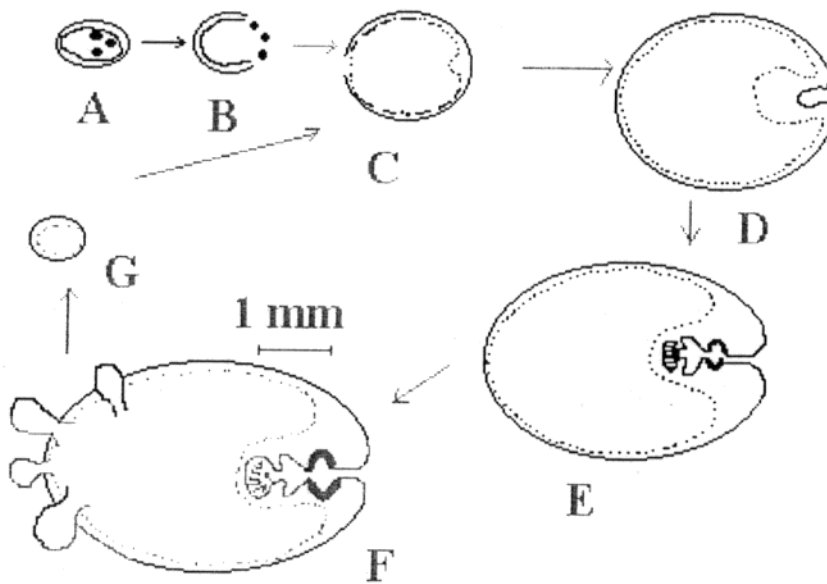


Figura 7. Ciclo de reproducción asexual de *T. crassiceps*. A: huevo, B: oncosfera libre del caparazón, C: gema temprana, D: gema con escólex y con canal invaginado, E: cisticerco típico, F: cisticerco padre con gemas, G: gema hija que continúa el ciclo.

4.2.3 Utilidad como modelo biológico

Debido a su capacidad de reproducción asexual los cisticercos de *T. crassiceps* son fáciles de reproducir y mantener en el laboratorio por inoculaciones seriadas en el peritoneo de roedores. Se ha reportado que en ratones blancos de la cepa CFLP, BDF1 y BALB/c, existe una mayor susceptibilidad. Esta susceptibilidad se presenta principalmente entre las 4 y 5 semanas de vida. Asimismo, se ha encontrado que las hembras desarrollan una mayor cantidad de cisticercos que los machos, ya que estos últimos desarrollan resistencia a la infección (Chernin, 1975 y 1977).

Se ha demostrado que cuando los cisticercos son inoculados en la cavidad peritoneal de los roedores, su reproducción es más rápida que cuando los huevecillos se suministran en el alimento de los animales (Freeman, 1962).

A la fecha, se han encontrado dos tipos de cepas. En 1952 el Dr. Freeman aisló la cepa llamada ORF de *T. crassiceps* del zorro rojo y cuyo hospedero definitivo son las especies caninas. Posteriormente, en 1965 se aisló una nueva cepa llamada KBS de una rata de agua en Michigan. Desde entonces, ambas cepas han sido mantenidas en ratones de laboratorio por inoculación intraperitoneal. Ambas cepas tienen ligeras diferencias morfológicas. Los cisticercos de la cepa ORF, crecen más rápidamente que los cisticercos de la cepa KBS; por otro lado, los cisticercos de la cepa ORF son más grandes que los de la KBS. Una diferencia morfológica importante es que los cisticercos de la cepa ORF, presentan un desarrollo del escólex incompleto (Dorais y Esch, 1969).

La cisticercosis ha sido estudiada en el modelo biológico de *T. crassiceps*. En ratones, los metacéstodos producen, alrededor de ellos, una reacción inflamatoria abundante y sobreviven durante largos periodos de tiempo en su hospedero. Este modelo resulta muy apropiado para el estudio de la relación huésped-parásito ya que presenta las siguientes características:

- La enfermedad es de fácil inducción.
- La inoculación de uno o más cisticercos permite la obtención de cientos de estos en pocos días.
- Los parásitos son grandes (0.3- 1 cm).
- Los parásitos se pueden contar fácilmente.

4.2.4 Semejanza de *Taenia crassiceps* con *Taenia solium*

En general, todas las especies de *Taenia* tienen similitudes morfológicas, metabólicas y fisiológicas.

La *T. solium* y *T. crassiceps* comparten las siguientes características:

- a) Ambas requieren de un huésped para su reproducción.
- b) Su morfología es básicamente idéntica y esta caracterizada por un surco que constituye un canal alimentario.
- c) Su patrón de crecimiento es estrobilar.
- d) La diseminación de oncósferas es parte de su ciclo de vida.
- e) Ambas especies poseen un tegumento que constituye una superficie esencial para la captación de nutrientes.
- f) La superficie tegumental posee una fuerte capacidad antigénica.
- g) Ambas especies son capaces de fijar dióxido de carbono.

La proporción de los principales constituyentes como: proteínas, lípidos y carbohidratos (en su mayor parte en forma de glucógeno), es semejante entre especies. El contenido de carbohidratos tiende a ser alto y la proporción de proteína es relativamente bajo.

Las larvas de céstodos son particularmente ricas en glucógeno y sus niveles pueden alcanzar hasta el 50 % de los componentes en base seca. Se ha reportado que *T. solium* y *T. crassiceps*, contienen una proporción similar de glucógeno (25.4% y 27.5 %, respectivamente) (Smyth, 1981).

Ambas especies de céstodos, generan una respuesta inmune en el huésped. Siebert y col. (1978), describieron los cambios que presentan los cisticercos de *T. crassiceps* a nivel ultraestructural, cuando se presenta la respuesta inmune del huésped. Entre estos cambios, se observó una vacuolización del tegumento de la larva, similar al encontrado en *T. solium*. Este evento precede a la aparición de una respuesta inflamatoria de las células del huésped con larvas de *T. crassiceps*, mientras que con larvas de *T. solium*, los dos fenómenos son simultáneos. En ambas especies, la degeneración del tegumento se asocia con la muerte del metacéstodo y se atribuye a la respuesta inmune del huésped (Siebert y col., 1978; Willms y Merchant, 1980).

En un estudio realizado por Larralde y col. (1989), se logró identificar por inmunoblott, antígenos comunes en fluido vesicular de cisticercos de *T. crassiceps* y *T. solium*. Algunos de estos antígenos se muestran en la **Tabla 1**.

Tabla 1. Localización de bandas de antígenos encontradas en fluido vesicular de *T. solium* y *T. crassiceps*, ordenadas por peso molecular (kD).

Intervalo de localización de banda (kD)	Orden de localización en <i>T. solium</i>	Orden de localización en <i>T. crassiceps</i>	Banda *
276-280	3	1	278
256-260	6	2	258
246-260	8	3	248
231-235	10	5	233
221-225	11	7	223
206-210	13	9	208

* Identificación de banda por KD medio (Larralde y col., 1989).

Se ha reportado que el fluido vesicular de *T. crassiceps* es más sensible (100 %) y específico (86%) que el de *T. solium*, para el diagnóstico de neurocisticercosis por ensayo inmunoenzimático e inmunoblott (Rossi y col., 2000; Pardini y col., 2002).

Considerando que los cisticercos de *T. solium* comparten antígenos con los cisticercos de *T. crassiceps* y que la obtención de estos es más fácil y bajo condiciones controladas, se ha propuesto el uso de antígenos de cisticercos de *T. crassiceps* como una alternativa en el diagnóstico de neurocisticercosis, en suero y fluido cefalorraquídeo, en sustitución de antígenos de *T. solium* (García y col, 1995; Pardini y col., 2002).

4.3 Neurocisticercosis

La neurocisticercosis es una enfermedad causada por la presencia de larvas de *T. solium* (cisticercos) en el sistema nervioso central.

Esta enfermedad se adquiere por la ingestión de huevecillos de *T. solium*, presentes en alimentos o agua contaminada (Del Brutto y col., 1998).

El hombre, al ser el único portador de la *Taenia* adulta, es considerado el principal factor de transmisión de la enfermedad.

Las principales acciones del hombre que propician la transmisión de la cisticercosis son:

- a) Fecalismo al aire libre, que provoca la contaminación de alimentos, agua, aire, moscas y otros vectores.
- b) Irrigación de los sembradíos de verduras y algunas frutas con aguas negras urbanas o suburbanas.
- c) Fertilización directa de algunos cultivos con heces fecales humanas.

La enfermedad prevalece en las zonas geográficas donde extensas plantaciones de frutas y vegetales alternan con grandes ranchos de ganado porcino.

4.3.1 Epidemiología

Las estadísticas oficiales informan que la incidencia nacional de neurocisticercosis es de 0.6 por cada 100,000 habitantes y cada año se reporta un promedio de 500 nuevos casos. La neurocisticercosis es catalogada como causa de muerte en un 40 a un 80% de los pacientes diagnosticados.

En México, estudios de autopsia han demostrado que del 2.5% al 3.6% de la población tienen neurocisticercosis. La frecuencia de neurocisticercosis reportada por los hospitales de México es alta, notificándose hasta 8.6 pacientes con esta enfermedad por cada 100 hospitalizados. En las series de necropsias se ha encontrado que hasta 2 453 por 100.000 habitantes tenían esta enfermedad, señalándose que hasta el 43.3% de los casos eran asintomáticos. De estos casos un 80% fueron hallazgos de autopsia (Sarti, 2002).

4.3.2 Manifestaciones clínicas

La neurocisticercosis es una enfermedad pleomórfica. Dicho pleomorfismo se debe a diferencias individuales en el número y localización de los parásitos, así como a la amplia variación que existe en la respuesta inmune del huésped frente al parásito. Las manifestaciones clínicas de la neurocisticercosis son amplias, desde asintomáticas hasta cuadros neurológicos graves, representados por epilepsia, síndrome de cráneo hipertensivo, afección de pares craneales, alteraciones motoras y fenómenos isquémicos.

En particular, la epilepsia es la manifestación clínica más frecuente de la neurocisticercosis, observándose en el 50% a el 80% de los casos (Del Brutto, 1997).

4.3.3 Clasificación de la neurocisticercosis

Sotelo y col. (1985 y 1997b), han propuesto una clasificación con base en las formas activas e inactivas de la neurocisticercosis (NCC). En la **Tabla 2** se muestra la clasificación de la neurocisticercosis, que parece ser la más adecuada ya que facilita el diagnóstico de las diversas formas de esta enfermedad y permite un abordaje terapéutico racional para cada una de las formas clínicas

Tabla 2. Clasificación de la neurocisticercosis

Formas de la enfermedad	Frecuencia en 753 pacientes con NCC (%)
Activas	
Aracnoiditis	48
Hidrocefalia secundaria a inflamación meníngea	26
Quistes parenquimatosos	13
Infarto secundario o vasculitis	2
Efecto de masa debido a quiste gigante o acumulo de quistes	1
Quiste intraventricular	1
Quistes espinales	1
Inactivas	
Calcificaciones parenquimatosas	58
Hidrocefalia secundaria a fibrosis meníngea	4

(Ref. Sotelo, y col. 1985)

4.3.4 Tratamiento

El tratamiento de la neurocisticercosis depende de que el cisticerco se encuentre viable (activo) o en forma cicatrizal como granuloma o calcificación. En formas activas el tratamiento farmacológico es exitoso, mientras que en granulomas el tratamiento antiparasitario es innecesario. En este, se recomienda el tratamiento con antiepilépticos y/o glucocorticosteroides, ya que estas calcificaciones están asociadas comúnmente con crisis convulsivas.

El tratamiento con fármacos cisticidas como praziquantel y albendazol es el de elección en pacientes con formas activas de NCC parenquimatosa (Sotelo y Flisser, 1997).

4.4 Albendazol

El albendazol es un antihelmíntico de amplio espectro, que ha mostrado eficacia para el tratamiento de la neurocisticercosis.

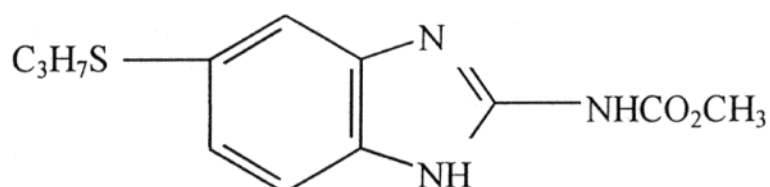
4.4.1 Propiedades Físicoquímicas

Nombre químico: metil [5- (propiltio)-1H-benzimidazol -2 -il] carbamato

Nombres comerciales: Bendapar, Digenazol, Zentel

Fórmula condensada: C₁₂ H₁₈ N₃ O₂ S

Fórmula estructural:



Peso molecular: 265.342

Apariencia: polvo blanco amorfo

Solubilidad: insoluble en agua, soluble en dimetilsulfóxido, ácido acético, metanol, cloroformo, acetato de etilo y acetonitrilo, así como en soluciones acuosas fuertemente ácidas o básicas.

Punto de fusión: entre 208 y 210 °C

Estabilidad: estable a temperatura ambiente (The Merck Index, 1996)

4.4.2 Farmacocinética

4.4.2.1 Absorción

El albendazol tiene baja disponibilidad sistémica, esto se debe a problemas en la absorción (Marriner y col., 1986; Jung y col., 1992). La vía de absorción de albendazol es gastrointestinal, siendo esta muy variable e irregular, aunque puede mejorar si se administra con alimentos grasos (Lange y col., 1988).

Se absorbe preferentemente en el estómago con una cinética de absorción de orden cero (Jung, 1998).

4.4.2.2 Distribución

Una vez absorbido, en el hombre, el ALB se metaboliza en el hígado a sulfóxido de albendazol (SOALB), que es el metabolito activo a nivel sistémico. Estudios de unión a proteínas demostraron que el albendazol se une en un 89-92% a proteínas plasmáticas, mientras que el sulfóxido se une en un 62-67 % (Jung, 1998). El SOALB cruza barrera hematoencefálica, por lo que se detecta un alto porcentaje en líquido cefalorraquídeo (LCR). Estos niveles, al igual que los de plasma presentan una gran variabilidad interindividual, misma que no esta relacionada con la edad ni el sexo. Se ha determinado en pacientes con NCC, la concentración en LCR y en plasma de ALB, en el estado estacionario. Después de un régimen de ALB de 15 mg/kg/día, dividida en tres dosis, la concentración en plasma de ALB fue de 0.918 µg/mL y en LCR de 0.392 µg/mL, esta última, representa el 43 % de la concentración presente en plasma (Jung y col., 1990).

4.4.2.3 Metabolismo

El albendazol se metaboliza extensamente en hígado hasta la forma de SOALB que genera potente actividad antihelmíntica. La formación del sulfóxido de albendazol es catalizada por la flavina monoxigenasa microsómica y en menor magnitud por algunas formas del citocromo P450.

Parte del sulfóxido es oxidado todavía más hasta generar el metabolito sulfona que es farmacológicamente inactivo (Jung, 1998).

Las concentraciones en plasma de SOALB presentan gran variabilidad interindividual, debido a la baja solubilidad del fármaco ($<1 \mu\text{g/mL}$ en agua a pH 7.4).

Homeida y col. (1994), evaluaron la influencia de prazicuantel sobre la farmacocinética del albendazol en voluntarios sanos; los individuos recibieron una dosis oral única de prazicuantel (40 mg/Kg), albendazol (49 mg/Kg) o la combinación de ambos a las mismas dosis. Los resultados mostraron que la farmacocinética del prazicuantel no fue significativamente afectada por la coadministración de albendazol, sin embargo la concentración de SOALB fue 4.5 veces mayor cuando fue administrado conjuntamente con el prazicuantel (Homeida y col., 1994).

Las explicaciones farmacocinéticas de estos resultados no son del todo claras, sin embargo, estos resultados son promisorios para futuros ensayos en la terapia de la cisticercosis al combinar ambos fármacos cisticidas.

4.4.2.4 Eliminación

Las concentraciones de sulfóxido de albendazol en el hígado son bajas, careciendo de importancia esta vía de eliminación. Los metabolitos de albendazol son eliminados principalmente por excreción renal.

El aclaramiento renal de sulfóxido de albendazol en voluntarios se ha reportado entre 158 a 809 mL/h, después de un periodo de 8 h, mientras que la excreción urinaria acumulada en 24 h fue de 0.09 a 0.88% de la dosis total. Esto refleja la lenta eliminación del sulfóxido de albendazol en el organismo (Marriner y col., 1986).

Se ha determinado que la vida media de eliminación de SOALB en pacientes con neurocisticercosis varía entre 10 y 15 h (Jung y col., 1992). Así mismo en voluntarios sanos la vida media de eliminación del SOALB es de 8.8 ± 4.2 (Nagy y col., 2002).

Schipper y col. (2000), observaron que la administración conjunta de albendazol con cimetidina en voluntarios sanos prolonga la vida media de eliminación del SOALB de 7.4 ± 3.3 h a 19.0 ± 11.7 h.

4.4.3 Propiedades farmacológicas

Hasta hace poco tiempo el albendazol era empleado exclusivamente en taeniasis, parasitosis y ascariasis intestinales. Fue hasta 1979 cuando se utilizó para el tratamiento de la hidatidosis. En 1987 se demostró su efectividad en el tratamiento de la neurocisticercosis (NCC) y debido a su bajo costo se consideró el fármaco de elección en este tipo de tratamiento (Rivera y Sotelo, 1999).

La dosis de albendazol comúnmente empleada en el tratamiento de la NCC parenquimatosa es de 15 mg/kg/día, dividida en 2 dosis, cada 12 horas, durante 8 días. Se ha encontrado que ocho días de terapia con albendazol permite la eliminación eficaz del 80% al 85% de los cisticercos localizados en parénquima (Del Brutto, 1993; Sotelo y Flisser, 1997).

Dado que el SOALB penetra en el espacio subaracnoideo mejor que el PZQ, ello explica en parte los mejores resultados terapéuticos obtenidos con albendazol que con PZQ, en el tratamiento de NCC parenquimatosa (Jung y col., 1990). También se ha observado que es efectivo en quistes localizados en el espacio subaracnoideo y en medula espinal (Del Brutto y col., 1992; Corral y col., 1996; Mohanty y col., 1997).

Otros estudios indican que el albendazol es efectivo en la cisticercosis ocular y ventricular (Proano y col., 1997).

Recientemente se comparó la eficacia de el ALB y de el PZQ en NCC parenquimatosa. Se evaluó un régimen terapéutico de 15mg/Kg/día durante 7 días con ALB y 100 mg/Kg, dividida en tres dosis cada 2 horas con PZQ. Diez pacientes fueron tratados con ALB y diez con PZQ. El número de cisticercos fue disminuido de 64 a 7 en pacientes tratados con ALB y de 59 a 24 en los pacientes tratados con PZQ. Los resultados mostraron que no hubo diferencia significativa en el número de pacientes que mejoraron con una terapia u otra, sin embargo la desaparición en el número de cisticercos fue más efectiva con ALB (Del Brutto y col., 1999).

Se ha observado la eficacia de albendazol en la etapa postoperatoria en pacientes con hidatidosis pulmonar para prevenir la recurrencia de la enfermedad (Kurkcuoglu y col., 2002).

El albendazol también es eficaz para tratar casos inoperables de quistes hidatídicos y en la profilaxis antes de su extirpación quirúrgica (Gil-Grande y col., 1993).

4.4.4 Mecanismo de acción

Se han propuesto diferentes mecanismos de acción para los benzimidazoles que están contenidos en tres categorías:

- 1) Inhibición de la enzima fumarato-reductasa
- 2) Inhibición del transporte de glucosa
- 3) Interrupción de la función microtubular

Los estudios realizados sobre este último mecanismo sugieren que la interrupción de la función microtubular representa un mecanismo primario de la acción del fármaco (Lubega y Prichard, 1990; Webbe, 1994).

Un estudio realizado *in vitro* demostró que el SOALB y el ALB se unen a las proteínas del citoesqueleto de *Plasmodium falciparum*, inhibiendo la polimerización de microtubulos (Dieckmann-Schuppert y Franklin, 1989).

El albendazol es efectivo contra *Giardia spp in vitro*, provocando una distorsión en la morfología y la estructura general del parásito. Por otro lado, inhibe la actividad de los microtúbulos, aparentemente de forma irreversible (Morgan y col., 1993). Este mismo efecto también se ha observado en protoscolices de *Echinococcus granulosus* al ser incubados *in vitro* con sulfóxido de albendazol (Pérez-Serrano y col., 1995).

El efecto de SOALB y ALB sobre los microtúbulos conduce a la pérdida de estos elementos en el citoplasma de las células, ocasionando un daño en la captación de la glucosa y una disminución del glucógeno celular, lo cual repercute en los niveles energéticos del parásito, que son indispensables para su supervivencia.

4.4.5 Efectos adversos

El ALB ocasiona pocos efectos adversos si se utiliza por corto tiempo. Los efectos más comunes son diarrea, mareos, náusea y vómito. En menor medida se presenta, cefalea y estreñimiento. En tratamientos prolongados, el albendazol puede producir daño hepático y caída de cabello. No se recomienda su uso en casos de disfunción hepática.

Otros efectos que han sido señalados en una terapia prolongada son: dolor gastrointestinal, cefaleas intensas, fiebre, fatiga, leucopenia y trombocitopenia.

Es teratogénico y embriotóxico en animales. por lo que no se recomienda su uso en mujeres embarazadas (Tracy y Wabster, 1996).

En el tratamiento de NCC se reportan una serie de efectos colaterales como son, cefalea, nauseas y crisis convulsivas, que no se deben al fármaco propiamente sino a la intensa reacción inflamatoria del huésped ante la destrucción del parásito. Con el fin de aminorar la incidencia de efectos adversos que surgen por reacciones inflamatorias a los cisticercos moribundos se recomienda la administración de corticoesteroides durante varios días antes de comenzar la terapia con albendazol (Sotelo, 1997a; Del Brutto y col., 1998).

4.5 Prazicuantel

El prazicuantel es un derivado pirazinoisoquinolínico sintetizado en 1972. Este fármaco posee actividad antihelmíntica en céstodos y tremátodos, pero no en nemátodos. Se ha utilizado principalmente en cisticercosis humana desde 1980 (Sotelo y col., 1984).

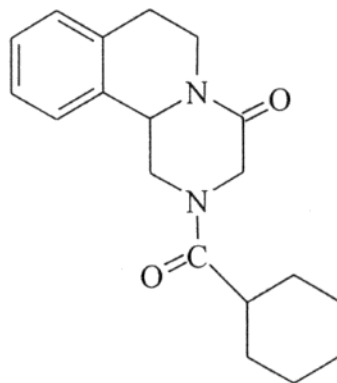
4.5.1 Propiedades fisicoquímicas

Nombre químico: 2-(ciclohexilcarbonil)-1,2,3,6,7,11b-hexahidro-4H-pirazino[2,1-a] isoquinolein-4-ona.

Nombres comerciales: Cesol, Cisticid, Ehiliten

Fórmula condensada: $C_{19}H_{24}N_2O_2$

Fórmula estructural:



Peso molecular: 312.41 g/mol

Apariencia: compuesto cristalino incoloro, casi inodoro de sabor amargo

Solubilidad: prácticamente insoluble en agua (0.04g/100mL), soluble en dimetilsulfóxido y en la mayoría de los compuestos orgánicos

Punto de fusión: entre 136-139 °C

Estabilidad: estable a temperatura ambiente, inestable a la luz e higroscópico (The Merck Index, 1996).

4.5.2 Farmacocinética

4.5.2.1 Absorción

Después de la administración oral, el PZQ se absorbe rápidamente en el tracto gastrointestinal.

En el hombre se absorbe entre el 80 y el 84% y las concentraciones séricas máximas se obtienen entre 1 y 2 horas después de la administración oral de PZQ.

La concentración plasmática de PZQ se incrementa al ser administrado con una dieta rica en carbohidratos (Castro y col., 2000).

4.5.2.2 Distribución

Debido a su elevada solubilidad lipídica, la distribución de PZQ es rápida. Las concentraciones máximas en plasma se presentan a los 30 minutos después de su administración. La velocidad de eliminación en plasma se correlaciona con la rápida eliminación en todos los órganos. Estudios de paso a barrera placentaria muestran que la incorporación de PZQ dentro del feto es muy baja (0.3%) con respecto a los demás órganos.

Aproximadamente de un 80 a 85% de PZQ se une a proteínas plasmáticas. Las concentraciones en leche materna alcanzan alrededor del 25% de las concentraciones plasmáticas (Rivera y Sotelo, 1999).

El prazicuantel penetra rápidamente en líquido cefalorraquídeo (LCR) y lentamente dentro del parásito. En cerebro sólo llegan pequeñas cantidades de entre 1/8 y 1/3 comparadas con las obtenidas en plasma (Del Brutto y col., 1998).

Overbosch y col. (1987), emplearon un régimen de dosificación de 75 mg/kg/día y encontraron que las concentraciones en LCR son aproximadamente el 10% de las concentraciones en plasma.

En un estudio realizado en pacientes con NCC se determinaron las concentraciones de PZQ en LCR y en plasma, después de un régimen de PZQ de 50 mg/kg/día dividida en tres dosis, la concentración de PZQ en plasma fue de 1.64 µg/mL y en LCR fue de 0.398 µg/mL. La concentración en LCR representó el 24 % de la concentración plasmática (Jung y col., 1990).

4.5.2.3 Metabolismo

Después de su administración oral, el prazicuantel se metaboliza por vía hepática, siendo este proceso dependiente de la dosis. Los principales metabolitos detectados en plasma son productos hidroxilados (Hogemann y col., 1990).

Solo una pequeña fracción del fármaco inalterado llega a la circulación sistémica.

Se ha observado que la administración simultánea de dexametasona y PZQ disminuye la concentración en plasma de este último en un 50% (Vázquez y col., 1987; González-Ezquivel y col., 1994).

La biodisponibilidad del PZQ disminuye por acción de inductores de los citocromos hepáticos P450. Se ha evaluado la influencia de los antiepilépticos sobre el metabolismo del PZQ (particularmente carbamazepina y fenitoina), los cuales son potentes inductores enzimáticos hepáticos. Los resultados mostraron que ambos fármacos reducen considerablemente la biodisponibilidad del PZQ, aunque el mecanismo de acción no está determinado. Por lo anterior se recomienda que la dosis de PZQ en pacientes que no ingieren otros fármacos que induzcan el sistema enzimático microsomal hepático sea de 25 mg/kg y en aquellos tratados con inductores enzimáticos hepáticos, la dosis sea de 50 mg/kg, con el fin de mantener concentraciones efectivas en LCR (Bittencourt y col., 1992).

Por otro lado, la administración simultánea de PZQ y cimetidina, que es un inhibidor del citocromo P450, duplica las concentraciones plasmáticas del primero. Estos resultados ponen de manifiesto que el uso de ambos fármacos mejora la efectividad del tratamiento con PZQ administrado durante en el régimen de un solo día (Castro y col., 1997).

En un estudio realizado en 30 pacientes con infección por *Schistosomae japonicum*, se demostró que después de la administración de tres dosis de 20 mg/kg de PZQ en intervalos de 1 hora, la C_{max} y la biodisponibilidad del PZQ se incrementaron un 100% en pacientes con daño hepático moderado y un 300% en aquellos pacientes con la forma grave de la enfermedad, en comparación con individuos sin enfermedad hepática. Lo anterior pone de manifiesto la importancia del sistema citocromo P450 presente en hígado, el cual juega un papel vital en las reacciones de hidroxilación del PZQ (Watt y col., 1988).

4.5.2.4 Eliminación

La vida media de eliminación del PZQ oscila entre 1 y 3 horas, pero puede prolongarse en sujetos con hepatopatía grave, en los cuales en ocasiones amerita un ajuste de dosis (Del Bruto y col., 1998). En promedio, el 70 % de la dosis oral de PZQ se excreta en forma de metabolitos en orina, en término de 24 horas, y el resto de la dosis se metaboliza en el hígado y se elimina por la bilis (Tracy y Wabster, 1996).

El PZQ se excreta por la leche materna en un 0.008% de la dosis administrada. Las concentraciones fueron 4 veces menores a las encontradas en plasma y siguen la misma cinética que en plasma (Putter y Held, 1976).

4.5.3 Propiedades farmacológicas

El PZQ se encuentra clasificado como un antihelmíntico de amplio espectro, clínicamente eficaz contra una amplia variedad de céstodos, incluyendo *Taenia solium*. Se ha reportado su efectividad en infecciones de *Schistosoma hematobium*, *S. mansoni*, *S. intercalatum*, *S. Japonicum*, *Hymenolepis nana* y otros tremátodos (Groll, 1984; Juan y col., 2002).

Prazicuantel es un fármaco con demostrada acción cestocida, tanto en estudios experimentales como en pacientes; en un reciente estudio clínico se observó que la respuesta inflamatoria del huésped juega un papel primordial en la destrucción del parásito previamente dañado por PZQ (García-Domínguez y col., 1991).

En 1984 Sotelo y col., demostraron la eficacia del PZQ en el tratamiento de la neurocisticercosis parenquimatosa. El esquema más aceptado en este tipo de NCC ha sido la administración de una dosis de PZQ de 50 mg/Kg/día, durante 15 días.

En pacientes con NCC parenquimatosa, se ha observado que después de un tratamiento de 50 mg/kg/día con PZQ, se logra destruir más del 60% de los cisticercos detectados por neuroimagen. (Sotelo y col., 1988; Sotelo y Del Brutto, 1989; Del Bruto, 1993).

En un estudio clínico controlado, donde se comparó la eficacia de albendazol contra prazicuantel en el tratamiento de la NCC parenquimatosa, se encontró que el albendazol es discretamente más efectivo que el prazicuantel, destruyendo entre 80% y 90% de cisticercos localizados en parénquima, comparado con el 60% y 70% de cisticercos destruidos con el prazicuantel (Sotelo y col., 1990). Sin embargo, no hay evidencia suficiente que permita concluir que el albendazol es definitivamente superior que el PZQ para el tratamiento de esta forma de neurocisticercosis.

El prazicuantel también ha sido usado en el tratamiento de neurocisticercosis del cuarto ventrículo. Proano y col. (1997), evaluaron la eficacia terapéutica de la administración de prazicuantel, después de un curso de albendazol, en pacientes con NCC del cuarto ventrículo, que no completaron la desaparición de cisticercos. Los resultados mostraron que el albendazol es el fármaco de elección en este tipo de neurocisticercosis (Mehta y col., 1998).

4.5.4 Mecanismo de acción.

El PZQ destruye los parásitos por medio de una alteración en los eventos biológicos moleculares, que pueden describirse en detalle, pero el proceso todavía no se ha integrado totalmente en el contexto bioquímico. Se ha observado que en *Cysticercus fasciolaris*, el PZQ penetra la pared del parásito provocando la destrucción del tegumento y el escólex.

Los efectos observados en diferentes especies de parásitos van desde el aumento en la actividad vascular, seguido de contracciones tónicas hasta una parálisis total; el segundo efecto observado es una extensa vacuolización, vesiculación y degeneración del tegumento de parásito. La vacuolización y la vesiculación degenerativa activan los mecanismos de defensa del huésped y producen la destrucción de los parásitos.

En *Schistosoma masoni*, el PZQ ocasiona la contracción total del parásito, quizá como resultado de un cambio en la permeabilidad de sus membranas celulares (Groll, 1984).

Se ha reportado que el PZQ causa alteraciones en el metabolismo de los parásitos, como es la disminución en la captura de glucosa, liberación de lactato, contenido de glucógeno y contenido de ATP; todos estos efectos pueden ser atribuidos directa ó indirectamente a una causa simple: una alteración en la homeostásis intracelular del Ca^{++} del parásito. De tal forma que, el PZQ

desestabiliza la membrana provocando un incremento en la permeabilidad para los cationes mono y divalentes, particularmente para el Ca^{++} .

El PZQ puede alterar la homeostásis del Ca^{++} , interactuando con la membrana de fosfolípidos y provocando la transición del ión calcio a una estructura empaquetada hexagonalmente que no es una barrera funcional para la permeabilidad del ión (Harnett, 1988; Day y col., 1992).

4.5.5 Efectos adversos

Después de la administración de PZQ pueden surgir molestias tales como dolor abdominal, náusea, mareos y somnolencia, los cuales son transitorios y dependen de la dosis, en ocasiones surgen efectos indirectos como fiebre, urticaria, erupciones, etc.

En neurocisticercosis las reacciones inflamatorias al PZQ pueden producir meningismo, convulsiones, cambios psíquicos y pleocitosis del líquido cefalorraquídeo. Tales efectos suelen aparecer tardíamente, durar dos ó tres días y mejorar con la terapéutica sintomática apropiada como la utilización de antiinflamatorios, analgésicos y anticonvulsivos.

Otros efectos adversos incluyen somnolencia, anorexia y trastornos gastrointestinales. Dichas complicaciones desaparecen inmediatamente después de finalizar el tratamiento.

Es inocuo en niños mayores de 4 años. No existen datos de que sea mutágeno o carcinógeno. Las dosis altas de PZQ incrementan la frecuencia de abortos en ratas, de tal forma que no se recomienda durante el embarazo, ni en periodo de lactancia (Tracy y Wabster., 1996).

Watt y col. (1988), encontraron una correlación entre las concentraciones elevadas de PZQ (mayores a 3 mg/L) en pacientes con enfermedad hepática y la aparición de efectos adversos como son: somnolencia, cefalea, dolor abdominal, náusea, diarrea, fiebre y vómito; siendo estos efectos moderados y transitorios.

4.6 Estudios relacionados con prazicuantel y albendazol

Estudios *in vitro*

Los efectos de PZQ y ALB, han sido evaluados en diversos tipos de céstodos, tanto en sistemas *in vitro*, como *in vivo*.

Un estudio *in vitro* sobre *Echinococcus multilocularis* demostró que PZQ y SOALB, reducen la viabilidad de las larvas hasta un 10%, cuando se exponen a concentraciones de 10 µg/L de PZQ o 500 µg/L de SOALB (Taylor y Morris, 1988b).

García-Domínguez y col. (1991), evaluaron el efecto *in vitro* de PZQ sobre cisticercos de *Taenia solium*. Ellos observaron que el PZQ tiene un efecto dependiente de la dosis en la evaginación de cisticercos. Un 50% de los cisticercos presentó evaginación a concentraciones entre 10^{-9} y 10^{-8} M, a altas concentraciones el fármaco indujo parálisis en los cisticercos evaginados y a bajas concentraciones una parálisis parcial. Este efecto fue reversible después que fueron lavados y cultivados nuevamente. *In vivo*, el efecto de PZQ se conjunta con la respuesta del sistema inmune para eliminar al parásito.

Saldaña y col. (2001), encontraron que la concentración mínima inhibitoria *in vitro* de PZQ y ALB, sobre la gemación y segmentación en *Mesocestoides vogae*, es de 0.06 µg/mL para PZQ y 0.1 µg/mL para ALB, esta se obtuvo después de 12 y 15 días de exposición respectivamente.

Estudios sobre la combinación de PZQ y ALB

Se han realizado pocos trabajos donde ha sido evaluado el efecto de la combinación de estos dos fármacos.

Taylor y Morris (1988a), evaluaron la combinación de sulfóxido de albendazol y prazicuantel sobre la viabilidad de larvas de *Echinococcus granulosus* en cultivos *in vitro*. Ellos observaron que la combinación es más efectiva que cada fármaco por separado.

La combinación de PZQ y ALB ha mostrado mayor efectividad en el tratamiento de hidatidosis experimental, que el uso de cada uno por separado, observándose una eficacia del 100% para la

combinación, en contraste con una eficacia del 78.1% cuando PZQ se empleó solo (Mohamed y col., 1998; Casado y col., 2001; Moreno y col., 2001).

En la enfermedad de hidatidosis vertebral, se ha reportado el uso de PZQ y ALB como una terapia alternativa cuando los cisticercos no pueden ser removidos por cirugía. La combinación de ALB y PZQ parece ser más efectiva en el tratamiento de pacientes con hidatidosis espinal inoperable (Lam y col., 1997). También se ha reportado que la combinación es más efectiva que la monoterapia con ALB en el tratamiento pre-operatorio de hidatidosis intra-abdominal (Cobo y col., 1998).

La combinación de SOALB y PZQ se ha evaluado sobre larvas de *Echinococcus granulosus* en cultivo *in vitro*, encontrándose que la combinación es más efectiva que cada uno de ellos por separado (Taylor y Morris, 1988a). Otro estudio sobre este mismo céstodo, reporta que la combinación de una concentración de 0.1 µg/mL de PZQ y 10 µg/mL ALB, causa la disminución de la viabilidad en el 100% de los larvas, en un periodo de exposición de 15 días, contrastando con un 75 % cuando se usa PZQ 0.1µg/mL solo (Urrea-París y col., 2000).

La combinación de ALB y PZQ también ha sido evaluada en infecciones parasitarias de *Trichuris trichiura*, donde PZQ no mostró tener sinergismo o efecto antagónico con ALB. Se encontró que un régimen de 400 mg/día de ALB, durante 3 días, es la terapia más adecuada para la infección con *Trichuris* (Bale, 2000; Sirivichayakul y col., 2001).

V. PARTE EXPERIMENTAL

5.1 Reactivos, Materiales y Equipos

Reactivos

- Ácido clorhídrico. R.A., J.T. Baker.
- Antibiótico-antimicótico. GIBCO BRL (penicilina G, estreptomicina).
- Bicarbonato de sodio. Sigma Cell Culture.
- Dimetil sulfóxido. R.A.; Merck.
- Etanol. R.A., J.T. Baker.
- Hidróxido de sodio. R.A., J.T. Baker.
- Metanol. R.A., J.T. Baker
- Medio de cultivo Dulbecco's Modificado. Sigma Chemical.
- Suero fetal bovino. GIBCO BRL.
- Solución salina 0.9 % estéril. PISA.

Fármacos

- Estándar primario de albendazol. Lote: 100K1665, Sigma.
- Estándar primario de praziquantel. Lote 81K1804, Sigma.
- Estándar secundario de sulfóxido de albendazol, Lote: SH-1020. Sintetizado en departamento de Farmacia de la Facultad de Química, por el Dr. Rafael Castillo.

Materiales y equipos

- Frascos de cultivo de 50 ml. NUNCLON.
- Membranas de filtración de 0.22 μm . Millipore.
- Campana de flujo laminar. Modelo HB 2448, HOLTEN.
- Incubadora de temperatura controlada y con flujo de CO_2 . Modelo 304, NAPCO.
- Microscopio invertido. Modelo ICM 405, Zeiss.

- Microscopio estereoscópico. Modelo 569, Reichert.
- Balanza analítica. Modelo 1800, Sartorius.
- Baño de ultrasonido. Modelo PC-620R, Branson.
- Potenciómetro. Modelo 915, Fisher Scientific Accumet.
- Placa magnética. Modelo PC 353, Corning.
- Cromatógrafo de líquidos de alta resolución. Serie 1050, Modelo 7956AX, con detector de longitud de onda variable UV-Vis, Hewlett Packard.

Material biológico

- Carne de cerdo infectada naturalmente con cisticercos de *T. solium*, obtenida de una comunidad rural del Estado de Morelos.
- Cepa de *T. crassiceps* ORF (inoculada previamente en ratones hembras BALB/c).

5.2 Metodología

5.2.1 Obtención de cisticercos

Taenia crassiceps

Para llevar a cabo el presente estudio, el bioterio del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM, proporcionó un ratón hembra BALB/c, infestado con cisticercos de *T. crassiceps*. El ratón se sacrificó por dislocación cervical, se abrió la cavidad peritoneal y se extrajeron los cisticercos. La cavidad se lavó con solución salina 0.9% para remover todos los parásitos.

Los cisticercos, se mantuvieron por inoculación seriada de la siguiente manera: se suspendieron aproximadamente 30 parásitos en 0.5 mL de solución salina estéril al 0.9%, los cuales se inocularon por vía intraperitoneal a ratones hembras BALB/c de 5 semanas.

Los animales se mantuvieron en observación durante 2 meses, tiempo en el cual se obtiene una gran cantidad de parásitos. Una vez completado este periodo, se sacrificaron por dislocación cervical, se abrió la cavidad peritoneal y se extrajeron los cisticercos. La cavidad se lavó con solución salina 0.9% para remover todos los parásitos.

Los parásitos se depositaron en una caja petri y fueron lavados varias veces con solución salina estéril al 0.9%. Se mantuvieron a temperatura ambiente en solución salina estéril hasta el momento en que fueron utilizados.

Taenia solium

Los cisticercos de *Taenia solium* provenían de cerdos naturalmente infectados.

Los animales se sacrificaron y los cisticercos se extrajeron del músculo infectado, los parásitos se lavaron varias veces con solución salina estéril al 0.9% y se mantuvieron a temperatura ambiente y en solución salina hasta el momento en que fueron utilizados.

5.2.2 Preparación del medio de cultivo

Se pesaron 17g de medio de cultivo Dulbecco modificado, los cuales se disolvieron en 800 mL de agua destilada, se agregaron 3.7 g. de bicarbonato de sodio y se agitó hasta disolver. El pH del medio, se ajustó a 7.3 con hidróxido de sodio 0.1N y se aforó a 1000 mL con agua destilada.

A 900 mL de medio se le agregó 100 mL de suero fetal bovino y 10 mL de antibiótico-antimicótico GIBCO BRL (penicilina G, estreptomina).

El medio se filtró a través de membranas millipore de 0.22 μm de diámetro de poro. El medio de cultivo se mantuvo en refrigeración hasta el momento en que fue utilizado.

5.2.3 Estudios *in vitro*

5.2.3.1 Preparación de soluciones de PZQ, ALB y SOALB en medio de cultivo

Dado que el medio de cultivo es acuoso y que tanto PZQ, ALB y SOALB son insolubles en agua, se requirió el uso de disolventes como el etanol (Et-OH), metanol (Me-OH) y dimetil sulfóxido (DMSO), para su solubilización. El procedimiento fue el siguiente:

Prazicuantel

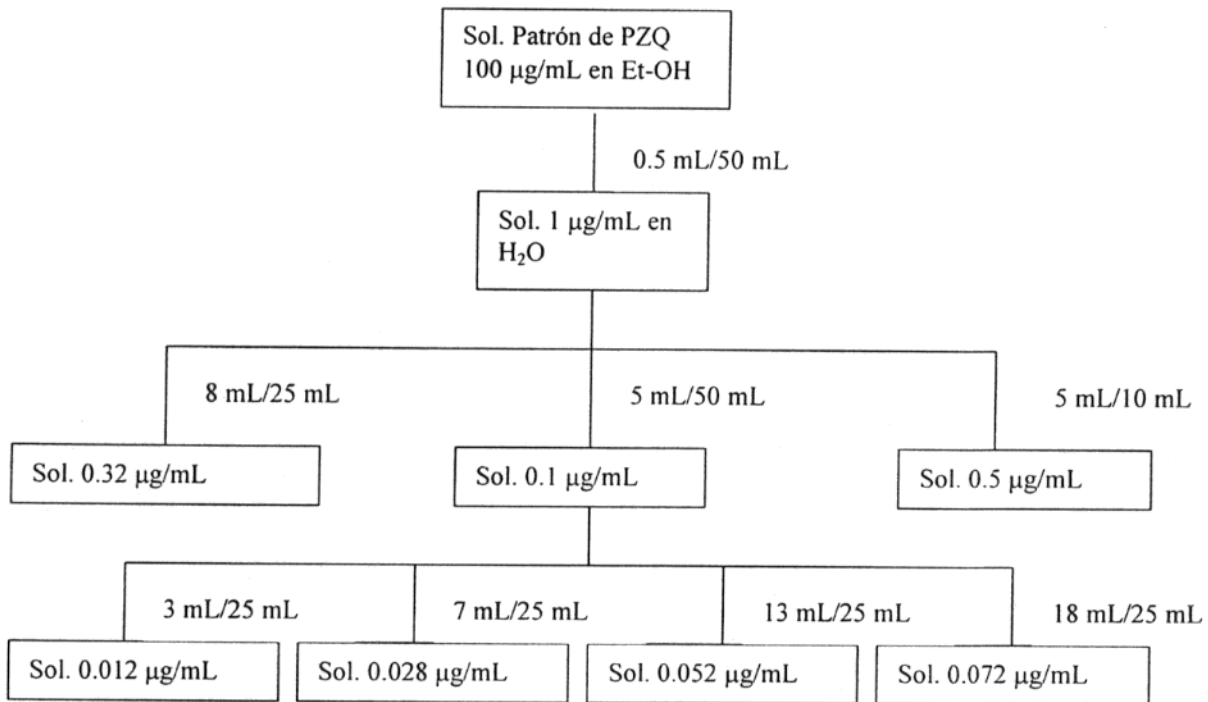
Preparación de la solución patrón

Se preparó una solución de PZQ 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ en etanol, de la siguiente manera:

Se pesaron 10 mg de PZQ y se transfirieron a un matraz volumétrico de 10 mL, se agregaron 5 mL de etanol y se disolvió utilizando un baño de ultrasonido. Posteriormente se aforó con etanol. Una alícuota de 1 mL se transfirió a un matraz volumétrico de 10 mL y se aforo con etanol. Esta solución contiene 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de PZQ.

Preparación de las soluciones de prueba

Se transfirieron 0.5 mL de la solución anterior a un matraz de 50 mL y se aforó con agua destilada. Esta solución contiene 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de PZQ. Para la obtener las concentraciones de prueba se tomaron alícuotas de esta última solución y se efectuó la dilución correspondiente con medio de cultivo Dulbecco, tal como se muestra en el **Esquema 1**. Como control se preparó una solución de etanol al 0.05% en medio de cultivo Dulbecco.



Esquema 1. Procedimiento para la preparación de soluciones de PZQ en medio de cultivo Dulbecco.

Albendazol

Preparación de la solución patrón

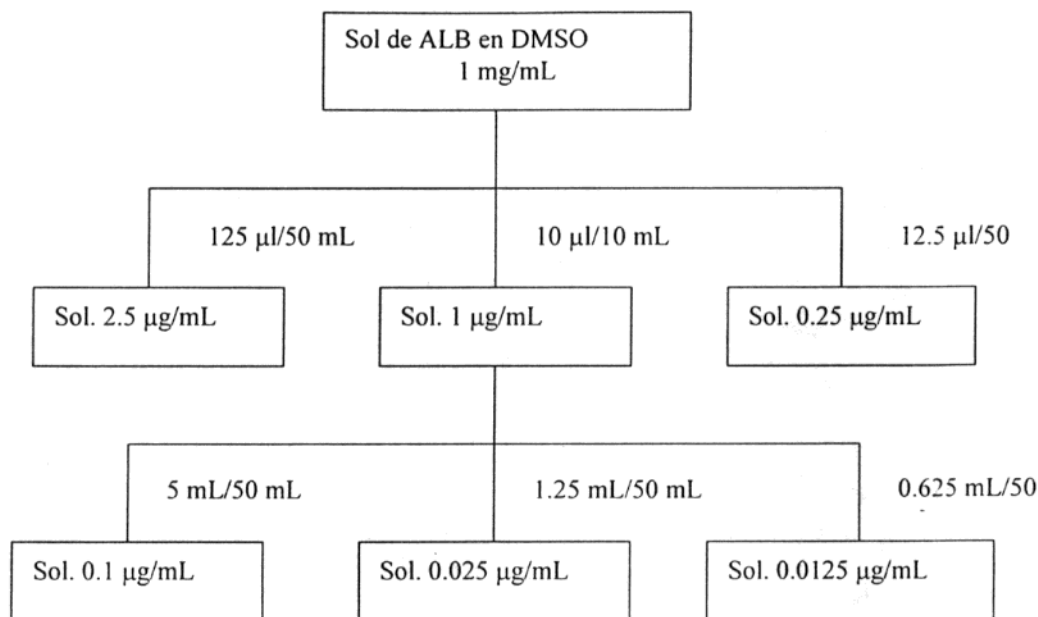
Se preparó una solución patrón de ALB 1 mg/mL en DMSO de la siguiente manera:

Se pesaron 10 mg de ALB y se transfirieron a un matraz volumétrico de 10 mL, se agregaron 5 mL de DMSO y se disolvió utilizando un baño de ultrasonido. Posteriormente se aforó con el mismo disolvente.

Preparación de las soluciones de prueba

Para obtener las concentraciones de prueba se tomaron alícuotas de esta solución y se efectuó la dilución correspondiente con medio de cultivo Dulbecco, tal como se muestra en el **Esquema 2**.

Como control se preparó una solución de DMSO al 0.125 % en medio de cultivo Dulbecco.



Esquema 2. Procedimiento para la preparación de soluciones de ALB en medio de cultivo Dulbecco.

Sulfóxido de Albendazol

Preparación de la solución patrón

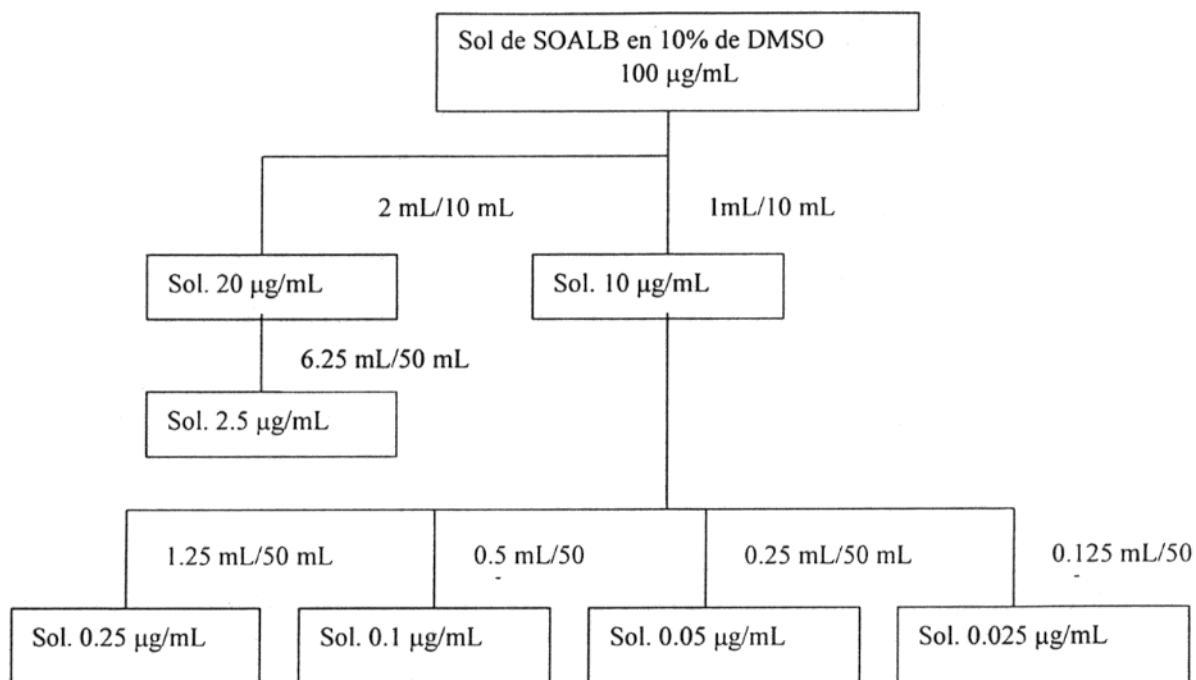
Se preparó una solución patrón de SOALB 100 µg/mL en DMSO de la siguiente manera:

Se pesaron 10 mg de SOALB y se transfirieron a un matraz volumétrico de 10 mL, se agregaron 5 mL de DMSO y se disolvió utilizando un baño de ultrasonido. Posteriormente se aforó con el mismo solvente. Una alícuota de 1 mL se transfirió a un matraz volumétrico de 10 mL y se aforó con agua.

Preparación de las soluciones de prueba

Para obtener las concentraciones de prueba se tomaron alícuotas de esta última solución y se efectuó la dilución correspondiente con medio de cultivo Dulbecco, tal como se muestra en el **Esquema 3**.

Como control se preparó una solución de DMSO al 0.25 % en medio de cultivo Dulbecco.



Esquema 3. Procedimiento para la preparación de soluciones de SOALB en medio de cultivo Dulbecco.

5.2.3.2 Determinación de la estabilidad de las soluciones de PZQ, ALB y SOALB en medio de cultivo

La determinación de la estabilidad de las soluciones de ALB, SOALB y PZQ en el medio de cultivo se realizó analizando las soluciones el día de su preparación, estas soluciones se mantuvieron en refrigeración (-4°C) por 5 días. El día 5 se analizaron nuevamente y los resultados se compararon con los obtenidos el día de su preparación. La determinación de las concentraciones de cada fármaco en medio de cultivo se realizó por HPLC.

5.2.3.3 Condiciones experimentales para el estudio *in vitro*

Una vez establecidas las concentraciones de PZQ, ALB y SOALB a evaluar, se prepararon las soluciones de cada fármaco en medio de cultivo, como se indicó anteriormente y se procedió a realizar los estudios *in vitro* de la manera siguiente: en condiciones de esterilidad (campana de flujo laminar), se colocaron en frascos de cultivo celular 5 mL de medio de cultivo conteniendo cada una de las diferentes concentraciones de prueba de cada uno de los fármacos. Posteriormente se depositaron cuidadosamente 25 cisticercos y se incubaron a 37 °C, en una atmósfera de 5% de CO₂. La viabilidad de los cisticercos se determinó por observación directa en las cajas de cultivo con ayuda de un microscopio de luz invertida. Los criterios de viabilidad fueron los siguientes:

- 1) Inmovilización de membrana.
- 2) Pérdida de fluido quístico y de movimiento del parásito.
- 3) Degeneración de membrana.

Cada experimento fue realizado por cuadruplicado.

5.2.3.4 Determinación del tiempo de exposición

Considerando que no existía información acerca del tiempo requerido para la exposición del parásito a los fármacos, se procedió a llevar a cabo el estudio de tiempo de exposición. Para ello se prepararon soluciones en medio de cultivo de PZQ en el rango de concentraciones de 0.012 a 0.3 µg/mL y soluciones de ALB y SOALB en el rango de 0.0125 a 2.5 µg/mL. Los cisticercos fueron expuestos a los fármacos, en las condiciones experimentales anteriormente mencionadas y se observó la mortalidad a diferentes tiempos. Para el PZQ, las observaciones se realizaron cada 15 min. y el estudio se realizó durante un periodo de 6 horas. En el caso de ALB y SOALB, el porcentaje de mortalidad se monitoreó primeramente cada 15 min durante 8 horas y posteriormente cada 24 horas, durante 12 días. Debido al largo tiempo de exposición para ALB y SOALB el medio de cultivo se cambió cada 24 horas.

5.2.3.5 Determinación de la concentración efectiva 50 (CE₅₀)

Una vez establecido el tiempo mínimo de exposición de los cisticercos a cada fármaco, se procedió a determinar la concentración efectiva 50 (CE₅₀) de PZQ, ALB y SOALB. Para ello se prepararon soluciones de cada uno de estos fármacos en medio de cultivo a las siguientes concentraciones:

0.012, 0.028, 0.052, 0.072, 0.1 y 0.3 µg/mL para PZQ y 0.0125, 0.025, 0.05, 0.1, 0.25 y 2.5 µg/mL para ALB y SOALB. Los cisticercos fueron expuestos a los fármacos, en las condiciones experimentales anteriormente mencionadas y se observó la mortalidad. En el caso de PZQ se evaluó la mortalidad de cisticercos de *T. crassiceps*, a las 4 horas de exposición. Cuando se emplearon cisticercos de *T. solium*, la mortalidad se evaluó a las 6 horas de exposición.

Para ALB y SOALB, la mortalidad de cisticercos de *T. crassiceps*, se evaluó a los 11 días de exposición

A partir de esta información se elaboraron las curvas concentración–respuesta y se calculó la concentración efectiva 50 (CE₅₀).

5.2.3.6 Evaluación del efecto de la combinación de PZQ y SOALB

Considerando que SOALB es el metabolito activo de ALB, en el presente trabajo se llevó a cabo la evaluación del posible efecto sinérgico de la combinación de PZQ con SOALB.

Las combinaciones evaluadas fueron las siguientes: 0.012 µg/mL de PZQ + 0.025 µg/mL de SOALB y 0.028 µg/mL de PZQ + 0.1 µg/mL de SOALB.

A manera de control se evaluó la mortalidad de los cisticercos, utilizando las mismas concentraciones de PZQ y SOALB pero por separado.

La evaluación se llevó a cabo bajo las condiciones experimentales anteriormente mencionadas.

Debido a la diferencia en tiempo de exposición para los dos fármacos, se evaluó la mortalidad, cada 2 horas durante las primeras 8 horas de exposición y después cada 24 horas durante 11 días.

5.2.4 Análisis de resultados

La CE₅₀ se calculó mediante el análisis *logit* utilizando el programa estadístico SPSS versión 9.0

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación se presentan los resultados obtenidos en el presente trabajo.

6.1 Obtención de cisticercos

Cisticercos de *Taenia crassiceps*

Después de un periodo de 2 meses, se obtuvo un promedio de 4 a 5 mil cisticercos por ratón inoculado. El diámetro de cada cisticerco fue de 1 a 2 mm y su longitud de 2 a 5 mm. En la **Figura 8** se muestran los cisticercos de *Taenia crassiceps*, en la se puede observar que estos tienen la apariencia de un arroz pequeño.

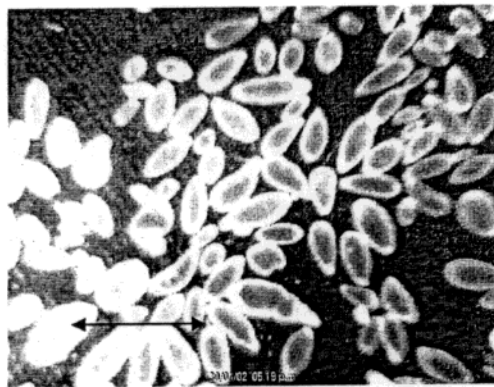


Figura 8. Cisticercos de *Taenia crassiceps*. (Escala 10 mm)

Cisticercos de *Taenia solium*

Los cisticercos de *Taenia solium* se extrajeron del músculo de cerdos naturalmente infectados. Como puede observarse en la **Figura 9**, estos son más grandes que los cisticercos de *T. crassiceps*, con un diámetro promedio de 4 a 8 mm. Se aprecia que los cisticercos de *T. solium* son de forma vesicular y que presentan un punto blanco en su interior que es su escólex invaginado.

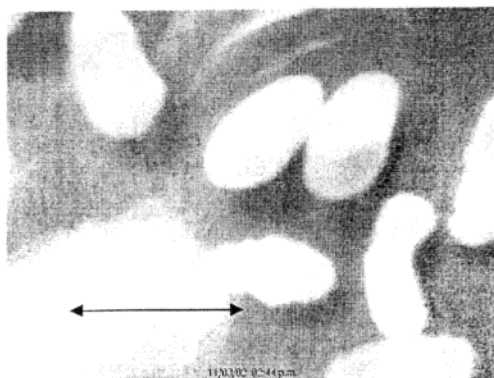


Figura 9. Cisticercos de *Taenia solium*. (Escala 10 mm)

6.2 Estudios *in vitro*

6.2.1 Preparación de soluciones de PZQ, ALB y SOALB en medio de cultivo

Al preparar las soluciones de prazicuantel, albendazol y sulfóxido de albendazol, se encontró que:

Prazicuantel

La solución de PZQ de 1 mg/mL en etanol, fue clara y transparente. Al efectuar las diluciones con agua y medio de cultivo de esta solución, no se presentó precipitación del PZQ. La concentración final de etanol en medio Dulbecco fue de 0.05%. Esta concentración no presentó efecto tóxico alguno sobre los cisticercos.

Albendazol

La solución de ALB de 1 mg/mL en DMSO, fue clara y transparente. Una vez preparada esta solución se transfirieron 5 mL de ésta a un matraz volumétrico de 10 mL, se le agregó 3 mL de metanol y se aforó con agua. Esta solución fue clara y transparente y al efectuar las diluciones en agua y medio de cultivo no se presentó precipitación del ALB. La concentración final de los disolventes en medio Dulbecco fue de 0.005% de DMSO y 0.125% de metanol. Esta concentración no presentó efecto tóxico alguno sobre los cisticercos.

Sulfóxido de Albendazol

La solución de SOALB de 1 mg/mL en DMSO, fue clara y transparente. Al efectuar las diluciones con agua y medio de cultivo no se presentó precipitación del SOALB. La concentración final de DMSO en medio Dulbecco fue de 0.25%. Esta concentración no presentó efecto tóxico alguno sobre los cisticercos.

6.2.2. Estabilidad de fármacos en medio de cultivo

Al evaluar la estabilidad de las soluciones de PZQ, ALB y SOALB en medio de cultivo Dulbecco, se encontró que después de 5 días en condiciones de refrigeración (-4 °C), se recuperó el 99.9% de la cantidad adicionada el día de la preparación. Por lo que se las soluciones son estables en condiciones de refrigeración por el lapso de tiempo anteriormente mencionado.

6.2.3 Efecto sobre la estructura del parásito

Prazicuantel

El primer efecto observado de PZQ sobre los cisticercos de *T. solium* y *T. crassiceps* fue el hinchamiento, seguido por una contracción casi inmediata de la membrana con la subsiguiente pérdida de fluido quístico. Esto se observó en los primeros minutos de exposición al fármaco, además de una extensa vacuolización de los tegumentos y finalmente la parálisis y muerte del cisticerco. En cisticercos de *T. solium* también se observó evaginación completa del escólex. Las Figuras 10, 11 y 12 muestran dichos efectos.

Los efectos de el PZQ se presentaron entre los primeros 15 y 30 min de incubación, esto se debe principalmente a su mecanismo de acción, el cual desestabiliza el equilibrio dinámico de iones Ca^{++} . El efecto de PZQ sobre cisticercos de *Taenia* coincide con lo reportado anteriormente para otras especies de céstodos como *Echinococcus granulosus* y *Echinococcus multilocularis*, donde se han observado cambios en la estructura del tegumento, pérdida de la turgencia de la membrana, disminución en la movilidad del parásito, contracciones y vacuolización de la membrana (Taylor y Morris, 1988a y 1988b ; Urrea-París y col., 2000).

La evaginación del escólex en los cisticercos *T. solium* se presentó a concentraciones mayores a 0.028 $\mu\text{g/mL}$. Este efecto fue observado anteriormente por García-Domínguez y col. (1991), a concentraciones menores a 0.003 $\mu\text{g/mL}$, en las que el 50% de los parásitos evaginaron.

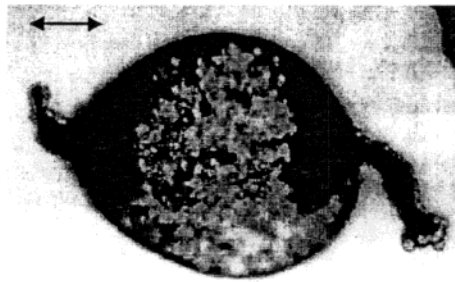
Albendazol y sulfóxido de albendazol

El ALB, afectó la estructura de los tegumentos en los cisticercos de *T. crassiceps*. El parásito presentó una contracción progresiva de la membrana tegumental, a consecuencia de la pérdida de fluido quístico, lo cual causó una disminución en el tamaño de los cisticercos hasta en un 70% del inicial, finalmente se presentó una parálisis total, con pérdida progresiva de la integridad de tegumentos. Observaciones realizadas con ayuda del microscopio de luz invertida, revelaron una extensa vacuolización de los tegumentos.

El efecto de el SOALB sobre los cisticercos de *T. crassiceps* fue similar al causado por ALB. Al igual que con los tratamientos con el ALB, se presentó una contracción gradual del parásito

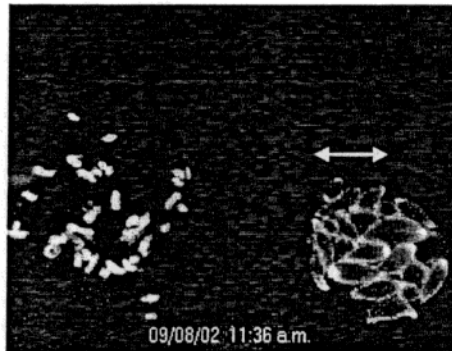
dependiente del tiempo de exposición, lo cual provocó finalmente la parálisis y muerte del cisticerco (**Figura 13 y 14**). Estos efectos ya observados en otras especies de céstodos, se relacionan con la alteración de la funcionalidad de la membrana, específicamente sobre la tubulina donde ejercen su acción los benzimidazoles (Lubega y Prichard, 1990). Ello afecta directamente la nutrición del parásito causando una pérdida lenta de las funciones biológicas del mismo.

En el presente estudio, no fue posible evaluar el efecto del ALB y SOALB sobre cisticercos de *T. solium*, ya que después de los primeros 5 días de incubación el 50% de los cisticercos se transforman a pequeñas *Taenias*, apreciándose incluso, con la ayuda de un microscopio, el escólex evaginado con las cuatro ventosas y su corona de ganchos. Estas *Taenias* jóvenes sólo sobrevivieron por 12 horas más. Los cisticercos que no evaginaron, no lograron sobrevivir al largo periodo de incubación. Lo mismo se observó tanto en los controles como en los que se encontraron bajo tratamiento con ALB y SOALB.



20/08/02 04:33 p.m.

Figura 10. Cisticercos de *T. solium*, evaginado. Tratamiento con PZQ 0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$. (Escala 1 mm)



09/08/02 11:36 a.m.

Figura 11. Cisticercos de *T. crassiceps*. Izq. Con tratamiento de PZQ 0.072 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Der. Control sin fármaco. (Escala 5 mm)

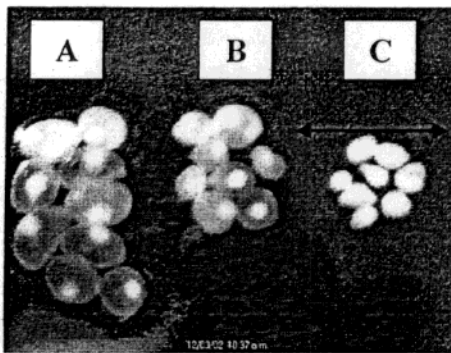


Figura 12. Efecto del tratamiento con PZQ en cisticercos de *T. solium*. A: Control sin fármaco B: 0.028 $\mu\text{g}/\text{mL}$, C: 0.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Después de 6 horas de exposición a PZQ. (Escala 10 mm)

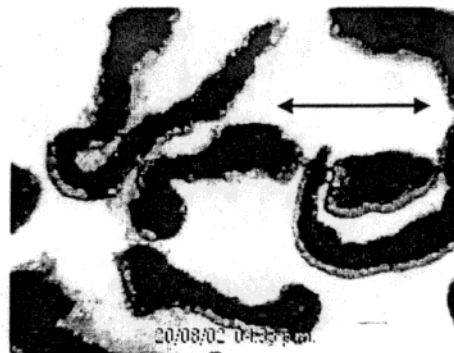


Figura 13. Cisticercos de *T. crassiceps* después de 11 días con tratamiento de ALB 0.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Se observa, completa contracción del parásito y ausencia de fluido quístico. (Escala 1 mm)

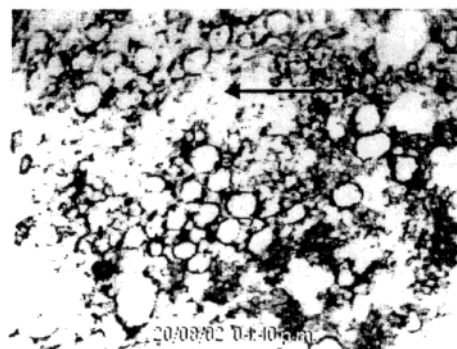


Figura 14. Membrana de cisticercos con tratamiento de SOALB 0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Se observa extensa vacuolización. (Escala 1 μ)

6.2.4 Determinación del tiempo de exposición

A continuación se muestran los resultados de la determinación del tiempo mínimo de exposición de los cisticercos de *T. crassiceps* y *T. solium* a PZQ, ALB y SOALB.

6.2.4.1 Determinación del tiempo de exposición de cisticercos de *T. crassiceps* a PZQ

En la **Figura 15**, se muestra la mortalidad de cisticercos de *T. crassiceps* frente a PZQ, en función del tiempo, en la cual se observa que el efecto se presentó desde los primeros 15 min de incubación.

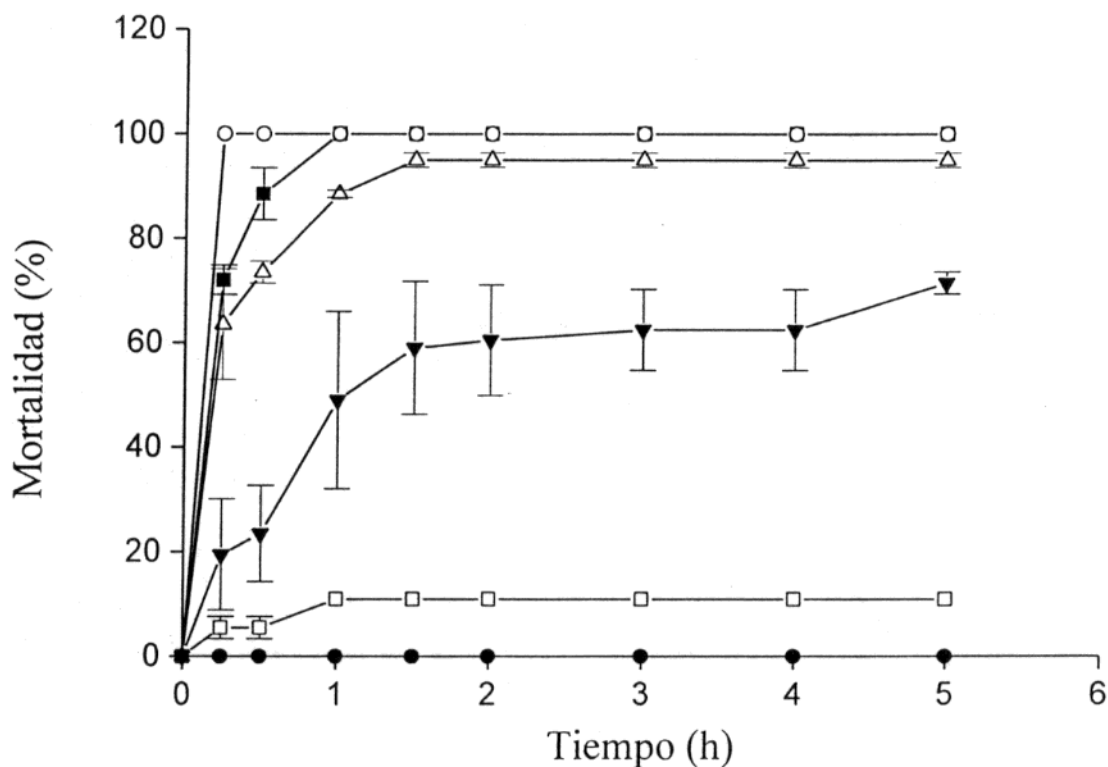


Figura 15. Efecto *in vitro* de prazicuantel sobre la mortalidad de cisticercos de *Taenia crassiceps*. Cada punto representa el porcentaje promedio de cisticercos muertos \pm D.E., $n=4$. Concentraciones de PZQ en $\mu\text{g/mL}$: 0.012 (\square), 0.028 (\blacktriangledown), 0.052 (Δ), 0.072 (\blacksquare), 0.1 (\circ) y control (\bullet).

Los cisticercos tanto en el medio de cultivo libre de fármaco como en el medio de cultivo con 0.05% de etanol permanecieron normales.

Los perfiles de mortalidad a las concentraciones evaluadas, fueron significativamente diferentes. Después de 1.5 horas el porcentaje de cisticercos muertos no se incrementó significativamente y se presentó una meseta con todas las concentraciones de PZQ. Con base en estos resultados, para llevar a cabo los estudios de CE₅₀, se seleccionó un tiempo de 4 horas.

6.2.4.2 Determinación del tiempo de exposición de cisticercos de *T. crassiceps* a ALB y SOALB

Debido al lento efecto que presentaron tanto el ALB como el SOALB sobre los cisticercos de *T. crassiceps*, la evaluación se llevo a cabo cada 72 horas. Los resultados se muestran en la **Figura 16 y 17** en las cuales se puede observar el largo periodo requerido para obtener un efecto sobre los cisticercos.

Después de tres días de exposición se registró la muerte de los primeros cisticercos y no fue sino hasta los once días cuando se presento el efecto máximo. Como ya se mencionó antes esto se debe al tipo de mecanismo de acción de los benzimidazoles, el cual afecta directamente a las estructuras implicadas con la nutrición del parásito.

Con base en estos resultados, para llevar a cabo los estudios de CE₅₀, se seleccionó un tiempo de 11 días, con el fin de garantizar el efecto máximo, tanto para ALB como para SOALB.

En un estudio donde se evaluó el efecto de ALB y SOALB sobre *E. granulosus*, se encontró que para alcanzar el efecto máximo, se requirió hasta de 30 días, sin embargo, cuando se evaluó la combinación de ALB y SOALB, se requirió de un tiempo menor, observándose el efecto máximo a los 12 días de exposición (Pérez-Serrano y col., 1994). Al comparar estos datos con los resultados del presente estudio, se encontró que se requiere de un menor tiempo de exposición para cisticercos de *T. crassiceps* que para *E. granulosus*.

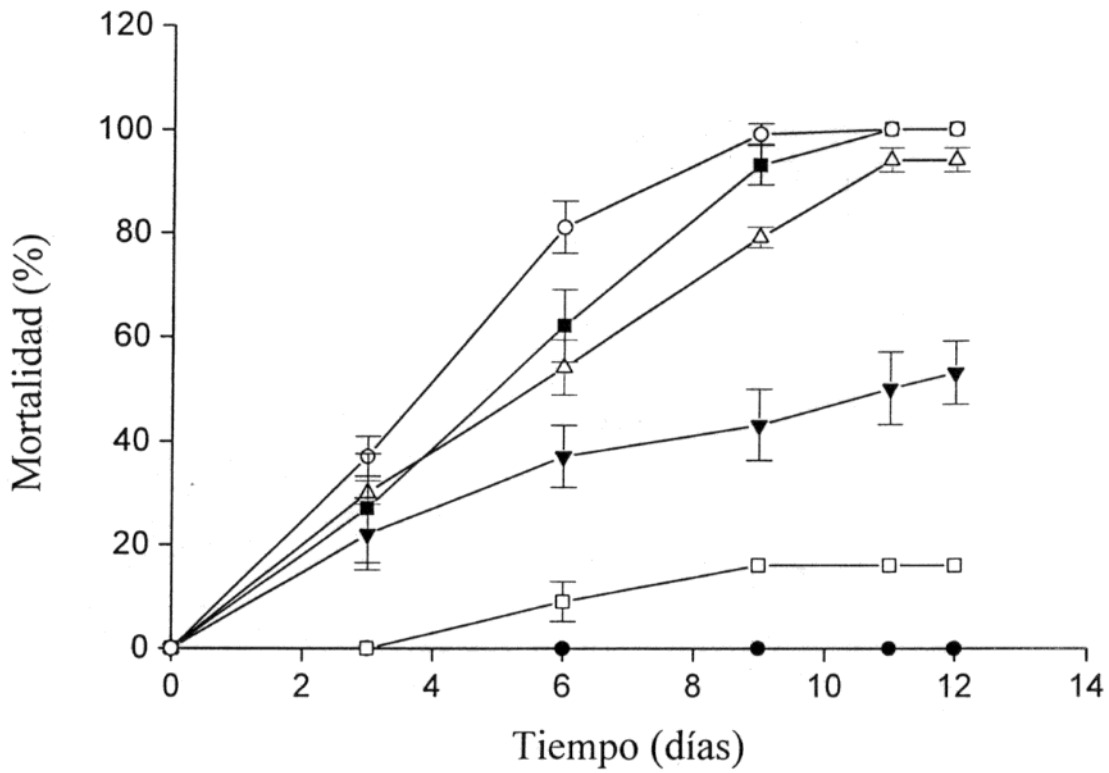


Figura 16. Efecto *in vitro* de albendazol sobre la mortalidad de cisticercos de *Taenia crassiceps*. Cada punto representa el porcentaje promedio de cisticercos muertos \pm D.E., $n=4$. Concentraciones de ALB en $\mu\text{g/mL}$: 0.0125 (□), 0.025 (▼), 0.1 (△), 0.25 (■), 2.5 (○) y control (●).

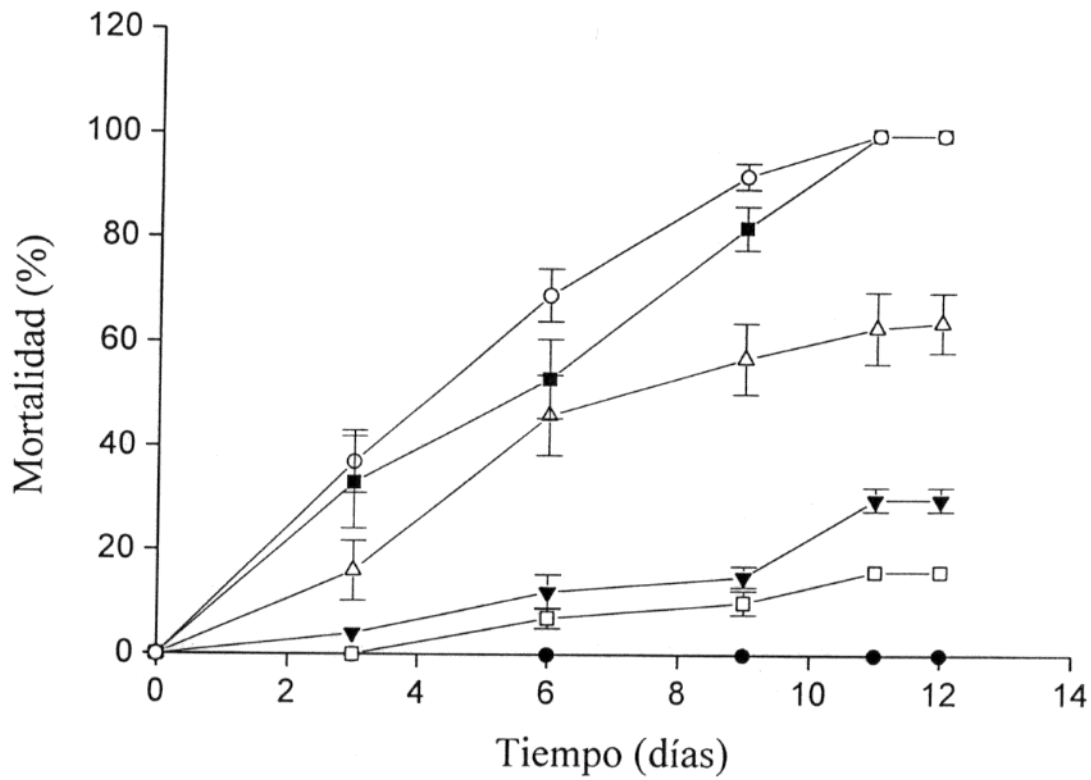


Figura 17. Efecto *in vitro* de sulfóxido de albendazol sobre la mortalidad de cisticercos de *Taenia crassiceps*. Cada punto representa el porcentaje promedio de cisticercos muertos \pm D.E., $n=4$. Concentraciones de SOALB en $\mu\text{g/mL}$: 0.025 (□), 0.05 (▼), 0.1 (Δ), 0.25 (■), 2.5 (○) y control (●).

6.2.4.3 Determinación del tiempo de exposición de cisticercos de *T. solium* a PZQ

En la **Figura 18**, se presentan las curvas de mortalidad de cisticercos *T. solium* con cada una de las concentraciones evaluadas de PZQ, se observa una clara diferencia en los perfiles de mortalidad. De la misma gráfica se puede observar que el efecto de PZQ fue ligeramente mas lento que el obtenido con cisticercos de *T. crassiceps*. Los primeros registros de mortalidad se presentaron después de 30 min de exposición. Después de 4 horas, el porcentaje de cisticercos muertos no se incrementó significativamente, por lo que se observó una meseta en la gráfica de mortalidad. Con base en estos resultados, para llevar a cabo los estudios de CE_{50} , se seleccionó un tiempo de 6 horas.

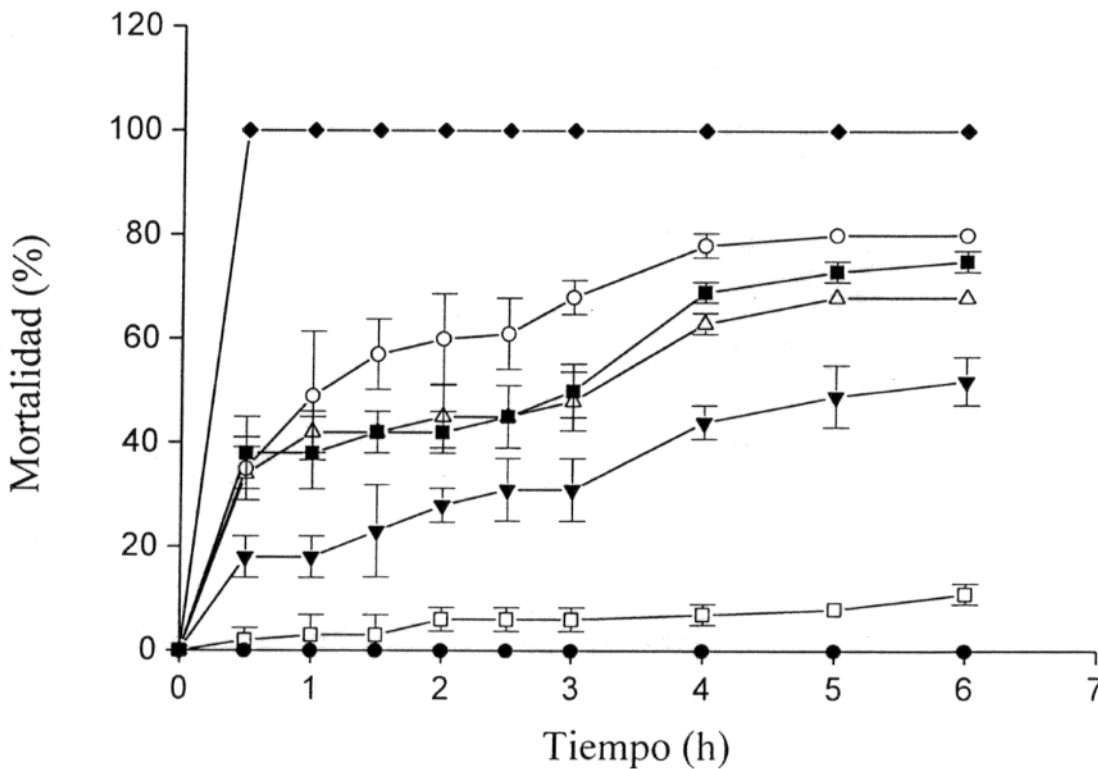


Figura 18. Efecto *in vitro* de prazicuantel sobre la mortalidad de cisticercos de *Taenia solium*. Cada punto representa el porcentaje promedio de cisticercos muertos \pm D.E., $n=4$. Concentraciones de PZQ en $\mu\text{g/mL}$: 0.012 (\square), 0.028 (\blacktriangledown), 0.052 (Δ), 0.072 (\blacksquare), 0.1 (\circ), 0.3 (\blacklozenge) y control (\bullet).

6.2.5 Análisis comparativo del efecto de PZQ sobre cisticercos de *T. crassiceps* y *T. solium*

Una vez determinado el porcentaje de mortalidad de los cisticercos de *T. solium* y *T. crassiceps* frente a PZQ, se llevó a cabo una regresión lineal con el fin de determinar si existía una relación entre la mortalidad de ambas especies

Los resultados se presentan en la **Figura 19**, en la que se observa que existe una buena correlación, con un coeficiente de determinación de 0.985. Considerando que la pendiente de la curva, representan la relación de mortalidad existente entre los cisticercos de las dos especies, ante PZQ, los resultados muestran que el PZQ es 1.36 veces mas efectivo sobre cisticercos de *T. crassiceps* que sobre cisticercos de *T. solium*.

De la información obtenida se encontró que los cisticercos de *T. crassiceps* son mas lábiles a los efectos de PZQ, lo cual puede deberse a que los cisticercos de *T. solium* presentan una membrana mas gruesa. Por otro lado el tamaño de los cisticercos de *T. crassiceps* fue por lo menos dos veces menor que los de *T. solium*.

La relación obtenida entre ambas especies, permite el uso de cisticercos de *T. crassiceps* para la evaluación de otros fármacos que actúen de igual forma que el PZQ y cuando no se tenga la facilidad de acceder a cisticercos de *T. solium*.

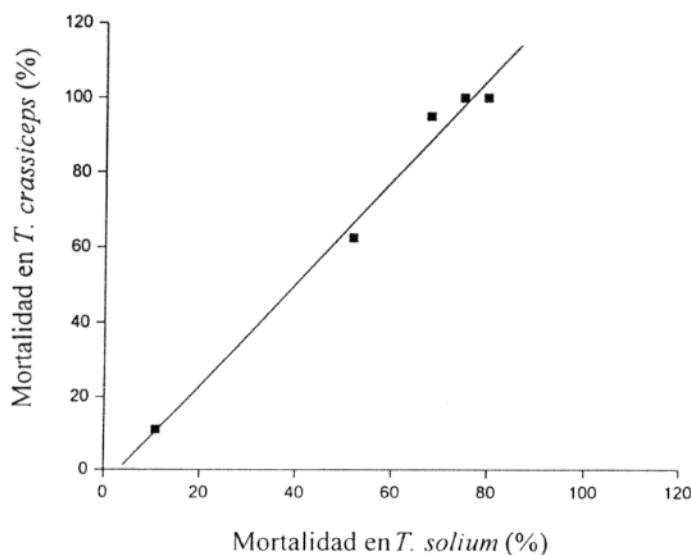


Figura 19. Relación de mortalidad obtenida en cisticercos de *T. solium* y *T. crassiceps* frente a PZQ.

6.2.6 Determinación de la concentración efectiva 50 (CE₅₀)

En la **Figura 20** se muestran las curvas obtenidas al graficar la mortalidad de cisticercos de *T. crassiceps* y de *T. solium*, contra el logaritmo de la concentración de los fármacos evaluados, en la que se observa que con cada fármaco se presentó un perfil de mortalidad diferente. Para el caso de PZQ y ALB a concentraciones menores de 0.025 µg/mL, se observa que la mortalidad es semejante, lo cual refleja una similitud en efectividad de estos dos fármacos, sobre cisticercos de *T. crassiceps*.

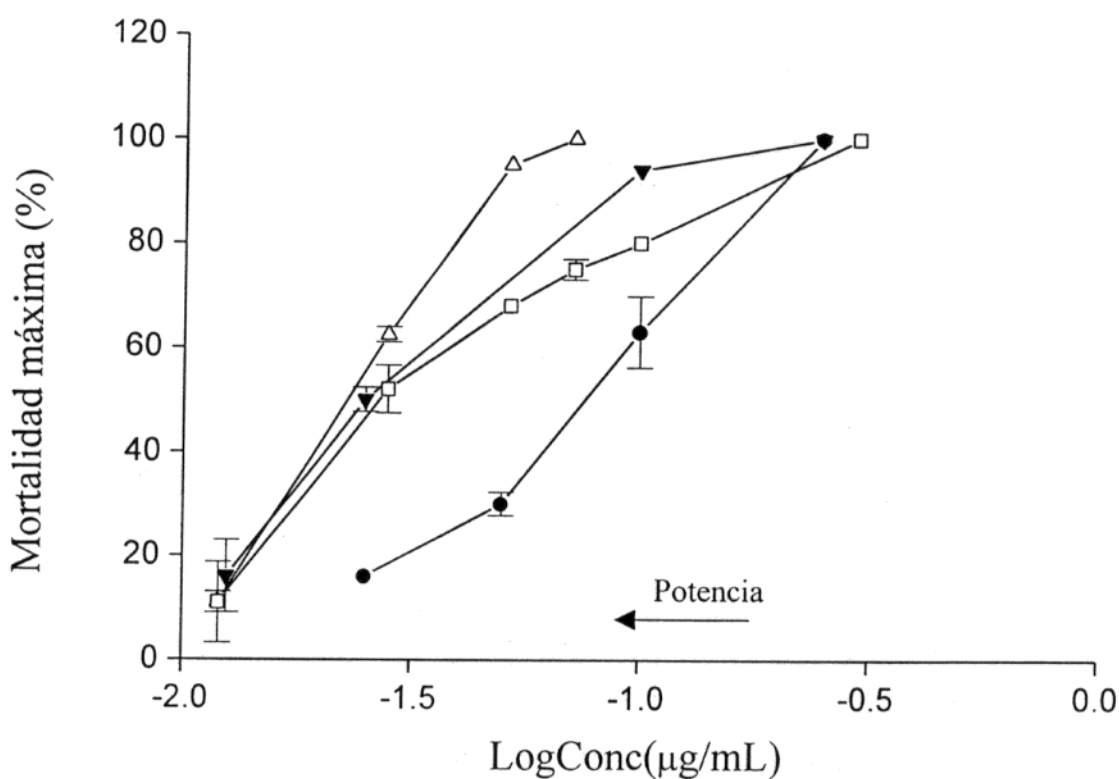


Figura 20. Curvas concentración-respuesta de: PZQ sobre cisticercos de *T. solium* (□) y sobre cisticercos de *T. crassiceps* (Δ), ALB sobre cisticercos de *T. crassiceps* (▼) y SOALB sobre cisticercos de *T. crassiceps* (●). Cada punto representa el porcentaje promedio de cisticercos muertos ± D.E., n=4.

De los resultados obtenidos en cisticercos de *T. crassiceps*, se encontró que el ALB es tan efectivo como el SOALB. Ambos lograron causar la muerte del 100% de los parásitos sin embargo el ALB fue más potente que SOALB, ya que a concentraciones menores se observó un mayor efecto; pese a ello, la situación *in vivo* es diferente, ya que el efecto cisticida se debe a SOALB.

El PZQ fue igualmente efectivo sobre cisticercos de *T. solium*, En la **Figura 20** se observa que se requirió de una mayor concentración de fármaco para alcanzar el 100% de la mortalidad de los cisticercos de *T. solium* que para los cisticercos de *T. crassiceps*.

Cálculo de CE_{50}

Los resultados de mortalidad de las curvas concentración-respuesta fueron expresados como valores *logit*, y se graficaron en función del logaritmo de la concentración, para obtener el valor de la concentración que produce el 50% de mortalidad de los cisticercos (CE_{50}) a través de un análisis de regresión *logit*, con los correspondientes intervalos de confianza. En la **Figura 21**, se muestran las curvas de ajuste para el PZQ, el ALB y el SOALB, en la que se observa la línea que pasa por el valor de *logit* de cero. Este valor interpolado en el eje de las ordenadas, representa el valor de CE_{50} .

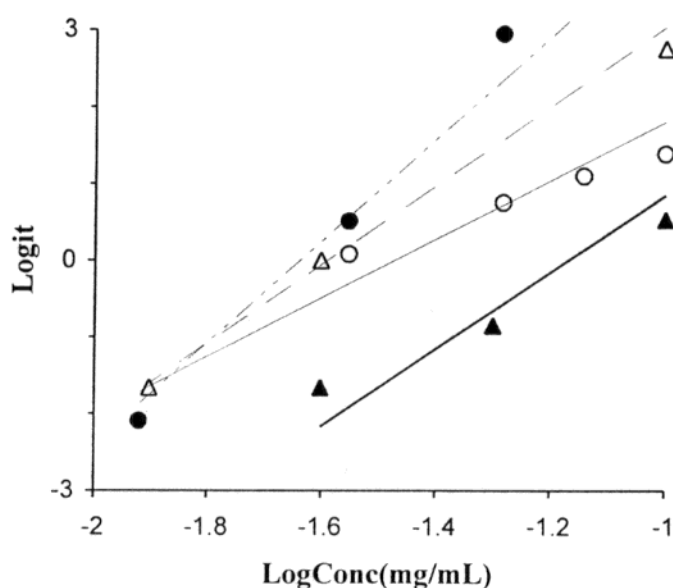


Figura 21. Curvas de ajuste obtenidas del análisis de regresión *logit*. PZQ sobre cisticercos de *T. solium* (○) y sobre cisticercos de *T. crassiceps* (●), SOALB sobre cisticercos de *T. crassiceps* (▲) y ALB sobre cisticercos de *T. crassiceps* (△). Cada punto representa el porcentaje promedio de cisticercos muertos \pm D.E., $n=4$.

En la **Tabla 3** se muestran las concentraciones efectivas 50 (CE_{50}) con sus respectivos intervalos de confianza al 95% ($IC_{95\%}$). En ella se observa que las CE_{50} del PZQ y del ALB no muestran diferencia estadística, ya que como puede apreciarse los intervalos de confianza se traslapan, por lo que se puede decir que tienen la misma efectividad cisticida sobre cisticercos de *T. crassiceps*. Para el caso de SOALB el valor de CE_{50} es significativamente mayor que el obtenido para PZQ y ALB, sobre la misma especie de cisticercos, por lo que el SOALB es menos efectivo sobre los cisticercos de *T. crassiceps*.

Tabla 3. Valores de CE_{50} y $IC_{95\%}$ para PZQ, ALB y SOALB.

Especie	Fármaco	CE_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	$IC_{95\%}$ ($\mu\text{g/mL}$)
<i>T. crassiceps</i>	PZQ	0.023	0.021 – 0.025
	ALB	0.026	0.022 – 0.029
	SOALB	0.068	0.041 – 0.112
<i>T. solium</i>	PZQ	0.034	0.023 – 0.045

Al comparar la CE_{50} del PZQ en cisticercos *T. solium* y *T. crassiceps*, se encontró que el valor de CE_{50} (0.034 $\mu\text{g/mL}$) es ligeramente mayor en cisticercos de *T. solium*, sin embargo no hay diferencia estadística entre ellos. Esto se puede deber a la variabilidad intrínseca en la respuesta biológica, por lo que se puede concluir que el PZQ posee la misma efectividad en ambas especies.

Para el caso del SOALB, la CE_{50} (0.068 $\mu\text{g/mL}$) fue casi el doble de la CE_{50} del ALB (0.026 $\mu\text{g/mL}$), lo cual refleja una mayor efectividad *in vitro* del ALB sobre cisticercos de *T. crassiceps*. Es importante considerar que el ALB tiene su efecto sobre céstodos y helmintos ubicados en el tracto gastrointestinal sin embargo, debido a que se metaboliza extensamente, solo se detectan en plasma trazas de ALB. El metabolito activo de ALB que se detecta en plasma y en LCR es el SOALB, al cual se le atribuye el efecto cisticida a nivel sistémico. Cabe mencionar que si el ALB se encontrara disponible en cantidades significativas en plasma y LCR, posiblemente la concentración requerida para ejercer el efecto cisticida sería menor, esto considerando los resultados del presente estudio.

En un estudio realizado en pacientes con NCC subaracnoidea, Góngora (2001) propone una concentración umbral de SOALB de 1.7 $\mu\text{g}/\text{mL}$ en plasma, relacionándola con una mayor desaparición de cisticercos. Considerando que un 43% de la concentración plasmática pasa a líquido cefalorraquídeo (Jung y col., 1990), la concentración en LCR sería de 0.73 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Por otro lado en el presente trabajo la concentración efectiva 99 de SOALB (CE_{99}), fue de 0.55 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (calculada por análisis *logit*). Esta concentración *in vitro* es muy cercana a la concentración umbral propuesta por Góngora.

También se ha reportado de la concentración de PZQ encontrada en plasma, entre 15 y 24% pasa líquido cefalorraquídeo (Jung y col., 1990 y 1997), por lo que su penetración es muy pobre, comparada con la de SOALB. Esto explicaría en parte, por que la efectividad clínica del ALB es mayor que la de PZQ, ya que *in vivo* factores como la permeabilidad a través de membranas son muy importantes.

6.2.7 Evaluación del efecto de la combinación de PZQ y SOALB

Los resultados de la evaluación de la combinación de PZQ y SOALB, se muestran en la **Figura 22** y **23**.

Los resultados muestran que con la combinación de PZQ 0.012 $\mu\text{g}/\text{mL}$ + SOALB 0.025 $\mu\text{g}/\text{mL}$ la mortalidad de los cisticercos de *T. crassiceps* se incremento significativamente al quinto, sexto y séptimo día de exposición (**Figura 22**). Sin embargo, pese a que en ese periodo la mortalidad observada con cada fármaco por separado como con su combinación, fue estadísticamente significativa, a nivel farmacológico no se puede hablar de un efecto sinérgico, ya que la suma de la mortalidad obtenida con cada fármaco por separado es mayor a la obtenida con la combinación.

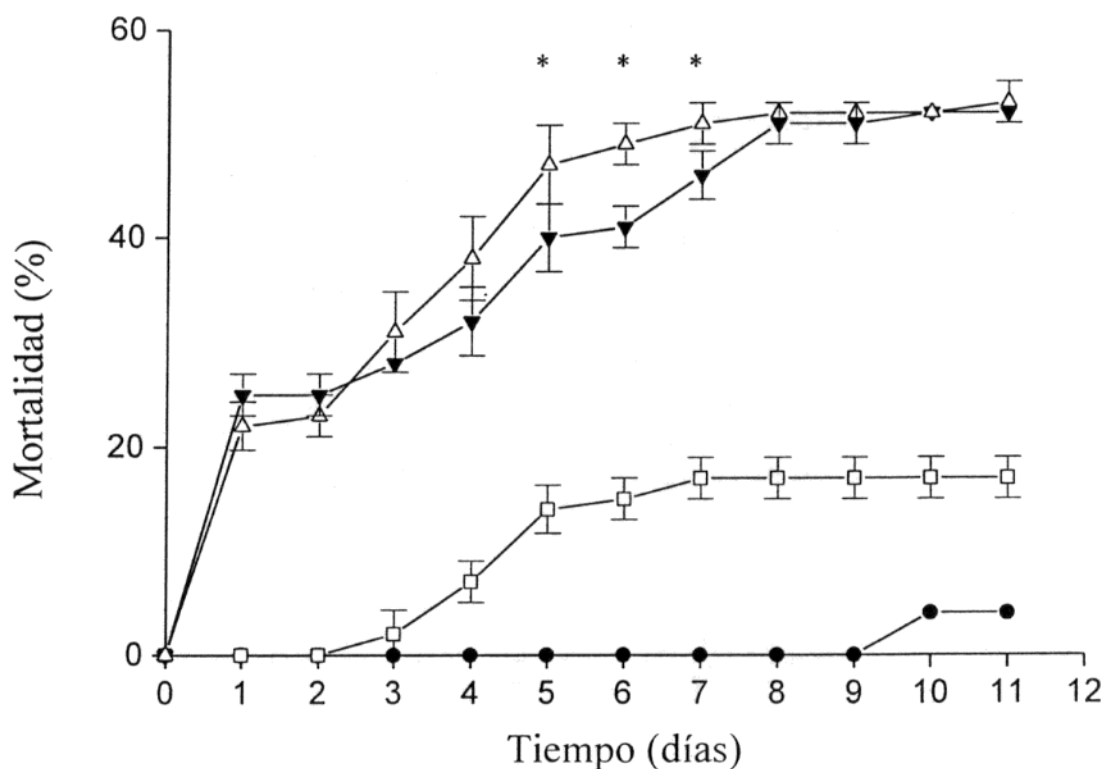


Figura 22. Efecto sobre la mortalidad de cisticercos de *T. crassiceps* de: combinación prazicuantel y sulfóxido de albendazol (0.012 $\mu\text{g}/\text{mL}$ + 0.025 $\mu\text{g}/\text{mL}$)(Δ), prazicuantel 0.012 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (\blacktriangledown), sulfóxido de albendazol 0.025 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (\square) y control (\bullet). Cada punto representa el porcentaje promedio de muertos \pm D.E.; n=4, * denota diferencia significativa a $P < 0.05$.

Así mismo al evaluar la combinación de PZQ 0.028 $\mu\text{g}/\text{mL}$ + SOALB 0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (**Figura 23**), se observó que al tercer y cuarto día de exposición la mortalidad de cisticercos de *T. crassiceps* fue mayor con la combinación que con cada fármaco por separado. En el día 3, la mortalidad con PZQ solo fue de 53% mientras que con SOALB fue de 5%, por lo que la suma de la mortalidad con cada fármaco por separado es de 58%. Este porcentaje es menor al obtenido con la combinación la cual fue de 62%. Esta potenciación se conservó hasta el día 4, en donde la mortalidad obtenida con la combinación fue mayor (81%) a la suma algebraica de la mortalidad obtenida con cada fármaco por separado (PZQ solo 60 % y SOALB solo 11%, suma algebraica 71%). De los resultados anteriores se puede hablar, a nivel farmacológico, de un efecto sinérgico de potenciación con esta combinación y que se presentó en dicho periodo de exposición.

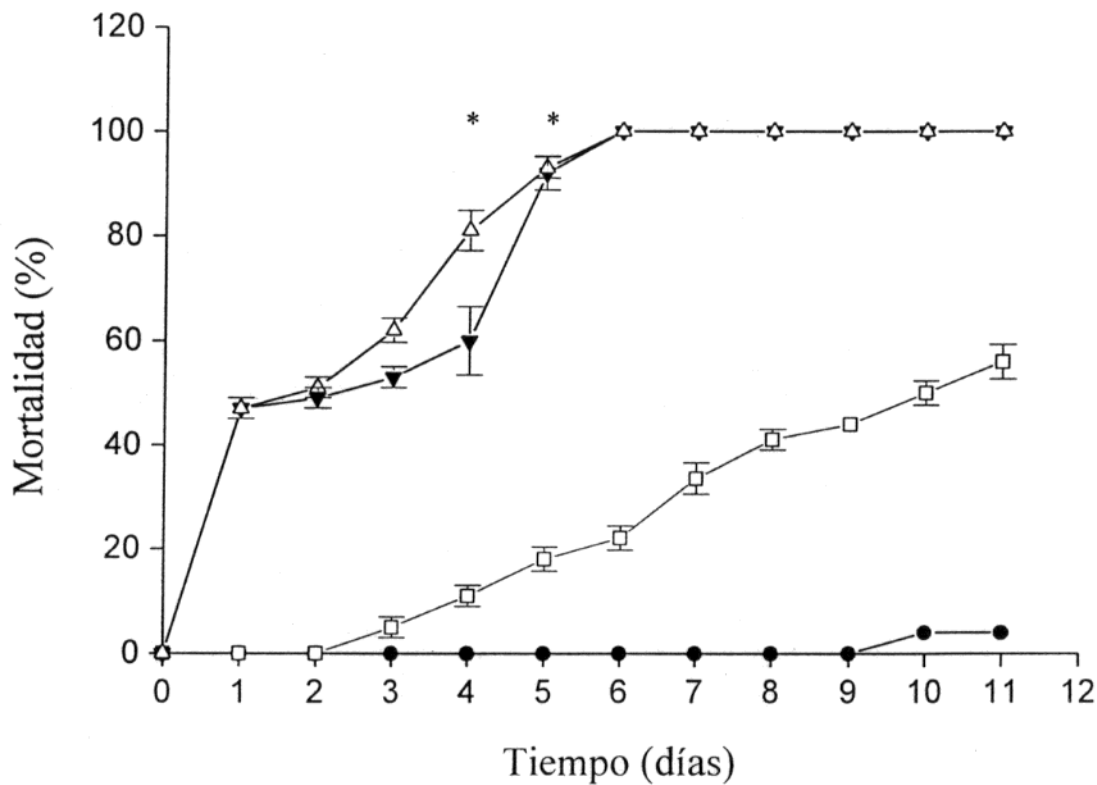


Figura 23. Efecto sobre la mortalidad de cisticercos de *T. crassiceps* de: combinación prazicuantel y sulfóxido de albendazol (0.028 $\mu\text{g}/\text{mL}$ + 0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$)(Δ), prazicuantel 0.028 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (\blacktriangledown), sulfóxido de albendazol 0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (\square) y control (\bullet). Cada punto representa el porcentaje promedio de cisticercos muertos \pm D.E.; n=4, * denota diferencia significativa a $P < 0.05$.

En el presente trabajo se muestra claramente que el PZQ es un agente cisticida extremadamente activo sobre cisticercos de *Taenia crassiceps* y que en combinación con SOALB, incrementa su efecto cisticida *in vitro*.

Los resultados de mortalidad mostraron diferencias con las dos combinaciones de PZQ y SOALB evaluadas, pero estas se observaron en días específicos, ya que la mortalidad final fue la misma tanto para la combinación como para cada fármaco por separado.

Así mismo, la combinación de PZQ y SOALB (0.028 µg/mL + 0.1 µg/mL) disminuyó el tiempo de exposición para obtener el efecto máximo con respecto al SOALB solo de 11 a 3 días.

Estos resultados concuerdan con un estudio *in vitro* realizado con *E. granulosus*, en el cual se observó que la combinación de ALB y PZQ es más efectiva que el uso de cada uno de ellos por separado, así como el tiempo para alcanzar el máximo efecto se redujo significativamente de 21 a 7 días (Taylor y Morris, 1988a).

En un estudio con pacientes con infección de *Trichuris trichiura*, la combinación de ALB y PZQ fue evaluada contra un tratamiento de albendazol solo. En este estudio el PZQ no presentó efecto sinérgico ó antagónico con albendazol (Sirivichayakul y col., 2001). De lo anterior se puede apreciar que la respuesta es diferente en cada especie de parásito y que la combinación de ambos no siempre incrementa el efecto cisticida.

En el ámbito clínico la selección de PZQ o de ALB, para el tratamiento de la NCC, depende de diversos factores, entre ellos la localización del parásito. Se recomienda el uso de ALB en caso de NCC parenquimatosa, subaracnoidea o espinal (Sotelo, 1997a). En el tratamiento de NCC parenquimatosa, Sotelo y col., observaron que un tratamiento de 8 días con PZQ, 50 mg/kg/día, logró eliminar un 40% del total de cisticercos detectados antes del tratamiento, mientras que un tratamiento de la misma duración con ALB, 15 mg/kg/día, logró disminuir el 85%. (Sotelo y col., 1990)

En el presente trabajo se encontró que el PZQ fue más efectivo *in vitro*, que el ALB y el SOALB, lo cual no concuerda con lo observado en la clínica. Ello podría deberse a muchos factores que determinan que el fármaco llegue a su sitio de acción, como son: el tiempo de vida media, el grado de absorción, unión a proteínas, metabolismo, etc. El PZQ tiene un tiempo de vida media corto (1 a 1.5 h), comparado con el SOALB (metabolito activo del ALB) que se encuentra entre 8 y 9 horas (Jung y col., 1991 y 1992; Tracy y Webster, 1996). Este factor influye en el tiempo que el fármaco permanece en contacto con el parásito.

Por otro lado, el PZQ sufre un extenso efecto de primer paso tras administrarse, lo cual disminuye su concentración en plasma y en LCR y aunado a esto casi el 90% de PZQ es excretado en las primeras 24 horas. Mientras que tras la administración de ALB, este sufre una rápida transformación a SOALB (metabolito activo), el cual pasa a la circulación y se ha reportado que tiene una mayor penetración a través de la barrera hematoencefálica.

La combinación de PZQ y SOALB *in vitro*, sobre cisticercos de *T. crassiceps*, mostró ser mejor que el uso de cada uno por separado, disminuyendo el periodo de exposición para alcanzarla mortalidad máxima. En el ámbito clínico, el uso simultáneo de ALB y PZQ, podría ayudar a disminuir la dosis y el periodo de tratamiento con estos dos fármacos, lo cual repercutiría directamente en el costo de la terapia. Para corroborar los resultados del presente trabajo se recomienda llevar a cabo un estudio clínico.

VII. CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos en el presente trabajo se puede concluir que:

- El prazicuantel es igualmente efectivo contra cisticercos de *T. crassiceps* y *T. solium*.
- El prazicuantel es más potente que el albendazol y el sulfóxido de albendazol.
- El albendazol es más potente que el sulfóxido de albendazol sobre cisticercos de *T. crassiceps*.
- Para lograr un efecto cisticida, se requiere un mayor tiempo de exposición al albendazol y al sulfóxido de albendazol que para el prazicuantel.
- El prazicuantel presentó un efecto dependiente de la concentración.
- El albendazol y el sulfóxido de albendazol presentaron un efecto dependiente del tiempo de exposición y de la concentración.
- La combinación de prazicuantel y sulfóxido de albendazol logro disminuir el tiempo de exposición para alcanzar la mortalidad máxima en relación al sulfóxido de albendazol solo.

Se recomienda llevar a cabo un estudio mas detallado en el cual se corrobore el efecto sinérgico del PZQ sobre SOALB observado en el presente trabajo, realizando curvas concentración respuesta de diferentes concentraciones de SOALB y de PZQ solos y en combinación.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

1. **Alarcón G. T. 1999a.** Etiología de la cisticercosis. In: Alarcón G.T. (ed.). Cisticercosis del Sistema Nervioso. Adad Cía Ltda, Ecuador. 29-42.
2. **Alarcón G.T. 1999b.** Manifestaciones clínicas. Cisticercosis en el adulto. In: Alarcón G.T. (ed.). Cisticercosis del Sistema Nervioso. Adad Cía Ltda, Ecuador. 79-106.
3. **Bale J.F. 2000.** Cysticercosis. *Curr. Treat. Options Neurol.* 2: 355-360.
4. **Bittencourt P., Gracia C., Martins R. 1992.** Phenytoin and carbamazepine decrease oral bioavailability of praziquantel. *Neurology.* 42: 492-496.
5. **Casado N., Urrea-París M., Moreno M., Rodríguez-Caabeiro F. 2001.** Combined praziquantel and albendazole chemoprophylaxis in experimental hydatidosis. *Parasitol. Res.* 87: 787-789.
6. **Castro N., González-Esquivel D., Medina R., Sotelo J., Jung H. 1997.** The influence of cimetidine on plasma levels of praziquantel after a single day therapeutic regimen. *Proc. West. Pharmacol. Soc.* 40: 33-34.
7. **Castro N., Medina R., Sotelo J., Jung H. 2000.** Bioavailability of praziquantel increases with concomitant administration of food. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 44: 2903-2904.
8. **Cobo F., Yarnoz C., Sesma B., Fraile P., Aizcorbe M., Trujillo R., Díaz-de-Linao A., Giga M. 1998.** Albendazole plus praziquantel versus albendazole alone as a pre-operative treatment in intra-abdominal hydatidosis caused by *Echinococcus granulosus*. *Trop. Med. Int. Health.* 3: 462-466.
9. **Corral Y., Quereda C., Moreno A. 1996.** Intramedullary cysticercosis cured with drug treatment. *Spine.* 21: 2284-2287.
10. **Chernin J. 1975.** The growth of the metacestodes of *Taenia crassiceps* in white mice. *J. Helminthol.* 49:297-300.
11. **Chernin J. 1977.** Aspects of the humoral response of laboratory white mice infected with the metacestodes of *Taenia crassiceps*. *J. Helminthol.* 51:137-142.
12. **Day T., Bennett J., Pax R., 1992.** Praziquantel: The enigmatic antiparasitic. *Parasitol. Today.* 10:342-344.
13. **Del Brutto O. H. 1993.** Medical management of neurocysticercosis. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 3: 133-137.
14. **Del Brutto O. H. 1997.** Epilepsia y neurocisticercosis. In: Arriaga R. C., Nogales-Gaete J., Werner A. Neurocisticercosis. Aspectos epidemiológicos, patológicos, inmunológicos, clínicos, imagenológicos y terapéuticos. Arrynog Ediciones, Santiago, Chile. 153-160.

15. **Del Brutto O.**, Sotelo J. **1987**. Neurocysticercosis. *Medicina de Hoy*. 6: 21-40.
16. **Del Brutto O.**, Sotelo J. Aguirre R. **1992**. Albendazole therapy for giant subarachnoid cysticerci. *Arch Neurology*. 49: 353-538.
17. **Del Brutto O. H.**, Sotelo J., Roman G. C. **1998**. Neurocysticercosis: A clinical handbook. Swets & Zeitlinger publisher. The Netherlands, Meppel. 113-136.
18. **Del Brutto O.**, Campos X., Sánchez J., Mosquera A. **1999**. Single-day praziquantel versus 1-week albendazole for neurocysticercosis. *Neurology* 52: 1079-1081.
19. **Dieckmann-Schuppert A.**, M. Franklin R. **1989**. Compounds binding to cytoskeletal proteins are active against *Plasmodium falciparum in vitro*. *Cell. Biology. Int. Report*. 13: 411-418.
20. **Dorais F.**, Esch G. **1969**. Growth rate of two *Taenia crassiceps* strains. *Exp. Parasitol.* 25: 395-398.
21. **Escobedo F.**, Penagos P., Rodríguez J., Sotelo J. **1987**. Albendazole therapy for neurocysticercosis. *Arch. Intern. Med.* 47: 738-741.
22. **Freeman R.** **1962**. Studies on the biology of *Taenia crassiceps*. (Zeder, 1800) Rudolphi, 1810 (Cestoda). *Can. J. Zool.* 40: 969-990.
23. **Freeman, R.**, Murray F., Shea M. **1973**. Intraocular *Taenia crassiceps* (cestoda) Part II . The parasite. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 22: 493-495.
24. **García E.**, Ordoñez G., Sotelo J. **1995**. Antigens from *Taenia crassiceps* cysticerci used in complement fixation, enzyme-linked immunosorbent assay, and western blot (Immunoblot) for diagnosis of neurocysticercosis. *J. Clin. Microbiol.* 12: 3324-3325.
25. **García-Domínguez C.**, Correa D., Rabiela M., Flisser A. **1991**. Praziquantel treatment of muscle *Taenia solium* cysticercosis. Reversible *in vitro* effect. *Parasitol. Res.* 77: 691-696.
26. **Gil-Grande L.**, Rodríguez-Cabeiro F., Prieto J. **1993**. Randomised controlled trial of efficacy of albendazole in intra-abdominal hydatid disease. *Lancet*. 342: 1269-1272.
27. **González-Ezquivel D.**, Sánchez-Rodríguez M., Sotelo J. **1994**. *In vitro* metabolic interaction between praziquantel and dexamethasone. *Pharmacol. Commun.* 4: 301-305.
28. **Góngora F.** **2001**. Tratamiento de la cisticercosis subaracnoidea e intraventricular con albendazol, ensayo clínico comparativo entre las dosis 15 y 30 mg/Kg/día. Tesis de especialidad en Neurología. UNAM.
29. **Groll E.** **1984**. Praziquantel. *Adv. Pharmacol. Chemot.* 20: 219-235.

30. **Gutiérrez Y. 1997.** *Cysticercus racemosus* type, *coenuros* and *sparganum* of the central nervous system. Biology, anatomy and clinical manifestation. In: Arriaga R. C., Nogales-Gaete J., Werner A. (eds), Neurocysticercosis. Aspectos epidemiológicos, patológicos, inmunológicos, clínicos, imagenológicos y terapéuticos. Arrynog Ediciones, Santiago. Chile. 31-44.
31. **Harnett W. 1988.** The anthelmintic action of praziquantel. *Parasitol. Today.* 5: 144-146.
32. **Hogemann A., Kiec-Kononowicz K., Westhoff F., 1990.** Microsomal oxidation of praziquantel. *Arzneimittel-Forsch.* 40:1159-1162.
33. **Homeida M., Leahy W., Ali M., Harron D. 1994.** Pharmacokinetic interaction between praziquantel and albendazole in sudanese men. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 88: 551-559.
34. **Juan J., López C., Gargala G., Favennec L. 2002.** Comparative clinical of nitazoxanide, albendazole and praziquantel. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 96: 1963-196.
35. **Jung H. 1998.** Absorption studies of albendazole and some physicochemical properties of the drug and its main metabolite albendazole sulphoxide. *J. Pharm. Pharmacol.* 50:43-48.
36. **Jung H., Hurtado M., Sánchez M. 1990.** Plasma and CSF levels of albendazole and praziquantel in patients with neurocysticercosis. *Clin. Neuropharmacol.* 13: 559-564.
37. **Jung H., Vázquez M., Sánchez M., Penagos P., Sotelo J. 1991.** Clinical pharmacokinetics of praziquantel. *Proc. West. Pharmacol. Soc.* 34: 335-340.
38. **Jung H., Hurtado M., Sánchez, M. 1992,** Clinical pharmacokinetic of albendazole in patients with brain cysticercosis. *Clin. Pharmacol.* 32: 28-31.
39. **Jung H., Medina R., Castro N., Corona T., Sotelo J. 1997.** Pharmacokinetic study of praziquantel administered alone and in combination with cimetidine in a single-day therapeutic regimen. *Antimicrob. Agents, Chemother.* 41: 1256-1259.
40. **Kurkcuoglu I., Eroglu A., Kaaraoglenoglu N. 2002.** Complications of albendazole treatment in hydatid disease of lung. *Eur. J. Cardiothorac Surg.* 22: 649-653.
41. **Lam K., Faraj A., Mulholland R. 1997.** Medical decompression of vertebral hydatidosis. *Spine.* 22: 2050-2057.
42. **Lange H., Wggers R., Bircher J. 1988.** Increased systemic availability of albendazole when taken with a fatty meal. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 34: 315-317.
43. **Larralde C., Montoya R., Shciutto E. 1989.** Deciphering western blots of tapeworm antigens (*Taenia solium*, *Echinococcus granulosus*, and *Taenia crassiceps*) reacting with sera from neurocysticercosis and hydatid disease patients. *Am. J. Trop. Med Hyg.* 40: 282-90.

44. **Lubega G., Prichard R. 1990.** Specific interaction of benzimidazole anthelmintics with tubulin: high-affinity binding and benzimidazole resistance in *Haemonchus contortus*. *Mol. Biochem. Parasitol.* 38: 221-232.
45. **Marriner S., Morris D., Dickson B. 1986.** Pharmacokinetics of albendazole in man. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 30: 705-708.
46. **Mehta S., Hatfield S., Jessen L. 1998.** Albendazole versus praziquantel for neurocysticercosis. *Am. J. Health. Syst. Pharm.,* 55: 589-600.
47. **Mohamed A., Yasawy M., Al K. 1998.** Combined albendazole and praziquantel versus albendazole alone in the treatment of hydatid disease. *Hepato-gastroenterol.* 45: 1690-1694.
48. **Mohanty A., Venkatrama S., Das S. 1997.** Spinal intramedullary cysticercosis. *Neurosurgery.* 40: 82-87.
49. **Moreno M., Urrea-Paris M., Casado N., Rodríguez-Caabeiro F. 2001.** Praziquantel and albendazole in the combined treatment of experimental hydatid disease. *Parasitol. Res.* 87: 235-238.
50. **Morgan U., Reynoldson J., Thompson C. 1993.** Activities of several benzimidazoles and tubulin inhibitors against *Giardia* spp. *in vitro*. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 2: 328-331.
51. **Nagy J., Schipper H., Koopmans R., Butter J. 2002.** Effect of grapefruit juice or cimetidine coadministration on albendazole bioavailability. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 66: 260-263.
52. **Náquira C. 1996.** *Taenia solium*: Ciclo biológico y características. In: García H., Martínez S. (eds). *Teniasis/Cisticercosis por T. solium*. Editorial Universo S.A. Lima Perú. 7-16
53. **Overbosh D., Van de Ness J., Groll E. 1987.** Penetration of praziquantel into cerebrospinal fluid and cysticerci in human cysticercosis. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 33: 287-292.
54. **Pardini A., Peralta R., Vaz A., Machada L., Peralta J. 2002.** Use of *Taenia crassiceps* cysticercus antigen preparations for detection of antibodies in cerebrospinal fluid samples from patients with neurocysticercosis (*Taenia solium*). *Clin. Diag. Lab. Immunol.* 1:190-193.
55. **Pérez-Serrano J., Casado N., Denegri G. 1994.** The effects of albendazole and albendazole sulphoxide combination-therapy on *Echinococcus granulosus in vitro*. *Int. J. Parasitol.* 24: 219-224.
56. **Pérez-Serrano J., Denegri G., Casado N., Bodega G., Rodríguez-Caabeiro F. 1995.** Anti-tubulin immunohistochemistry study of *Echinococcus granulosus* protoscolices incubated with albendazole and albendazole sulfoxide *in vitro*. *Parasitol. Res.* 81: 438-440.

57. **Proano J.**, Madrazo I., García L., García-Torres E., Correa O. **1997**. Albendazole and praziquantel treatment in neurocysticercosis of the fourth ventricle. *J. Neurosurg.* 87: 29-33.
58. **Putter J.**, Held F. **1976**. Quantitative studies on the occurrence of praziquantel in milk and plasma of lactating worms. *Eur. J. Drug Metab. and Pharm.* 2: 85-95.
59. **Rivera E.**, Sotelo M. J. **1999**. Tratamiento médico. In: Alarcón G. T. (ed.) *Cisticercosis del Sistema Nervioso*. Adad Cía Ltda, Ecuador. 179-192.
60. **Rossi N.**, Rivas I., Hernández M., Urdaneta H. **2000**. Immunodiagnosis of neurocysticercosis: comparative study of antigenic extracts from *cysticercus cellulosae* and *Taenia crassiceps*. *Rev. Cubana Med. Trop.* 52: 157-64.
61. **Saldaña J.**, Marin M., Fernández C., Domínguez L. **2001**. *In vitro* taurocholate-induced segmentation and clustering of *Mesocestoides vogae* (syn corti) tetrathyridia (cestoda)-inhibition by cestocidal drugs. *Parasitol. Res.* 87: 281-286.
62. **Sarti E.** **2002**. Epidemiology of *Taenia solium* Taeniasis and Cysticercosis in Mexico. In: Sing G., Prabhakar S. (ed.) *Taenia solium* Cysticercosis. From Basic to Clinical Science, CABI Publising, New York, U.S.A. 83-90.
63. **Schipper H.**, Koopmans R., Nagy J. **2000**. Effect of dose increase or cimetidine co-administration on albendazole bioavailability. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 63: 270-273.
64. **Siebert A.**, Good A., Simmons J. **1978**. Ultrastructural aspects of early immune damage to *Taenia crassiceps* metacestodes. *Int. J. Parasitol.* 8: 45-50.
65. **Sirivichayakul C.**, Pojjaroen-Anant C., Wisetsing P., Chanthavanich P., Praevanit R. **2001**. A comparative trial of albendazole alone versus combination of albendazole and praziquantel for treatment of *Trichuris trichiura* infection. *Southeast. Asian. J. Trop. Med. Public. Health.* 32: 297-301.
66. **Smyth J. D.** **1981**. Physiology of cestodes. In: *Introduction to animal parasitology*. 2ª Ed. Hodder and Stoughton. 278-298.
67. **Sotelo J.** **1997a**. El tratamiento farmacológico de la cisticercosis del sistema nervioso en edad pediátrica. *Neurocisticercosis en la infancia*. Ed. Porrúa., México, D.F. 205-208.
68. **Sotelo J.** **1997b**. Treatment of brain cisticercosis. *Surg. Neurol.* 48: 110-112.
69. **Sotelo J.**, Escobedo F., Rodríguez-Carbajal J. **1984**. Therapy of parenchymal brain cysticercosis with praziquantel. *New. Engl. J. Med.* 310: 1001-1007.

-
70. **Sotelo J., Guerrero F., Rubio F. 1985.** A new classifications based on active and inactive forms. *Archiv. Int. Med.* 145: 442-445.
 71. **Sotelo J., Escobedo F., Penagos P. 1988.** Albendazole vs praziquantel for therapy for neurocysticercosis. *Arch. Neurol.* 45: 532-534.
 72. **Sotelo J., Del Brutto O. 1989.** Diagnóstico y tratamiento de la cisticercosis cerebral. Homenaje al Dr. y Prof. Manuel Velasco Suárez.. 383-392.
 73. **Sotelo J., Del Brutto O., Penagos P. 1990.** Comparison of therapeutic regimen of anticysticercal drugs for parenchymal brain cysticercosis. *J. Neurol.* 237: 69-72.
 74. **Sotelo J., Flisser A. 1997.** Neurocysticercosis. Practical Treatment Guidelines. *CNS Drugs.* 7: 17-25.
 75. **Taylor D., Morris D. 1988a.** Combination chemotherapy of *Echinococcus granulosus* – *in vitro* studies. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 82: 263-264.
 76. **Taylor D., Morris D. 1988b.** *In vitro* culture of *Echinococcus multilocularis*: protoscolicidal action of praziquantel and albendazole sulphoxide. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 82: 265-267.
 77. **Tracy J.W., Wabster L. T. 1996.** Fármacos utilizados en la quimioterapia de las helmintiasis. In: Goodman & Gilman (eds) *Las bases farmacológicas de la terapéutica.* Ed. McGraw-Hill. Interamericana. 9ª Edición. 1073-1091.
 78. **The Merck Index. 1996.** Twelfth edition. Merck Research Laboratories. Division of Merck & CXO. Inc. 1571-1576.
 79. **Urrea-París M., Moreno M., Casado N., Rodríguez-Caabeiro F. 2000.** *In vitro* effect of praziquantel and albendazole combination therapy on the larval stage of *Echinococcus granulosus*. *Parasitol. Res.* 86: 957-964.
 80. **Vázquez M., Jung H., Sotelo J. 1987.** Plasma levels of praziquantel decrease when dexamethasone is given simultaneously. *Neurology.* 37: 229-34.
 81. **Watt G, White N., Padre L. 1988.** Praziquantel pharmacokinetics and side effects in *Schistosoma japonicum* infected patients with liver disease. *J. Infect. Dis.* 157:530-535.
 82. **Webbe G. 1994.** Human cysticercosis: Parasitology, pathology, clinical manifestations and available treatment. *Pharmac. Ther.* 64:175-200.
 83. **Willms K., Merchant M. 1980.** The inflammatory reaction surrounding *Taenia solium* larvae in pig muscle: ultrastructural and light microscopic observations. *Parasite. Immunol.* 2: 261-265.