



**UFG**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL  
E SAÚDE PÚBLICA**

**Nayana Ferreira de Lima**

---

**Neurocisticercose experimental: avaliação da atividade da  
nitazoxanida no metabolismo de cisticercos de *Taenia  
crassiceps***

---

**Goiânia  
2017**

**TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR AS TESES E DISSERTAÇÕES ELETRÔNICAS NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG**

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

**1. Identificação do material bibliográfico:**       **Dissertação**       **Tese**

**2. Identificação da Tese ou Dissertação**

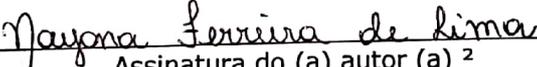
Nome completo do autor: Nayana Ferreira de Lima

Título do trabalho: Neurocisticercose experimental: avaliação da atividade da nitazoxanida no metabolismo de cisticercos de *Taenia crassiceps*.

**3. Informações de acesso ao documento:**

Concorda com a liberação total do documento  SIM       NÃO<sup>1</sup>

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF da tese ou dissertação.

  
Assinatura do (a) autor (a) <sup>2</sup>

Data: 01/08/2019

<sup>1</sup> Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Os dados do documento não serão disponibilizados durante o período de embargo.

<sup>2</sup>A assinatura deve ser escaneada.

**TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR AS TESES E DISSERTAÇÕES ELETRÔNICAS NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG**

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

**1. Identificação do material bibliográfico:**       Dissertação       Tese

**2. Identificação da Tese ou Dissertação**

Nome completo do autor: *Nayana Ferreira de Lima*

Título do trabalho: *Neurocisticercose experimental: avaliação da atividade da nitazoxanida no metabolismo de cisticercos de Taenia crassiceps*

**3. Informações de acesso ao documento:**

Concorda com a liberação total do documento  SIM       NÃO<sup>1</sup>

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF da tese ou dissertação.

  
Assinatura do (a) autor (a) <sup>2</sup>

Data: 20 / 03 / 2017

<sup>1</sup> Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Os dados do documento não serão disponibilizados durante o período de embargo.

<sup>2</sup>A assinatura deve ser escaneada.

**Nayana Ferreira de Lima**

---

**Neurocisticercose experimental: avaliação da atividade da  
nitazoxanida no metabolismo de cisticercos de *Taenia  
crassiceps***

---

Dissertação de Mestrado apresentada  
ao Programa de Pós-Graduação em  
Medicina Tropical e Saúde Pública da  
Universidade Federal de Goiás para  
obtenção do Título de Mestre em  
Medicina Tropical e Saúde Pública.

Orientador: Marina Clare Vinaud

**Goiânia  
2017**

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

Ferreira de Lima, Nayana

Neurocisticercose experimental: avaliação da atividade da nitazoxanida no metabolismo de cisticercos de *Taenia crassiceps* [manuscrito] / Nayana Ferreira de Lima. - 2017.  
XII, 74 f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Marina Clare Vinaud.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás, Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP), Programa de Pós Graduação em Medicina Tropical e Saúde Pública, Goiânia, 2017.

Bibliografia. Anexos.

Inclui siglas, abreviaturas, tabelas, lista de figuras, lista de tabelas.

1. piruvato ferredoxina oxidoreductase. 2. metabolismo. 3. neurocisticercose. 4. nitazoxanida. 5. *Taenia crassiceps*. I. Clare Vinaud, Marina, orient. II. Título.

CDU 576.8



**ATA DA REUNIÃO DA BANCA EXAMINADORA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE NAYANA FERREIRA DE LIMA** – Aos vinte e dois dias do mês de fevereiro do ano de 2017 (22/02/2017), às 14:00 horas, reuniram-se os componentes da Banca Examinadora: Profs. Drs. MARINA CLARE VINAUD, ROSÁLIA SANTOS AMORIM JESUÍNO e TATIANE LUIZA DA COSTA, para, sob a presidência da primeira, e em sessão pública realizada no INSTITUTO DE PATOLOGIA TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA, procederem à avaliação da defesa de dissertação intitulada: **“NEUROCISTICERCOSE EXPERIMENTAL: AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DA NITAZOXANIDA NO METABOLISMO DE CISTICERCOS DE *Taenia crassiceps*”**, em nível de **MESTRADO**, área de concentração em **PARASITOLOGIA**, de autoria de **NAYANA FERREIRA DE LIMA**, discente do PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA, da Universidade Federal de Goiás. A sessão foi aberta pela Orientadora, Profa. Dra. MARINA CLARE VINAUD, que fez a apresentação formal dos membros da Banca e orientou a Candidata sobre como utilizar o tempo durante a apresentação de seu trabalho. A palavra a seguir, foi concedida ao autor da dissertação que, em 30 minutos procedeu à apresentação de seu trabalho. Terminada a apresentação, cada membro da Banca arguiu a Candidata, tendo-se adotado o sistema de diálogo seqüencial. Terminada a fase de arguição, procedeu-se à avaliação da defesa. Tendo-se em vista o que consta na Resolução n°. 1304/2014 do Conselho de Ensino, Pesquisa, Extensão e Cultura (CEPEC), que regulamenta o Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical e Saúde Pública a Banca, em sessão secreta, expressou seu julgamento, considerando a candidata **Aprovada** ou **Reprovada**:

**Banca Examinadora**

Profa. Dra. Marina Clare VinAUD

Profa. Dra. Rosália Santos Amorim Jesuíno

Dra. Tatiane Luiza da Costa

**Aprovada / Reprovada**

Aprovada  
Aprovada  
Aprovada

Em face do resultado obtido, a Banca Examinadora considerou a candidata Habilitada (**Habilitada ou não Habilitada**), cumprindo todos os requisitos para fins de obtenção do título de **MESTRE EM MEDICINA TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA**, na área de concentração em **PARASITOLOGIA**, pela Universidade Federal de Goiás. Cumpridas as formalidades de pauta, às 16 h 00 min, a presidência da mesa encerrou esta sessão de defesa de tese e para constar eu, JOSÉ CLEMENTINO DE OLIVEIRA NETO, secretário do Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical e Saúde Pública lavrei a presente Ata que depois de lida e aprovada, será assinada pelos membros da Banca Examinadora e por mim em duas vias de igual teor.

A Banca Examinadora aprovou a seguinte alteração no título da Dissertação:

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

**Assinatura**

Profa. Dra. Marina Clare VinAUD (IPTSP/UFG)

Profa. Dra. Rosália Santos Amorim Jesuíno (IPTSP/UFG)

Dra. Tatiane Luiza da Costa (HC/UFG)

Secretário da Pós-Graduação:

M. VinAUD  
R. Santos Amorim Jesuíno  
Tatiane Luiza da Costa  
J. Clementino de Oliveira Neto

## AGRADECIMENTOS

---

Primeiramente Deus, por me proteger, guiar e acompanhar em todos os momentos da minha vida.

À minha orientadora, Prof. Dra. Marina Clare Vinaud, pelo constante incentivo, e tempo disponibilizado, sempre indicando a direção a ser tomada nos momentos de dificuldade, nunca me deixando desamparada. Agradeço, principalmente, pela confiança depositada, por todos os ensinamentos não só científicos como pessoais, apoio, paciência, e pela competência com que se dedica ao seu trabalho.

À UFG pela estrutura cedida para a realização dos experimentos, e pela oportunidade de realizar o mestrado.

Aos professores e à coordenação do PPGMTSP que se dedicam incansavelmente para o bom desempenho do curso de pós-graduação.

À banca examinadora, por terem aceitado o convite e pelo trabalho dedicado na avaliação deste estudo.

À CAPES e ao CNPQ pelo auxílio financeiro fornecido durante a realização deste trabalho.

Aos animais utilizados neste trabalho, pois eles são fundamentais para o sucesso do trabalho.

Aos professores do Laboratório de Estudos da Relação Parasito-Hospedeiro: Ana Maria de Castro, José Cleildo Barreto Bezerra, Joana D'arc Soares e Eliana Isac, pelo apoio e incentivo de sempre.

A todos os meus amigos pela amizade, incentivo e carinho de sempre, em especial á Grazielle Guimarães, Vitória Prado e Davi Vinicius que me acompanham desde a graduação sempre me incentivando a seguir os meus objetivos, a Guaraciara Picanço, Luciana Damacena e o José do Carmo Neto pelo carinho, amizade e pela colaboração no desenvolvimento deste trabalho.

Aos amigos que conquistei no Laboratório de Estudos da Relação Parasito-Hospedeiro, pelos momentos agradáveis de descontração, pela ajuda, pelo companheirismo e apoio: Daniella de Souza, Jéssica Yonara, Tayanara Gomes, Heloisa

Storchilo, Jaqueline Ataíde e Hanstter Hallison, Carolina Miguel Fraga, Juliana Boaventura.

À minha família, meu alicerce, que me apoia e me incentiva, em especial a minha mãe por proporcionar que eu esteja aqui hoje concluindo esse trabalho, pois sem o apoio dela isso não seria possível, gostaria de agradecer-lá por sempre fazer o melhor por mim, acreditar nas minhas escolhas e além de mãe ser minha amiga.

Ao meu namorado Lucas Roberto Mesquita, pelo carinho, pela paciência, por entender meus horários, pelas palavras de incentivo e por todo o apoio.

À todos que de alguma forma contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

# SUMÁRIO

---

TABELAS, FIGURAS E ANEXOS .....	viii
SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS .....	x
RESUMO .....	xii
ABSTRACT .....	xiii
1. INTRODUÇÃO / REVISÃO DA LITERATURA .....	1
1.1. Caracterização do parasito <i>Taenia solium</i> .....	1
1.1.1. Distribuição geográfica e epidemiológica da neurocisticercose .....	3
1.1.2. Manifestações clínicas .....	7
1.2. Caracterização do parasito <i>Taenia crassiceps</i> .....	10
1.3. Modelos experimentais para estudos da Neurocisticercose .....	13
1.4. Vias metabólicas em cisticercos de <i>Taenia crassiceps</i> .....	17
1.4.1 Via glicolítica .....	18
1.4.2. Ciclo do ácido cítrico .....	20
1.4.3. Via da fumarato redutase .....	21
1.4.4. Vias alternativas de produção de energia.....	22
1.4.4.1. Oxidação dos ácidos graxos .....	23
1.4.4.2. Produção de corpos cetônicos .....	24
1.5. Fármacos anti-helmínticos utilizados no tratamento de NCC .....	25
1.5.1. Praziquantel.....	26
1.5.2. Albendazol .....	31
1.5.3. Nitazoxanida.....	35
2.JUSTIFICATIVA .....	38
3.OBJETIVOS .....	39
3.1. OBJETIVO GERAL.....	39
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	39

4. MÉTODOS.....	40
4.1. Manutenção de <i>Taenia crassiceps</i> .....	40
4.2. Infecção intracraniana de camundongos BALB/c .....	40
4.2.1. Método de inoculação.....	40
4.3. Tratamento dos camundongos infectados .....	41
4.4. Análise bioquímica do extrato de cisticercos de <i>T. crassiceps</i> .....	42
4.5. Análise por espectrofotometria do extrato de cisticercos de <i>T. crassiceps</i> .....	42
4.6. Análise estatística.....	42
5.RESULTADOS .....	43
5.1. Via glicolítica.....	43
5.2. Ciclo do ácido cítrico.....	43
5.3. Oxidação de ácidos graxos e catabolismo de proteínas.....	44
6. DISCUSSÃO .....	45
6.1. Via glicolítica .....	45
6.2. Ciclo do ácido cítrico .....	46
6.3. Oxidação de ácidos graxos .....	50
6.4. Catabolismo de proteínas.....	53
7. CONCLUSÕES .....	55
8. REFERÊNCIAS.....	56
ANEXOS.....	71
Anexo 1– Parecer do Comitê de Ética, TCLE.....	71
Anexo 2 – Cromatogramas.....	77

## TABELAS, FIGURAS E ANEXOS

---

---

### LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Manifestações clínicas da neurocisticercose (NCC).....	10
<b>Tabela 2.</b> Concentrações médias ( $\pm$ desvio padrão) de ácidos orgânicos da via glicolítica detectados em cisticercos de <i>Taenia crassiceps</i> retirados da cavidade intracraniana de camundongos BALB/c após tratamento <i>in vivo</i> com diferentes concentrações de nitazoxanida .....	43
<b>Tabela 3.</b> Concentrações médias ( $\pm$ desvio padrão) de ácidos orgânicos do ciclo do ácido cítrico detectados em cisticercos de <i>Taenia crassiceps</i> retirados da cavidade intracraniana de camundongos BALB/c após tratamento <i>in vivo</i> com diferentes concentrações de nitazoxanida. ....	44
<b>Tabela 4.</b> Concentrações médias ( $\pm$ desvio padrão) de ácidos orgânicos da oxidação dos ácidos graxos e do catabolismo de proteína detectados em cisticercos de <i>Taeniocrassiceps</i> retirados da cavidade intracraniana de camundongos BALB/c após tratamento <i>in vivo</i> com diferentes concentrações de nitazoxanida. ....	44

### LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Ciclo biológico de <i>Taenia solium</i> .....	3
<b>Figura 2:</b> Epidemiologia de <i>Taenia solium</i> .....	5
<b>Figura 3:</b> Adulto de <i>Taenia crassiceps</i> . ....	11
<b>Figura 4:</b> Proglotes de <i>Taenia crassiceps</i> . ....	11
<b>Figura 5.</b> Fases de desenvolvimento dos cisticercos de <i>Taenia crassiceps</i> .....	12
<b>Figura 6.</b> Ciclo biológico de <i>Taenia crassiceps</i> .....	13
<b>Figura 7.</b> Esquema das principais reações da via glicolítica. ....	20
<b>Figura 8.</b> Ciclo do ácido cítrico. ....	21
<b>Figura 9.</b> Esquema da via da fumarato redutase. ....	22
<b>Figura 10.</b> Formação dos corpos cetônicos. ....	24

<b>Figura 11.</b> Ciclo da uréia.....	25
<b>Figura 12.</b> Estrutura química do praziquantel.....	27
<b>Figura 13.</b> Estrutura química do albendazol e do albendazol sulfóxido.....	32
<b>Figura 14.</b> Estrutura química da nitazoxanida.....	35
<b>Figura 15.</b> Via de degradação de carboidratos.....	47
<b>Figura 16.</b> Fontes de acetil-coA.....	48
<b>Figura 17.</b> Via de formação do propionato em helmintos.....	52
<b>Figura 18.</b> Oxidação de ácidos graxos em vertebrados.....	53
<b>Figura 19.</b> Catabolismo de aminoácidos em hepatócitos de vertebrados.....	54
<b>ANEXOS</b>	
<b>Anexo 1</b> – Parecer do CEUA (Comitê de ética em uso de animais).....	71
<b>Anexo 2</b> - Cromatogramas.....	72

## SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS

---

ABZO ou ABZ – Albendazol  
ABZO-SO – Albendazol sulfóxido  
Acetil-CoA – Acetil coenzimaA  
CEUA – Comitê de Ética em Uso de Animais  
CLAE – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência  
CONCEA – Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal  
DAE – Drogas antiepilépticas  
DBDI – Departamento Britânico para o Desenvolvimento Internacional  
DPI – Dia Pós- Infecção  
EUA – Estados Unidos da América  
F6P – Frutose-6-fosfato  
G6F – Glicose-6-fosfato  
H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> – Ácido sulfúrico  
HCL – Ácido clorídrico  
HPLC – “High Performance Liquid Chromatography”  
IFN- $\gamma$  – Interferon gama  
IL - Interleucina  
IPTSP – Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública  
Kg – quilogramas  
LCR – Líquido Cefalorraquidiano  
mM – Milimolar  
N<sub>2</sub>- Nitrogênio  
NCC – Neurocisticercose  
ND – Não detectado  
NTZ – Nitazoxanida  
OAA – Organização para Alimentação e Agricultura  
OMS – Organização Mundial da Saúde  
ORF – “Ontario Reserch Facility”  
PFOR – Piruvato Ferredoxina Oxidoreductase  
PEP– “Phoshoenolpyruvate” (Fosfoenolpiruvato)  
PZQ – Praziquantel

SBCAL/COBEA – Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório

SNC – Sistema Nervoso Central

Succinil-CoA – Succinil coenzima A

TC – Tomografia computadorizada

TGI – Trato gastrointestinal

WHO – “World Health Organization”

$\alpha$  – Alfa

$\beta$  - Beta

## RESUMO

---

A neurocisticercose (NCC) é a helmintíase mais frequente que acomete o sistema nervoso central (SNC), causada pela presença de cisticercos de *Taenia solium*. Modelos experimentais são excelentes ferramentas para a compreensão da interação parasito-hospedeiro para o estudo da cisticercose humana. O parasito mais utilizado para tais estudos é o cisticerco de *Taenia crassiceps*, devido a este parasito apresentar um rápido ciclo de desenvolvimento, fácil manutenção, e principalmente a similaridade antigênica com *T. solium*. A Nitazoxanida (NTZ) é um fármaco antiparasitário do grupo dos nitrotiazóis, apresenta amplo espectro e uma excelente atividade contra protozoários, bactérias, nematódeos e trematódeos. A NTZ possui como mecanismo de ação o bloqueio da enzima piruvato ferredoxina oxidoreductase (PFOR). O objetivo deste estudo foi determinar o efeito de duas dosagens de nitazoxanida sobre o metabolismo energético de cisticercos de *T. crassiceps* (cepa ORF) implantados no encéfalo de camundongos BALB/c fêmeas. Estes animais foram inoculados intracranialmente com 3-5 cisticercos em estágio inicial. Os animais foram divididos em três grupos de tratamento, realizado por via oral em dosagem única, no qual o Grupo 1 foi o controle (tratado com solução salina 0,9%, na mesma proporção que o fármaco); Grupo 2 foi tratado com 20 mg/kg de NTZ e o Grupo 3 foi tratado com 40 mg/kg de NTZ. Todos os animais foram tratados após 30 dias de inoculação e eutanasiados 24h após o tratamento. Foram realizadas 6 repetições independentes. As vias metabólicas: glicólise, ciclo do ácido cítrico, oxidação de ácidos graxos e catabolismo de proteínas foram avaliadas por meio de cromatografia líquida de alta eficiência e espectrofotometria. Os ácidos orgânicos que foram detectados nas amostras tratadas com NTZ foram indicativos da via glicolítica e fermentação láctica; via da fumarato redutase; oxidação de ácidos graxos e catabolismo de proteínas para a obtenção de energia. O acetato e acetoacetato não foram detectados nas amostras tratadas com NTZ, comprovando o mecanismo de ação do fármaco, que é o bloqueio da enzima PFOR. Concluiu-se que o cisticerco tratado com NTZ *in vivo* utilizou a via da fumarato redutase, a oxidação dos ácidos graxos e o catabolismo de proteínas para obtenção de energia, como provável forma de adaptação ao bloqueio da atividade da enzima PFOR.

**Palavras-chave:** piruvato ferredoxina oxidoreductase; metabolismo; neurocisticercose; nitazoxanida; *Taenia crassiceps*.

## ABSTRACT

---

Neurocysticercosis (NCC) is the most frequent helminthiasis that afflicts the central nervous system and is caused by the presence of *Taenia solium* cysticerci. Experimental models are useful tools to understand the host-parasite interaction in human cysticercosis studies. The most used parasite for such studies is *T. crassiceps* cysticercus due to its quick developing cycle, easy maintenance and, mainly, due to its antigenic similarity to *T. solium*. Nitazoxanide (NTZ) is an antiparasitary drug from the nitrothiazol group with ample spectre of activity against protozoans, bacteria, nematodes and trematodes. NTZ presents as mode of action the blockage of pyruvate ferredoxin oxidoreductase enzyme (PFOR). The aim of this study was to determine the effect of two dosages of NTZ on the energetic metabolism of *T. crassiceps* cysticerci (ORF strain) inoculated in BALB/c female mice brain. The animals were divided into three groups that received one oral dose of physiological solution (NaCl 0.9%) – Group 1; 20 mg/Kg of NTZ – Group 2; 40 mg/Kg of NTZ – Group 3. All animals were treated after 30 days of infection and were euthanized 24h after treatment. The experiment was performed in 6 independent repetitions. The metabolic pathways of glycolysis, citric acid cycle, fatty acids oxidation and proteins catabolism were quantified through high performance liquid chromatography (HPLC) and spectrophotometry. The organic acids detected in the treated samples indicated the glycolytic pathway and lactic fermentation, fatty acids oxidation and proteins catabolism in order to produce energy. Acetate and acetoacetate were not detected in the NTZ treated groups as a consequence of the drug's mode of action. In conclusion the NTZ treated cysticerci used the fumarate reductase, fatty acids oxidation and proteins catabolism as energy production pathways probably due to the impairment of the PFOR enzyme activity.

**Key words:** pyruvate ferredoxin oxidoreductase enzyme, metabolism, experimental neurocysticercosis, nitazoxanide, *Taenia crassiceps*.

## **1. INTRODUÇÃO / REVISÃO DA LITERATURA**

---

A neurocisticercose (NCC) é causada pela presença de cisticercos de *Taenia solium* no sistema nervoso central (SNC) de humanos. A infecção ocorre através da ingestão de ovos de *T. solium* presentes em alimentos ou água contaminados com fezes humanas. Ao entrar em contato com os sucos biliares, os ovos eclodem liberando o embrião hexacanto que penetra na mucosa intestinal cai na corrente sanguínea, podendo chegar até o SNC (NASH & GARCIA, 2011). A NCC pode apresentar-se de forma assintomática, no entanto as formas clínicas dependem do tamanho, localização e quantidade de parasitos instalados no local, além da resposta imune do hospedeiro. A NCC pode ser aguda, subaguda ou crônica podendo levar a morte, as manifestações clínicas mais frequentes são cefaleia, convulsões e hipertensão intracraniana (GARCIA *et al.*, 2005; NASH *et al.*, 2006).

Aproximadamente 25% a 50% dos casos de epilepsia encontrados no mundo são devido a NCC (WALLIN *et al.*, 2004; SINGH *et al.*, 2013). Estima-se que atualmente cerca de 50 milhões de pessoas estejam infectadas e mais de 50 mil morrem por cisticercose anualmente. Deste total de pessoas infectadas, 32 milhões encontram-se na África, 11 milhões na Ásia e 3 milhões nas Américas. Na América Latina, especificamente, cerca de 18 países apresentam casos relatados de cisticercose, entre os quais podemos citar: Argentina, Venezuela, México, Colômbia, Guatemala, Uruguai e Brasil (FLISSER, 1991; TAKAYANAGUI & LEITE, 2001).

A partir de 1990 o albendazol (ABZ) e o praziquantel (PZQ) têm sido utilizados no tratamento de algumas manifestações clínicas da NCC (TAKAYANAGUI, 1990). Em estudos comparativos destes fármacos, o ABZ tem se revelado mais eficaz no tratamento da NCC (TAKAYANAGUI & JARDIM, 1992). O tratamento com ABZ e PZQ geralmente é realizado em associação com o uso de corticosteróides, para controlar o processo inflamatório causado por esses fármacos (TAKAYANAGUI *et al.*, 2011).

### **1.1. Caracterização do parasito *Taenia solium***

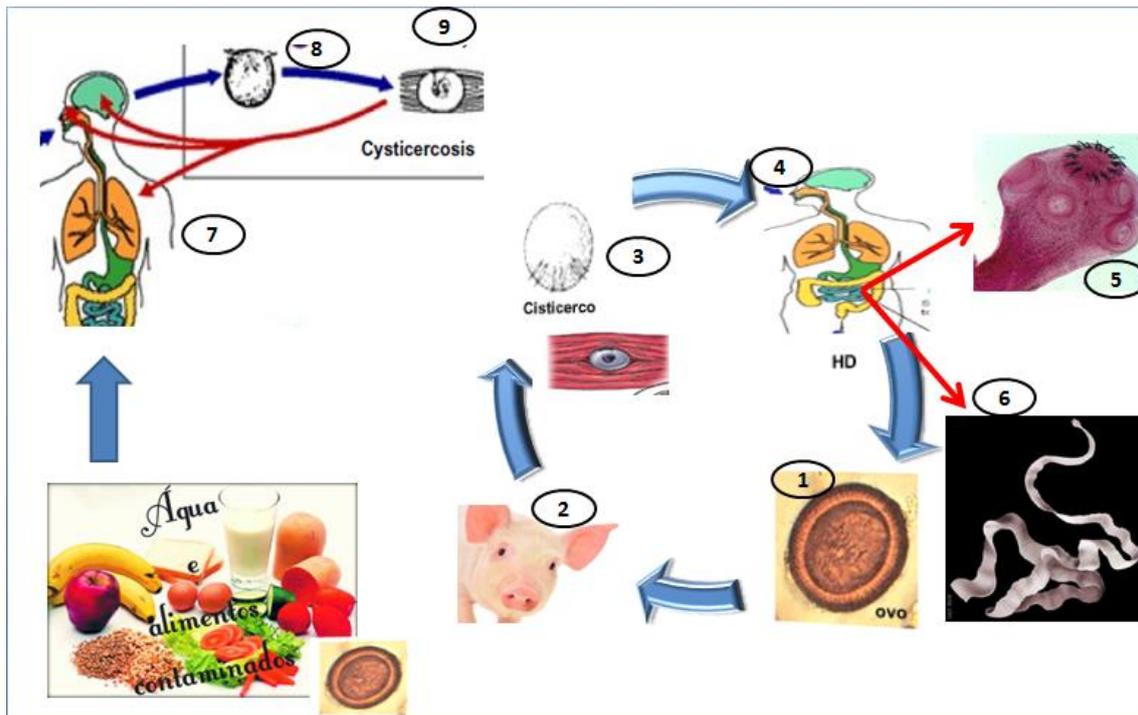
O cestódeo *T. solium* é responsável pela cisticercose humana. O gênero *Taenia* pertence à família *Taenidae*, à classe *Cestoidea* e a ordem *Cyclophyllidae* (REY, 1991).

Existem três fases evolutivas desse parasito: os ovos (encontrados no ambiente, e eliminados com as fezes); o cisticercos que é a fase larval encontrada no hospedeiro intermediário e o parasito adulto encontrado no intestino do hospedeiro definitivo (GEMMELL & LAWSON, 1982; GEMMELL *et al.*, 1983).

Os cisticercos medem de 7-12 mm de comprimento por 4-6 mm de largura (REY, 1992). O adulto mede de 3 a 5 metros de comprimento. A cabeça ou escólex possui 4 ventosas e um rostro armado com dupla coroa de acúleos. Além do escólex, possui o colo ou pescoço (mais delgado) e, finalmente, o estróbilo ou corpo com as proglotes. As proglotes se dividem em jovens, maduras e grávidas, estas últimas repletas de ovos. As proglotes grávidas medem 1 cm de comprimento por 0,6 a 0,7 cm de largura (GEMMELL *et al.*, 1983; CARRADA-BRAVO, 1987; HUGGINS, 1989). A eliminação de proglotes no caso de *T. solium* pode não ser observada, por ser eliminada juntamente com as fezes (CARRADA-BRAVO, 1987; REY, 1991). Os parasitos adultos podem viver muitos anos no intestino delgado do homem. No caso de *T. solium*, podem ser eliminadas de três a seis proglotes diariamente e cada proglote contém de 30.000 a 50.000 ovos (RE, 1992).

*T. solium* possui dois hospedeiros em seu ciclo de vida, o homem (único hospedeiro definitivo para o parasito adulto) e o suíno (hospedeiro intermediário, transportando a forma larval do parasito). A forma larval de *T. solium* possui uma membrana repleta de líquido, possuindo um escólex no seu interior. Normalmente os cisticercos são adquiridos pelo hospedeiro humano através da ingestão de carne de porco crua ou mal cozida. O escólex ao chegar no intestino irá desinvaginar, liberando o parasito adulto da vesícula cística, sendo que este irá fixar na parede intestinal por meio das ventosas e dos seus ganchos. Uma vez fixado, o parasito irá amadurecer e tornar-se adulto dentro de 3-4 meses. As proglotes grávidas e os ovos férteis que contêm os embriões hexacantos (oncosferas) são eliminados com as fezes para o ambiente (Fig.1); (DEL BRUTTO & GARCIA, 2013).

A NCC ocorre devido à ingestão acidental de ovos de *T. solium* presentes em água ou alimentos contaminados. Esses ovos contêm o embrião hexacanto, que após eclodir os ovos vão penetrar na parede do intestino e se disseminar para vários tecidos do corpo, tendo um forte tropismo pelo SNC (DEL BRUTTO & GARCIA, 2013).



**Figura 1.** Ciclo biológico de *Taenia solium*: 1. Ovos embrionados são eliminados com as fezes humanas; 2. Os ovos são ingeridos por suínos; 3. A oncosfera penetra na parede intestinal e cai na corrente sanguínea, acometendo a musculatura; 4. O Hospedeiro definitivo (homem) é infectado ao ingerir carne de porco crua ou mal cozida; 5. O parasito desenvolve-se no intestino do homem; 6. Hospedeiro definitivo ingere ovos de *T. solium* através de alimentos; 7. A oncosfera penetra na parede intestinal, caindo na circulação sanguínea e indo para a musculatura; 8. O cisticerco se desenvolve em alguns órgãos, como cérebro e globo ocular (Adaptado do CDC).

### 1.1.1. Distribuição geográfica e epidemiológica da neurocisticercose

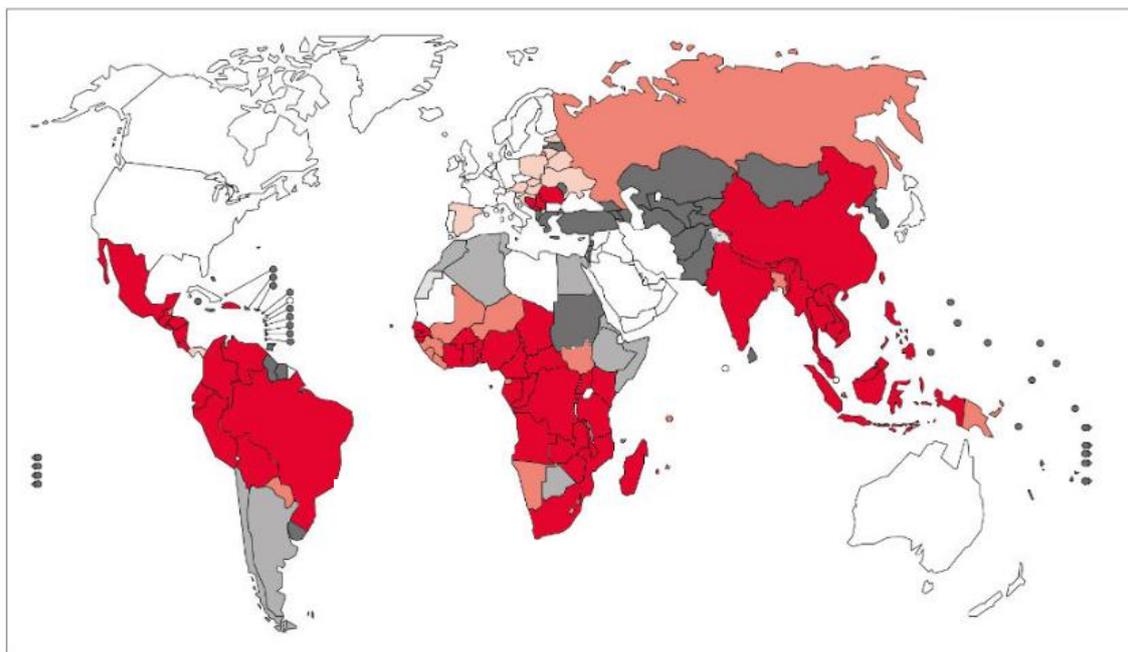
Desde 2010 a NCC e a equinococose foram reconhecidas pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como doenças tropicais negligenciadas (SAVIOLI *et al.*, 2010). A OMS estima que no mínimo 50 milhões de pessoas sofram de epilepsia e 80% dessa população reside nos países subdesenvolvidos (WHO, 2010). A NCC representa uma das principais desordens cerebrais existentes nestes países, afetando cerca de 50 milhões de pessoas mundialmente, além de ser considerada uma das doenças emergentes (são doenças que apareceram em surtos ou epidemias em uma dada população ou região) nos países em desenvolvimento como África sub-saariana, Ásia e América Latina (WHITE, 2005; SINGH *et al.*, 2013). A NCC é endêmica na maior parte da América Latina, África subsaariana, grandes regiões da Ásia, incluindo o subcontinente indiano, o sudeste da Ásia e a China (Fig.2); (DEL BRUTTO & GARCIA, 2013; FABIANI *et al.*, 2013). A NCC também é uma importante causa de

morbidade em países desenvolvidos, devido à imigração de pacientes provenientes das áreas endêmicas para essas regiões (DEL BRUTTO & GARCIA, 2012).

A endemicidade da NCC humana está claramente ligada as condições sanitárias precárias e a pobre higienização da população. Isso ocorre devido á falta ou uso inadequado das latrinas, hábito de defecar ao ar livre, falta da inspeção sanitária da carne, abastecimento inadequado de água entre outros (ALUJA *et al.*, 2008). Essas condições prevalecem em países em desenvolvimento, onde a NCC constitui um desafio para a saúde e a economia (FLEURY *et al.*, 2003; DEL BRUTTO, 2012).

A falta da inspeção da carne pode ser um fator importante para causar a teníase. Por isso é importante salientar o complexo teníase-cisticercose. Neste complexo ocorrem alterações patológicas no hospedeiro, causadas pelas formas adultas e larvais das Taenias. Sendo que a diferença está nas fases de vida do parasito encontradas no hospedeiro. A teníase é a doença provocada pela forma adulta da *T. solium* e *T. saginata* no intestino delgado do hospedeiro definitivo (homem). Já a cisticercose é a infecção provocada pela larva (cisticerco) nos hospedeiros intermediários (boi e porco) e acidentalmente em cães e humanos, sendo que o contato com os cães pode levar o homem a se infectar, devido ao contato direto do homem com o cão, sendo este considerado um animal de estimação, presente diariamente na vida do homem (DEL BRUTTO, 2012).

A última listagem da OMS, da Organização para Alimentação e Agricultura (OAA) e do Departamento Britânico para o Desenvolvimento Internacional (DBDI), listaram a infecção por *T. solium* como uma das 17 doenças zoonóticas negligenciadas, que podem ser efetivamente controladas (WHO, 2012).



**Figura 2:** Epidemiologia de *Taenia solium*. Os países do grupo em **vermelho**: são endêmicos para *T. solium*. Os países do grupo em **rosa escuro**: são suspeitos de endemidade para *T. solium*. Os países do grupo em **rosa claro**: não possuem dados para endemidade de *T. solium*. Os países do grupo em **branco**: são áreas não endêmicas para *T. solium*. Os países do grupo em **cinza** não possuem dados (Adaptado de WHO 2015 - [http://www.who.int/mediacentre/factsheets/Endemicity Taenia Solium 2015-1000x706.jpg?ua=1](http://www.who.int/mediacentre/factsheets/Endemicity_Taenia_Solium_2015-1000x706.jpg?ua=1))

Na América Latina cerca de 18 países apresentam casos de cisticercose, tais como: Argentina, Venezuela, México, Colômbia, Guatemala, Uruguai e Brasil (FLISSE, 1991; MMWR, 1992; WHO, 2008). A prevalência de NCC foi realizada utilizando-se da técnica de ELISA e/ou “Western blot” variando de 3,7% a 24%, respectivamente (FLISSER *et al.*, 2013). Na Ásia os dados de soroprevalência são escassos, mas os relatórios mostraram o aparecimento lento da NCC, isso ocorreu devido a falta de relatos de casos nessa região, e por ser uma doença de difícil diagnóstico, pois pode ser confundida com várias doenças neurológicas, com uma soroprevalência de 2% a 13% (RAJSHEKHAR *et al.*, 2003; LI *et al.*, 2006). Na África subsaariana os dados existentes de soroprevalência foram realizados utilizando o diagnóstico por ELISA e variam de 6% a 22% (CARABIN *et al.*, 2009).

Um estudo realizado no Peru utilizando a combinação do diagnóstico por imagem (Tomografia Computadorizada), sorologia positiva e histórico dos pacientes para identificar a NCC, relataram uma soroprevalência de 24%. Sendo que 13% dos pacientes com sorologia negativa obtiveram na TC calcificações típicas de NCC

(MONTANO *et al.*, 2005). Aplicando cálculos semelhantes em estudos anteriormente realizados no Equador (DEL BRUTTO *et al.*, 2005), Honduras (MEDINA *et al.*, 2005) e México (FLEURY *et al.*, 2003) possuem uma estimativa de prevalência para NCC de 23%, 38% e 15% respectivamente (MONTANO *et al.*, 2005).

Em estudos realizados em comunidades no sul da Índia, a soroprevalência para NCC foi de 15,9%, sendo que a epilepsia ativa estava presente em 28,4% destes indivíduos. Os pacientes participantes destes estudos foram diagnosticados por TC (RAJSHEKHAR *et al.*, 2006).

A NCC também é altamente endêmica no sudoeste da China. Levando em consideração um relatório da OMS, no qual a prevalência na China de NCC foi em média 0,11%, no qual o número estimado de pacientes com teníase foi de 1,26 milhão, e o número de casos de cisticercose foi 3-6.000.000 nesta região (SAVIOLI *et al.*, 2010).

Em 2003 foi realizada uma análise crítica da literatura nacional, apontando uma incidência de 1,5% nas necropsias e de 3% nos estudos clínicos de NCC no Brasil, esses dados correspondem a 0,3% das admissões em hospitais gerais. Esses dados mostram que a prevalência da NCC no Brasil não é conhecida, devido a ausência de notificação obrigatória na maioria dos estudos, e principalmente pela inacessibilidade da maioria da população aos meios de diagnóstico da doença (AGAPEJEV, 2003). As áreas endêmicas estão compreendidas nos estados da região central do Brasil, além de São Paulo, Paraná, e Minas Gerais, devido às condições de criação das suinoculturas (TAKAYANAGUI *et al.*, 2001; AGAPEJEV, 2003).

Casos relatados de NCC no Canadá e nos EUA tem aumentado ao longo dos últimos 50 anos, devido a imigração de indivíduos de origem latina para estas regiões (ONG *et al.*, 2002). Estudos de Wallin & Kurtzke (2004) relataram 1494 casos de NCC diagnosticados nos EUA entre os anos de 1980 e 2004. Os sintomas mais comuns foram convulsões (66%), hidrocefalia (16%) e dores de cabeça (15%). Dentre as localizações dos cisticercos, 91% estavam no parênquima cerebral, 6% nos ventrículos, 2% no espaço subaracnóide e 0,2% na coluna vertebral. A maioria dos casos era proveniente de pacientes que tinham viajado para regiões endêmicas, principalmente América-Latina ou que tinham entrado em contato com essa população infectada (WALLIN & KURTZKE, 2004).

A estimativa de prevalência da NCC na população está diretamente relacionada com a disponibilidade de exames de imagem, como a TC, o que dificulta o acesso ao diagnóstico correto em algumas regiões. Esse exame é de suma importância, pois é

capaz de determinar a localização e a quantidade de cisticercos encontrados no paciente (FLEURY *et al.*, 2003).

A NCC sintomática está sofrendo uma redução em algumas regiões endêmicas, principalmente nos centros urbanos. Isso ocorre devido as melhorias no saneamento básico, melhor gerenciamento da vigilância sanitária e utilização generalizada de fármacos antiparasitários, sendo administradas nos estágios iniciais da doença (FLISSER *et al.*, 2010; ALARCON *et al.*, 2012).

### **1.1.2. Manifestações clínicas**

A gravidade e as manifestações clínicas da NCC vão ser indicativas da característica da infecção (ou seja, dependem do número, tamanho e localização dos cisticercos, e também dependem da resposta imunológica do hospedeiro). O fator determinante para essas características da NCC sintomática é a localização do parasito, ou seja, se o cisticerco se encontra no parênquima cerebral ou nos espaços extraparenquimatosos (ESTANOL *et al.*, 1986).

A NCC pode ser apresentada de forma assintomática, sintomática (observada na tabela 1) e até mesmo levar a morte súbita do indivíduo (SINHA & SHARMA, 2009, WHO, 2010; COYLE *et al.*, 2012). Apesar da localização mais comum do cisticerco de *T. solium* ser no parênquima cerebral, e neste local causar as convulsões, os cisticercos também podem ser encontrados em outros locais como: nos ventrículos, nas meninges, na medula espinhal, no olho e no espaço subaracnóide (COYLE *et al.*, 2012). O envolvimento do cisticerco nesses outros locais pode resultar em um crescimento excessivo deste, podendo complicar o quadro da doença, sendo dessa forma de difícil tratamento, podendo levar o paciente a morte (FOGANG *et al.*, 2015).

Quando o cisticerco se aloja no SNC, o primeiro estágio de desenvolvimento observado é a fase vesicular, na qual o parasito apresenta um escólex invaginado que está rodeado de líquido vesicular translúcido e recoberto por uma membrana vesicular transparente. O cisticerco pode permanecer neste estado por anos, ou pode degenerar após a resposta imunológica do hospedeiro (DEL BRUTTO & GARCI, 2013). A primeira fase de involução do cisticerco é a coloidal, que é caracterizada por um líquido vesicular turvo, com degeneração hialina do escólex. Na etapa seguinte, que é chamada de fase granular, é a qual a parede do cisticerco torna-se espessa e o escólex é

mineralizado, e nessa fase o cisticerco não está mais viável. A fase final desse processo degenerativo representa a calcificação dos restos do parasito (DEL BRUTTO & GARCIA, 2013).

O parasito alojado no parênquima cerebral também induz uma forte resposta inflamatória durante a fase crônica da doença, levando a formação de granuloma, angiogênese e fibrose (RESTREPO *et al.*, 2001 a, b). Geralmente o principal sintoma quando o cisticerco encontra-se no parênquima cerebral são as crises convulsivas, estas geralmente são resolvidas quando tratadas com drogas antiepilépticas (DAE). Mesmo com o uso da DAE a NCC parenquimatosa possui elevadas taxas de mortalidade, isso ocorre porque 20% dos pacientes não recebem o tratamento ideal (GARCIA *et al.*, 2002; GARCIA *et al.*, 2014).

Uma revisão de literatura realizada por Carabin *et al.* (2011) indicou que em 80% dos casos sintomáticos ocorrem crises recorrentes de convulsões, confirmando as descobertas anteriores, de que a epilepsia é a manifestação clínica mais comum da NCC. A epilepsia é definida como duas ou mais crises convulsivas que ocorrem durante 24h (NASH *et al.*, 2006; NASH *et al.*, 2015). Na maioria dos países endêmicos cerca de 30% dos pacientes com NCC apresentam convulsões ou epilepsia (MEDINA *et al.*, 2005). As convulsões inicialmente ocorrem quando o parasito começa a degenerar, podendo ocorrer também em casos no qual se tem apenas cisticerco vesicular único (GARCIA *et al.*, 2014). As crises epilépticas ocorrem principalmente em três casos, como convulsões sintomáticas agudas no contexto de cisticercos ativos, ou pela formação de granuloma; ou como epilepsia crônica, associadas com lesões calcificadas em fase terminal (NASH *et al.*, 2006; NASH *et al.*, 2015).

Os déficits focais neurológicos ocorrem devido a presença de cisticercos no parênquima cerebral, ou mais frequentemente por efeitos deletérios de edema pericístico, ou como efeito de grande massa de cistos subaracnóides (FLEURY *et al.*, 2011). Os pacientes com NCC também podem apresentar acidentes vasculares cerebrais isquêmicos, estes estão relacionados a oclusão de artérias intracranianas, ou aprisionamento de nervos cranianos. Resultando em paralisia muscular, perda auditiva, paralisia do nervo facial ou neuralgia trigeminal, pois os sintomas neurológicos focais geralmente estão associados com o comprometimento do tronco cerebral (FLEURY *et al.*, 2011).

Em pacientes com NCC ocorrem vários graus de comprometimento na função cognitiva. Embora a NCC possa se apresentar como qualquer sintoma neurológico, os

pacientes são vistos frequentemente apresentando dor de cabeça isolada, associada com acidente vascular cerebral, ou movimentos musculares involuntários (CANTU *et al.*, 1996; DEL BRUTTO & GARCIA, 2012).

Pacientes adultos sintomáticos podem queixar-se de dores de cabeça em 27,7% dos casos (CARABIN *et al.*, 2011). A dor de cabeça em alguns pacientes pode ser um indicio do aumento da pressão intracraniana (SERPA *et al.*, 2006). Na maioria das vezes, a dor de cabeça em pessoas com NCC é recorrente ou crônica, e geralmente apresenta-se do tipo tensional ou enxaqueca (CRUZ *et al.*, 1999; MISHRA *et al.*, 2007; FOGANG *et al.*, 2014). Evidências acumuladas a partir de inúmeros relatos de casos e estudos epidemiológicos criaram uma associação entre NCC e a enxaqueca, com uma taxa entre 2,65 e 3,39% semelhante ao da epilepsia (CRUZ *et al.*, 1995).

O aumento da pressão intracraniana em pacientes com NCC pode resultar de vários mecanismos patogênicos. O mecanismo mais comum é a hidrocefalia. A hidrocefalia na NCC está associada com alta taxa de mortalidade, exceto quando é avaliada a neurocirurgia (SANTOS *et al.*, 1984; TORRES *et al.*, 2010).

A hipertensão intracraniana pode ocorrer devido a chamada encefalite cisticercótica, sendo esta uma forma grave da NCC parenquimatosa que normalmente afeta crianças e mulheres jovens nas primeiras três décadas de vida. Pacientes com encefalite cisticercótica possuem centenas de cisticercos pequenos e viáveis, ou em degeneração com uma reação inflamatória difusa. Estes pacientes apresentam nebulosidade da consciência, com início agudo ou subagudo, que está associada com convulsões e hipertensão intracraniana (RANGEL *et al.*, 1987). A hipertensão intracraniana, hidrocefalia ou ambos são vistos em 20-30% dos casos de pacientes com NCC isso ocorre devido a obstrução da circulação do fluido cérebro espinhal (DEL BRUTTO, 2013).

Na NCC extraparenquimatosa, os cisticercos podem estar presentes no sistema ventricular ou no espaço subaracnóide, causando uma hipertensão craniana aguda podendo ser potencialmente fatal (SAVIOLI *et al.*, 2010). A obstrução do fluxo de liquor ocorre quando o cisticerco se aloja no quarto ventrículo, e desta forma irá provocar hidrocefalia (AMAR *et al.*, 2000).

**Tabela 1.** Manifestações clínicas da neurocisticercose (NCC).

<b>Manifestações Clínicas</b>	<b>Alterações Patológicas</b>
<b>Epilepsia</b>	Inflamação pericística e formação de granuloma
<b>Aumento da pressão intracraniana</b>	Cisticercos gigantes, hidrocefalia.
<b>Déficit focal</b>	Compressão direta causada por cisticercos grandes ou múltiplos
<b>Meningite</b>	Inflamação subaracnóidea generalizada
<b>Mudanças mentais (Demência)</b>	Cisticercos múltiplos
<b>Encefalite</b>	Infecção intensa e edema
<b>Sintomas oftalmológicos</b>	Cisticercos intra-oculares
<b>Hemorragia subaracnóidea</b>	Aneurisma inflamatório

(Adaptado de Shima & Sharma 2009)

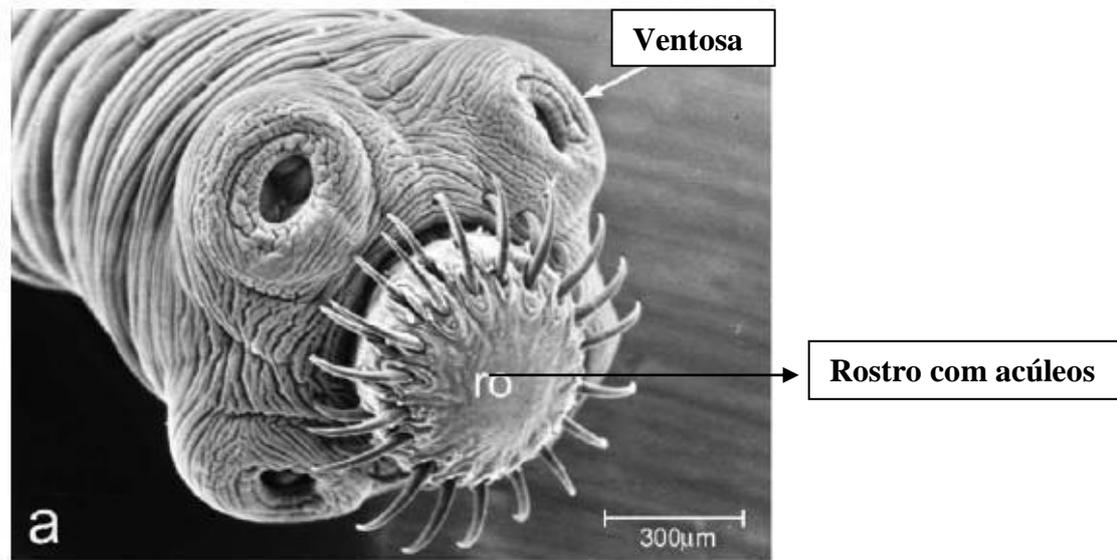
## **1.2. Caracterização do parasito *Taenia crassiceps***

O parasito *T. crassiceps* pertence ao filo *Platyhelminthes*, ordem *Cyclophyllidae*, classe *Cestodae* e família *Taeniidae* (FREEMAN, 1962; WILLMS & ZURABIAN, 2010).

Os parasitos adultos medem cerca de 7 a 14 cm de comprimento, possuindo o corpo achatado dorso-ventralmente, apresentando segmentos em proglotes hermafroditas, que podem se dividir em jovens, maduras e grávidas (Fig. 5). Possui um órgão de fixação anterior esférico (escólex), com duas coroas de acúleos (32 a 36 por fileiras) e quatro ventosas laterais (Fig. 3); (Fig. 4); (FREEMAN, 1962). Existe uma adaptação obrigatória do tegumento desse parasito em relação à ausência do tubo digestivo, para que este seja utilizado na absorção de nutrientes. A membrana externa das *Taenias* é coberta por uma rede de mucopolissacarídeos e glicoproteínas, denominada de glicocálix. Este é uma parte integrante da membrana celular subjacente, podendo interagir com os substratos, possuindo uma função de absorção. No glicocalix também ocorre desenvolvimento de ambos os aparelhos reprodutores, que são

utilizados para a realização do parasitismo (FREEMAN, 1962; KÖHLER & VOIGHT, 1988).

Este parasito apresenta como hospedeiros definitivos os canídeos silvestres, como por exemplo, a raposa ártica (*Vulpes lagopus*), a raposas vermelhas (*Vulpes vulpes*), lobos (*Canis lúpus*) e doninhas (*Mustelanivalis*). Além de poder infectar também os cães domésticos (*Canis familiares*) (BAGRADE *et al.*, 2009; STIEN *et al.*, 2010).



**Figura 3:** Adulto de *Taenia crassiceps* (Halton, 2004)



**Figura 4:** Proglotes de *Taenia crassiceps* (Adaptado de [http://monitoria-parasito.blogspot.com.br/2010\\_05\\_01\\_archive.html](http://monitoria-parasito.blogspot.com.br/2010_05_01_archive.html))

O cisticerco de *T. crassiceps* é também conhecido como *Cysticercus longicollis* (RUDOLPHI, 1810) e pode ser classificado, quanto aos seus estádios evolutivos nas

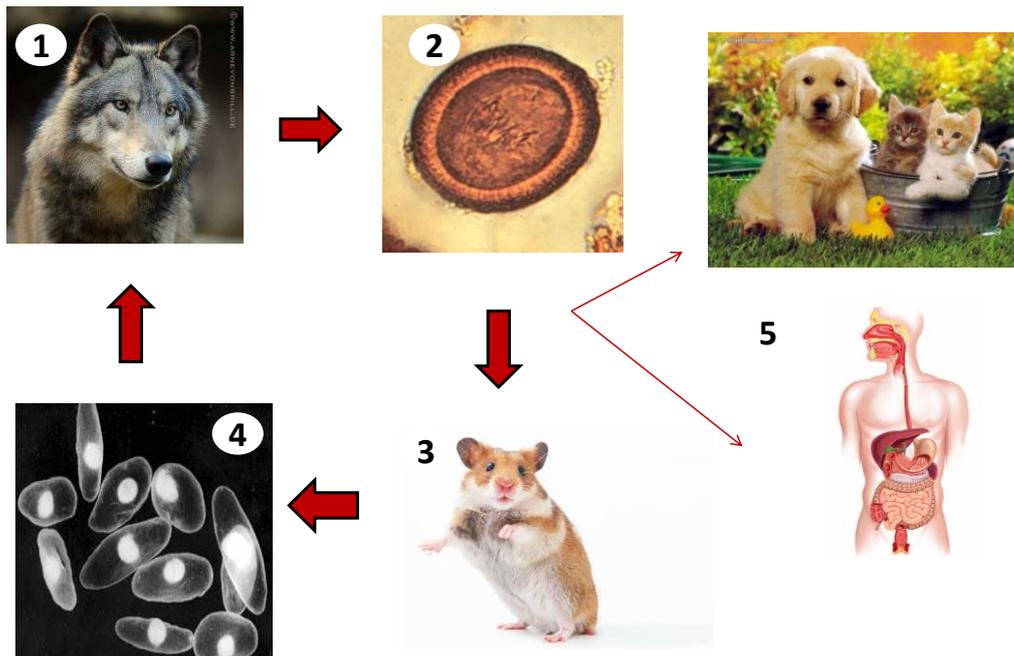
seguintes formas: inicial, larval e final. A forma inicial apresenta-se translúcida e sem brotamentos. A forma larval é translúcida e com brotamentos, possui um diâmetro de aproximadamente 5 mm, apresentando um escólex invaginado que é capaz de produzir vários brotamentos na superfície da membrana. A forma final apresenta-se opaca e sem nenhum brotamento (Fig. 5); (VINAUD *et al.*, 2007). Essa forma larval geralmente é identificada por volta de 12 dias após a ingestão do ovo pelo hospedeiro, podendo alcançar até 11 mm de diâmetro (FREEMAN, 1962; MAILLARD *et al.*, 1998; VINAUD *et al.*, 2007).



**Figura 5.** Fases de desenvolvimento dos cisticercos de *Taenia crassiceps* (acervo pessoal).

Os hospedeiros definitivos eliminam juntamente com suas fezes as proglotes grávidas, repletas de ovos que contaminam o ambiente. Quando ingeridos por hospedeiros intermediários, os ovos chegam ao trato digestório e liberam o embrião hexacanto (6 a 8  $\mu\text{m}$  de diâmetro) que penetrará pela mucosa, migrando pelo organismo do hospedeiro por meio da via linfática e hematogênica até se alojar em algum órgão ou cavidade, como na região subcutânea, cavidades pleural e abdominal, musculatura, sistema nervoso e globo ocular. O embrião se desenvolve em larva metacestóide ou cisticerco e se multiplica através de brotamentos. Cerca de 34 a 70 dias após a infecção no hospedeiros definitivos ocorre o desenvolvimento da larva metacestóide para o helminto adulto. Os ovos podem ser encontrados nas fezes do hospedeiro definitivo a partir de 5 a 6 semanas após a infecção, podendo ser mantido até 9 meses neste

hospedeiro (Fig.6); (FREEMAN, 1962; MAILLARD *et al.*, 1998)



**Figura 6:** Ciclo biológico de *Taenia crassiceps*. **1)** Hospedeiro Definitivo (canídeos silvestres eliminam os ovos junto com suas fezes no ambiente; **2)** ovos; **3)** Hospedeiros intermediários (roedores) vão ingerir os ovos, no qual estes vão para o trato digestório e liberam o embrião hexacanto; **4)** Cisticercos vão se desenvolver nos órgãos e tecidos do hospedeiro intermediário; **5)** Hospedeiro acidental (Adaptado de Vinaud 2007 e Fraga 2011).

### 1.3. Modelos experimentais para estudos da Neurocisticercose

Ocorre uma grande dificuldade em se trabalhar com os hospedeiros naturais de *T. solium* (humanos e suínos), pois a manutenção de suínos é de alto custo, e também a recuperação dos cisticercos nestes animais é demorada. Por isso utilizam-se modelos experimentais para o estudo da cisticercose e da neurocisticercose (LARRALDE *et al.*, 1990; MORALES-MONTOR & LARRALDE, 2005).

O desenvolvimento de modelos experimentais é de suma importância, pois permite estudar e entender melhor o mecanismo envolvido tanto na etiopatogenia, como na fisiologia da doença, sendo também utilizado para entender o mecanismo de ação dos fármacos e para adquirir conhecimento sobre a interação parasito-hospedeiro (LARRALDE *et al.*, 1990; MORALES-MONTOR & LARRALDE, 2005). Para que

isso realmente ocorra é necessário que o modelo experimental seja o mais semelhante possível da situação real que será estudada (FERREIRA *et al.*, 2005).

Dentre os modelos experimentais para a NCC existem: *Mesocestoides corti* (CARDONA *et al.*, 1999; ALVAREZ *et al.*, 2010) e *T. crassiceps* (ALVAREZ *et al.*, 2010; MATOS-SILVA *et al.*, 2012) ambos podem ser inoculados intracranialmente no encéfalo de camundongos. Também é utilizada como modelo experimental *T. solium* inoculados no encéfalo de suínos, já que *T. solium* não é considerada infecciosa para camundongos (NOVAK, 1972; MITCHELL *et al.*, 2005; FLEURY *et al.*, 2015).

Atualmente ainda não foi relatada infecção do SNC em nenhum dos hospedeiros envolvidos no ciclo do *M. corti*, nesse caso isso é considerado um ponto negativo para a utilização desse parasito como modelo experimental da NCC (ALVAREZ *et al.*, 2010). Os ovos deste parasito ao serem eliminados no ambiente, são ingeridos pelo hospedeiro intermediário (largato ou rato) (NOVAK, 1972) no qual irá desenvolver a larva madura ou metacestóide. Ocorre a ingestão do hospedeiro intermediário por um mamífero carnívoro (cão ou um gato) no qual o parasito adulto irá se desenvolver no intestino deste hospedeiro, liberando os ovos junto com as fezes, dando continuidade ao ciclo de vida. Este parasito possui um ciclo de vida similar ao observado na cisticercose por *T. solium*, principalmente em relação ao desenvolvimento dos estágios evolutivos dos parasitos, sendo um fator favorável para o seu uso como modelo experimental de NCC (WHITE, 1997). *M. corti* foi inoculado por via intracraniana demonstrando-se altamente invasivo, infiltrando-se dentro de dias no espaço subaracnóide, no espaço ventricular e no parênquima cerebral (WHITE, 1997). E este resultado se compara com os resultados encontrados em humanos infectados com *T. solium*, pois a maioria dos cisticercos são encontrados na área parenquimatosa (WHITE, 1997).

O parasito mais utilizado para o estudo da cisticercose humana é *T. crassiceps* devido ao seu rápido ciclo de desenvolvimento, pois consegue ser mantida sem necessidade de passagem por um hospedeiro definitivo, fácil manutenção, e principalmente a similaridade antigênica com *T. solium* (VAZ *et al.*, 1997; MATOS-SILVA, 2012).

Vinaud *et al.* (2008) realizou um estudo cujo o objetivo era de determinar as concentrações de glicose e demais ácidos orgânicos relacionados ao metabolismo energético *in vitro* de cisticercos de *T. crassiceps* nos estágios inicial, larval e final, quando expostos a doses letais de PZQ e ABZO. Foi obtido como resultado deste estudo que o ABZO e PZQ diminuíram a excreção de lactato e induziram vias aeróbias de

energia. As concentrações de glicose permaneceram inalteradas, dessa forma confirmando o bloqueio da sua absorção pelos fármacos utilizados.

Um estudo foi realizado por Matos-Silva *et al.* (2012) utilizando camundongos inoculados intracranialmente com cisticercos de *T. crassiceps* como modelo experimental para observar a reação inflamatória que ocorre durante a NCC. Os animais foram eutanasiados 7, 30, 60 e 90 dias após a infecção, ocorrendo a retirada do encéfalo para a análise histopatológica, para classificação dos parasitos e das lesões inflamatórias. Neste estudo obteve como resultado a indução da NCC nas duas linhagens de camundongos utilizados (BALB/c e C57BL/6). Os BALB/c apresentaram lesões inflamatórias mais intensas do que os camundongos C57BL/6 e também induziram necroses nos parasitos durante a fase tardia com padrão inflamatório agudo. Os C57BL/6 mostraram-se mais hábeis em provocar necrose precocemente nos cisticercos.

Foi realizado um estudo por Freitas *et al.* (2012) utilizando camundongos C57BL/6 inoculados no tecido subcutâneo com cisticercos de *T. crassiceps*, utilizado como modelo experimental para avaliar alterações histopatológicas e imunológicas. Podendo observar que ocorreu o desenvolvimento de granulomas, formados de neutrófilos e macrófagos no local da inoculação. Ocorreu um aumento na concentração de interferon  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) ao longo do curso da infecção, e também da concentração de IL-4 durante o período de transição a partir da fase inicial para a fase tardia da infecção. Concluiu-se a partir desses resultados que a destruição do parasito, parece estar associada com um aumento de IFN- $\gamma$ , sugerindo que a resposta imunológica tipo 1 é importante para o controle do parasito.

Estudo realizado por Fraga *et al.* (2012a) utilizou a *T. crassiceps* como modelo experimental para a cisticercose, com o objetivo de avaliar as alterações metabólicas de cisticercos de *T. crassiceps* quando inoculados intraperitonealmente em camundongos BALB/c expostos aos fármacos ABZ e PZQ. O tratamento de baixa dosagem causou um bloqueio parcial da captação de glicose pelos cisticercos apesar da diferença estatística não ser significativa. Observou-se uma ativação do ciclo do ácido cítrico tradicional. A detecção do  $\alpha$ -cetogluturato nos cisticercos expostos aos fármacos indica que estes utilizaram vias metabólicas diferentes das vias descritas anteriormente após o tratamento realizado *in vitro*.

Moura *et al.* (2013) realizou um estudo utilizando camundongos inoculados intraperitonealmente com cisticercos de *T. crassiceps* como modelo experimental para investigar se existe uma associação entre a disponibilidade de arginina e a susceptibilidade de *T. crassiceps* com a fibrose. Sendo estes animais tratados com inibidor de arginase ou suplementação com L-arginina, sendo que estes não alteraram a carga parasitária ou perfil da infecção. Logo o resultado obtido nesse estudo sugere que a atividade da arginase não interfere no controle de parasitos durante a infecção experimental com *T. crassiceps*, sendo importante para a fibrose que ocorre na cisticercose.

Em 2014 foi realizado um estudo por Leandro *et al.* utilizando camundongos BALB/c infectados intracranialmente com cisticercos de *T. crassiceps* como modelo experimental da NCC, para se investigar o metabolismo energético destes cisticercos quando expostos aos fármacos ABZ e PZQ. Mostrando que ocorreu uma reversão do ciclo do ácido cítrico (via da fumarato redutase) quando estes animais infectados foram expostos ao tratamento com ABZ e PZQ nas maiores dosagens, quando comparado com o grupo controle e os grupos tratados com dosagens menores.

No estudo realizado por Fleury *et al.*(2015) explorava-se a viabilidade de se infectar suínos por implementação cirúrgica de oncosfera ativada de *T. solium* no SNC. Foram realizados dois experimentos, o primeiro experimento utilizou 7 suínos que foram inoculados no espaço subaracnóide, 5 desses animais receberam uma dose elevada de oncosferas (1000-1500), e 2 desses animais receberam uma dose baixa de oncosferas (100-150), e um único parasito foi observado em dois suínos, sendo estes inoculados com elevada dose de oncosferas. No segundo experimento utilizaram 8 suínos que também foram inoculados no espaço subaracnóide, 4 desses animais receberam 500 oncosferas, e os 4 animais restantes receberam 1000 oncosferas cada. Nesse ultimo experimento foi observado a implementação de cisticercos múltiplos no sistema nervoso central. Estes resultados discordantes podem ter ocorrido devido a diferenças na viabilidade das oncosferas utilizadas em cada experimento. Os resultados desse estudo apontam para a necessidade de se utilizar oncosferas com elevada taxa de ativação. Após 4 meses de inoculação foi realizada a necropsia dos animais, e a maioria das oncosferas estavam degenerando, possuindo uma exacerbada resposta inflamatória ao redor delas. No entanto a proporção das oncosferas encontradas foi significativamente mais elevada no cérebro em relação aos cisticercos na musculatura.

Moura *et al.* (2016) realizou estudo com o objetivo de avaliar a resposta imune e sistêmica *in situ* através da dosagem de citocinas (IL-4, IL-10, IL-17 e IFN- $\gamma$ ) e também avaliar a resposta inflamatória local da NCC, utilizando *T. crassiceps* como modelo experimental. Neste trabalho, observou-se uma discreta intensidade de células inflamatórias de perfil imune misto, polimorfonucleares e células mononucleares durante o início da inflamação, observando um predomínio de mononucleares no final da inflamação. Já a resposta imune sistêmica mostrou um aumento significativo em todas as citocinas analisadas, com predomínio da Th2 no final da infecção. Estes resultados indicam que a localização dos cisticercos pode levar a ventriculomegalia (aumento dos ventrículos). A fase aguda da infecção mostrou um perfil Th1 / Th17 misturado, acompanhado de níveis elevados de IL-10, enquanto que a fase tardia apresentava um perfil imune Th2.

Isac *et al.* (2016) realizou um estudo cujo objetivo era analisar o impacto metabólico *in vitro* da nitazoxanida (NTZ) em cisticercos de *T. crassiceps*. Obteve como resultado um comprometimento parcial da captação de glicose induzido pelo fármaco NTZ, além de uma preferência pelas vias alternativas de produção de energia (oxidação dos ácidos graxos e catabolismo de proteínas), observando um predomínio do metabolismo aeróbio.

#### **1.4. Vias metabólicas em cisticercos de *Taenia crassiceps***

Os helmintos da classe *Cestoda* não possuem trato digestório, assim a absorção de nutrientes por esses parasitos é realizada através do tegumento. Este tegumento deve ser resistente as enzimas digestivas e ao sistema imunológico do hospedeiro definitivo. (KÖHLER & VOIGHT, 1988).

As necessidades nutricionais dos helmintos são supridas pelas substâncias existentes no ambiente. Como por exemplo: aminoácidos, carboidratos, vitaminas, minerais, nucleosídeos, ácidos graxos entre outros são retiradas de seus hospedeiros e armazenadas em camadas sub tegumentares ou vacúolos (KÖHLER & VOIGHT, 1988; KÖHLER, 2001).

O principal carboidrato utilizado como fonte de energia é a glicose, o glicogênio é utilizado como reserva energética, mas outros carboidratos também estão armazenados na membrana cística do parasito, como glicosaminas e galactose que podem ser utilizados quando houver falta ou escassez energética e em alguns casos no

qual a ação do fármaco dificulta a captação de glicose (KÖHLER & VOIGT, 1988; VINAUD *et al.*, 2007).

A degradação das substâncias de reserva energética gera substratos que vão ser utilizados na via do metabolismo aeróbio e na cadeia transportadora de elétrons, semelhante a do hospedeiro mamífero (DEL ARENAL *et al.*, 2001).

O metabolismo energético de endoparasitos é bastante estudado na área da bioquímica, porque as funções vitais e suas diferenças entre hospedeiro e parasito, oferecem oportunidades para se desenvolver novos fármacos antiparasitários diminuindo os prejuízos e efeitos adversos para o hospedeiro (KÖHLER & VOIGHT, 1988).

A razão pelo qual a capacidade oxidativa é mais nítida em alguns estádios de desenvolvimento em helmintos, inclusive no cisticerco de *T. crassiceps*, em comparação com o parasito adulto, ainda não é completamente compreendida, mas isso pode ocorrer devido as pequenas dimensões desse estágio evolutivo, necessitando assim de uma menor quantidade de oxigênio no cisticerco do que na fase adulta e também devido a disponibilidade suficiente de oxigênio no habitat do cisticerco, tecidos do hospedeiro, ser maior do que a disponibilidade de oxigênio no habitat do parasito adulto, lúmen intestinal (DORAIS & ESCH, 1969; VINAUD *et al.*, 2007).

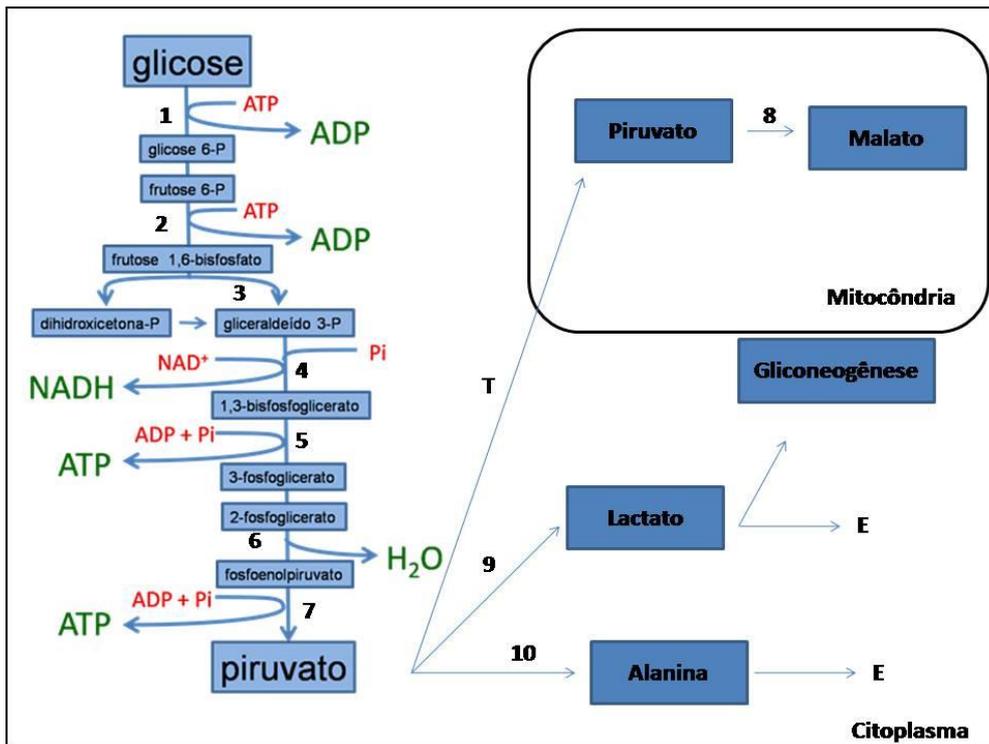
Existe ainda uma diferença metabólica entre os estádios evolutivos do cisticerco, sendo que este gasta mais energia durante a sua fase larval (possui brotamentos) do que na fase inicial ou final (DORAIS & ESCH, 1969; VINAUD *et al.*, 2007). Isso ocorre porque a fase larval é a fase evolutiva na qual ocorre a maior taxa de replicação celular (DEL ARENAL *et al.*, 2005; WILMS *et al.*, 2005). Sendo estes fatores importantes para estabelecer as vias responsáveis pela degradação completa dos substratos, como o ciclo do ácido cítrico, em seguida a  $\beta$ -oxidação e por fim a fosforilação oxidativa (KÖHLER & VOIGHT, 1988; VINAUD *et al.*, 2007).

#### **1.4.1 Via glicolítica**

A via glicolítica é o primeiro estágio do metabolismo de carboidratos, e consiste em um processo anaeróbio (processo de fermentação). Esse processo ocorre em três etapas: 1) a glicose é fosforilada sob a ação da enzima hexoquinase, formando a glicose-6-fosfato (G6F) (ocorre no citosol), sendo essa reação irreversível; a glicose-6-fosfato sofre a ação da enzima fosfohexose isomerase transformando-se em frutose-6-fosfato

(F6P). Por fim a frutose-6-fosfato sofre a ação da fosfofrutoquinase formando a frutose-1,6-bifosfato. 2) A frutose-1,6-bifosfato sofre ação da enzima aldolase formando o gliceraldeído-3-fosfato,este recebe mais um grupo fosfato e sofrendo a ação da enzima gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase ocorre a formação do 1,3-bifosfatoglicerato, este sofre a ação da fosfoglicerato kinase produzindo 3-fosfoglicerato; este é reduzido a partir da enzima fosfoglicerato mutase para 2-fosfoglicerato, este irá sofrer a ação da enzima enolase formando o fosfoenolpiruvato (PEP).3) O fosfoenolpiruvato (PEP) sofre a ação da enzima piruvato quinase formando o piruvato (Fig.7); (LEHNINGER, 2014).

O piruvato possui transito livre entre o citoplasma e a mitocôndria, ao entrar na mitocôndria sofre a ação da enzima málica mitocondrial originando o malato mitocondrial. O piruvato citosólico sofre a ação da enzima lactato desidrogenase gerando assim o lactato, que poderá ser excretado ou utilizado na gliconeogênese, este mesmo piruvato sofre a ação da enzima transaminase gerando a alanina que será excretada, ou este mesmo piruvato por possuir transito livre entre citoplasma/mitocôndria, e acabar entrando na mitocôndria (CORBIN *et al.*, 1998). Da mesma forma que esse processo foi descrito em mamíferos por Lehninger, em estudo realizado por Corbin *et al.* (1998) esse mesmo processo foi observado em cisticercos de *T. crassiceps*.

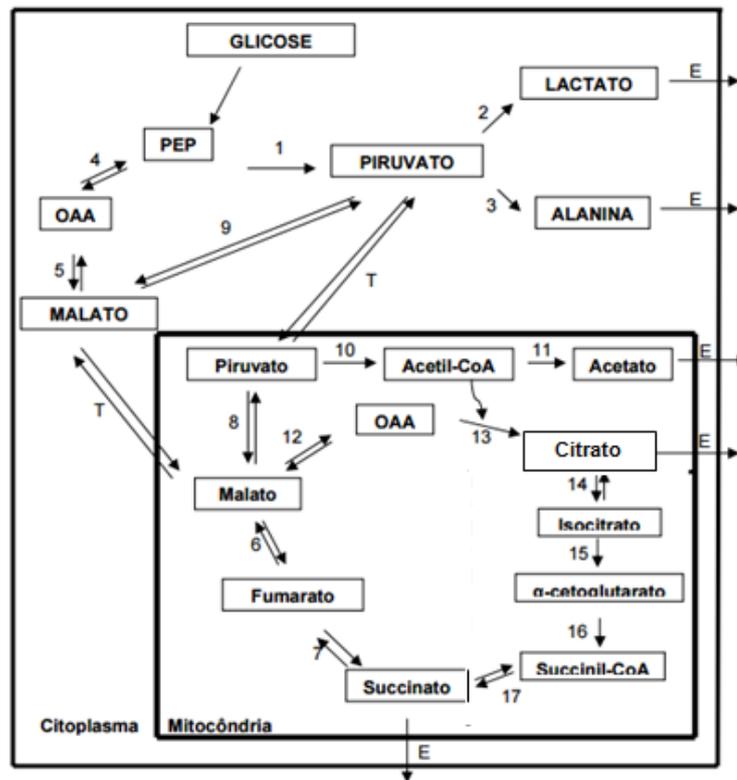


**Figura 7.** Esquema das reações envolvidas na via glicolítica. 1-Enzima hexoquinase; 2-Enzima fosfofrutoquinase; 3- Enzima aldolase; 4- Enzima gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase; 5- Enzima fosfoglicerato kinase; 6- Enzima enolase; 7- Enzima piruvato quinase; 8- Enzima málica mitocondrial; 9- Enzima lactato desidrogenase; 10- Enzima transaminase. **E:** significa que o ácido foi excretado (Acervo pessoal).

#### 1.4.2. Ciclo do ácido cítrico

Os estudos de Corbin *et al.* (1998) com cisticerco de *T. crassiceps* demonstraram que após o piruvato citosólico entrar na mitocôndria, este irá sofrer a ação da enzima piruvato ferredoxina oxidoreductase, produzindo assim o acetil-coA. Este sobre a ação da enzima acetoacetato descarboxilase, irá produzir o acetato, sendo este excretado. O malato por possuir trânsito livre entre o citoplasma e a mitocôndria, pode entrar na mitocôndria e sofrer a ação da enzima malato desidrogenase mitocondrial produzindo o oxaloacetato (OAA) este juntamente como acetil-coA sofrendo a ação da enzima citrato sintase para formar o citrato. Este será um dos metabólitos intermediários do ciclo, podendo ser excretados quando encontrados em grandes quantidades na mitocôndria, ou entrar no ciclo do ácido cítrico (Fig. 8). Em vertebrados o citrato sofre a ação da aconitase e irá produzir o isocitrato. Este sob a ação da enzima isocitrato desidrogenase irá produzir o  $\alpha$ -cetoglutarato. O  $\alpha$ -cetoglutarato sob a ação da enzima  $\alpha$ -cetoglutarato desidrogenase será convertido à succinil-CoA. A enzima succinil-CoA desidrogenase

catalisará a conversão de succinil-CoA em succinato, sendo este o produto intermediário do ciclo do ácido cítrico (LEHNINGER *et al.*, 2014).



**Figura 8.** Ciclo do ácido cítrico: **E:** os produtos finais excretados, **OAA:** oxaloacetato. **T:** o ácido orgânico possui transito livre entre o citoplasma e a mitocôndria. **1.** Enzima piruvato quinase; **2.** Lactato desidrogenase; **3.** Alanina transaminase; **4.** Fosfoenolpiruvato carboxiquinase **5.** Malato desidrogenase; **6.** Fumarase; **7.** Fumarato redutase; **8.** Enzima málica mitocondrial; **9.** Enzima málica citosólica; **10.** Piruvato ferredoxina oxidoreductase; **11.** Acetoacetato descarboxilase; **12.** Malato desidrogenase mitocondrial; **13.** Citratossintase; **14.** Aconitase; **15.** Isocitrato desidrogenase; **16.** α-cetoglutarato desidrogenase; **17.** Succinil-CoA sintetase. (Adaptado de Vinaud *et al.* 2007).

A produção de malato em helmintos tem uma função semelhante á da fermentação láctica, que é manter o equilíbrio redox pela ação das desidrogenases, e também produzir dois mols de ATP para cada mol de glicose que for catabolizado (KÖHLER & VOIGHT, 1988).

### 1.4.3. Via da fumarato redutase

É considerada a via inversa do ciclo do ácido cítrico, ocorre dentro da mitocôndria, no qual o malato possui transito livre entre o citoplasma e a mitocôndria.



ácidos graxos e catabolismo de proteínas), já que continua vivo após a inibição da enzima citocromo oxidase através do cianeto (DEL ARENAL *et al.*, 2005).

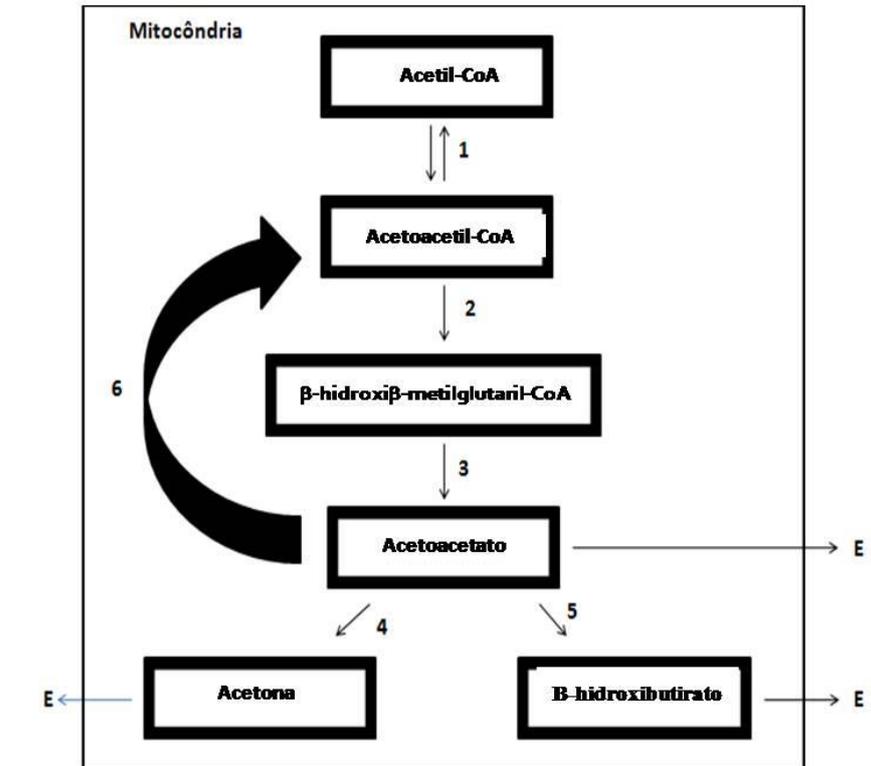
#### **1.4.4.1. Oxidação dos ácidos graxos**

A degradação dos ácidos graxos via  $\beta$ -oxidação ocorre dentro da matriz mitocondrial, sendo que os ácidos graxos junto com os alcoóis formam os lipídios. Esses compostos além de atuarem como reserva energética possuem função estrutural, pois a parte externa da superfície da membrana de parasitos do gênero *Taenia* é recoberta por uma cadeia de glicoproteínas e mucopolissacarídeos, que recebe o nome de glicocalix. Os cisticercos de *T. crassiceps* realizam reprodução assexuada através de brotamentos, assim necessitando de um suprimento maior de lipídios, que também atuam como um mecanismo de defesa do parasito contra a resposta imune do hospedeiro.

A maioria dos helmintos (endoparasitas) são incapazes de sintetizar ácidos graxos de cadeia longa, mas estes parasitos assim como outros organismos, são capazes de prolongar as cadeias de ácidos graxos que são absorvidas do meio em que eles se encontram. Em células de vertebrados este processo é metabolizado pelo sistema de alongamento de ácidos graxos que ocorre na mitocôndria e no retículo endoplasmático. Nestes parasitos esse sistema está presente na mitocôndria semelhante ao existente nos mamíferos, pois utiliza acetil-CoA. Os ácidos graxos que são absorvidos por estes parasitos a partir de fontes advindas do hospedeiro são rapidamente esterificados ao glicerol formando os triacilglicerois e ao fosfolipídio, em processo semelhante ao encontrado em animais (KÖHLER & VOIGHT, 1988).

#### **1.4.4.2. Produção de corpos cetônicos**

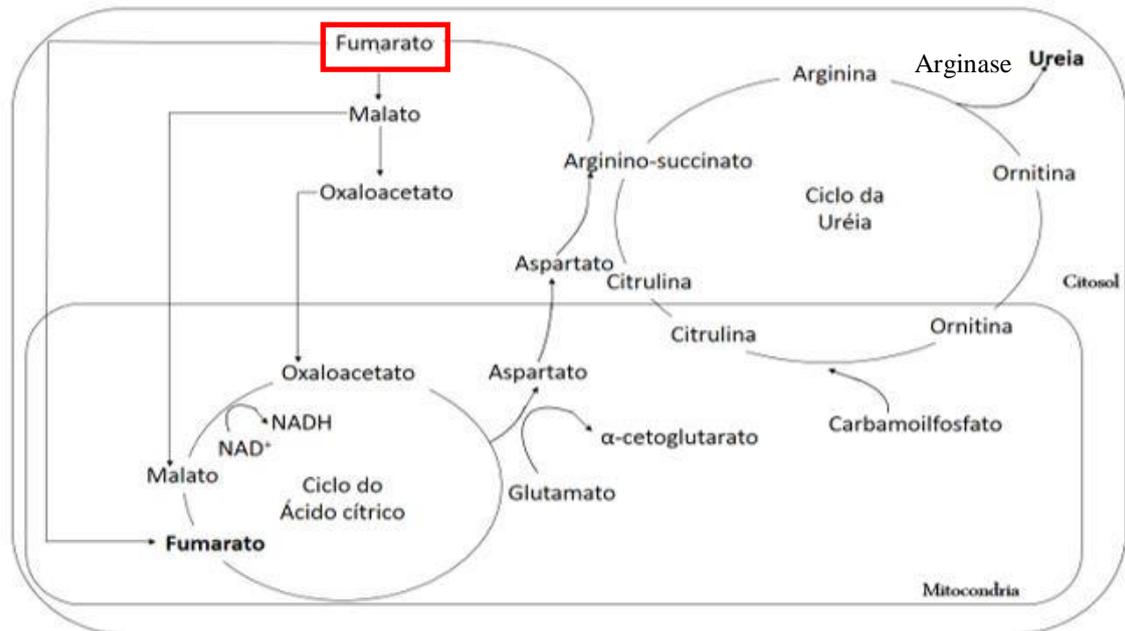
Os corpos cetônicos são produtos da transformação de lipídios em glicose, apresentando como grupo funcional a acetona e o  $\beta$ -hidroxibutirato, sendo estes sintetizados na matriz mitocondrial dos hepatocitos. Em vertebrados o acetoacetato, a acetona e o  $\beta$ -hidroxibutirato são resultados da oxidação do acetil-CoA, ocorrendo em situações de anaerobiose ou baixa tensão de oxigênio (LEHNINGER, 2014); (Fig.10)



**Figura 10.** Formação de corpos cetônicos a partir de Acetil-CoA em vertebrados. **E**- é a substância excretada. **1**- Enzima tiolase; **2**- HMG-CoA sintase; **3**- HMG-CoA liase; **4**- Acetato descarboxilase; **5**- β-hidroxiβ-butilirato desidrogenase; **6**- β-cetoacil-CoA transferase (Adaptado de LEHNINGER *et al.* 2014).

#### 1.4.4.3. Ciclo da uréia

O ciclo da uréia em humanos consiste em cinco reações como observado na figura 11, duas na mitocôndria e três no citosol. Este ciclo inicia-se na mitocôndria, onde a partir do ciclo do ácido cítrico ocorre a formação do aspartato, este aspartato irá para o citoplasma onde ocorre a produção do arginino-succinato, que pode entrar no ciclo da uréia para produzir a argina, mas também pode ser utilizado para a produção do fumarato a partir do ciclo da uréia. A arginina sob a ação da enzima arginase será convertida em ornitina, e também ocorre a excreção uréia. A ornitina entra na mitocôndria e condensa com o carbamoilfosfato formando a citrulina, que novamente irá formar o arginino-succinato completando o ciclo (LEHNINGER *et al.*, 2014).



**Figura 11.** Ciclo da uréia. A partir do ciclo do ácido cítrico ocorre a formação do aspartato, esse irá produzir arginino-succinato dando início ao ciclo. Em seguida ocorre a formação da arginina, esta irá sofrer a ação da enzima arginase que vai excretar uréia e formar a ornitina, em seguida a ornitina condensa com o carbamoilfosfato formando assim a citrulina, que conseqüentemente irá formar novamente arginino-succinato dando continuidade ao ciclo (Adaptada de LEHNINGER *et al.*, 2014).

Os helmintos são capazes de secretar íons amônio, ácido úrico ou uréia. A uréia pode ser formada a partir de 4 fontes: 1) absorção de arginina a partir do ambiente, que é catabolizada pela arginase; 2) absorção da uréia a partir do ambiente; 3) degradação das purinas pela via do ácido úrico; 4) a partir da utilização da amônia e do bicarbonato, dando origem ao ciclo da ornitina-uréia (MOHAMED *et al.*, 2005).

O ciclo da uréia é uma importante via metabólica para a excreção de substâncias tóxicas, como a amônia em mamíferos. Tem sido relatado em helmintos, tais como a *Fasciola hepatica* (MOHAMED *et al.*, 2005), indicando a capacidade dos invertebrados de executar esse mecanismo homeostático. Essa via foi relatada em cisticerco de *T. crassiceps* e descrita por Vinaud *et al.* (2009).

### 1.5. Fármacos anti-helmínticos utilizados no tratamento de NCC

Até 1970 a terapêutica medicamentosa para NCC era restrita apenas ao tratamento de pacientes sintomáticos, com adoção de medidas paliativas. A partir de 1990 o albendazol (ABZ) e o praziquantel (PZQ) têm sido utilizados no tratamento de

algumas manifestações clínicas da NCC (TAKAYANAGUI, 1990). Nos estudos comparativos, o albendazol tem se revelado mais eficaz que o praziquantel (SOTELO *et al.*, 1990; CRUZ & HORTON, 1991). Nos estudos de Takayanagui & Jardim (1992), foi observado o desaparecimento de 88% dos cisticercos após o tratamento com ABZ, e de apenas 50% após o tratamento com PZQ. Nesse mesmo estudo puderam constatar que o ABZ foi mais tolerado pelos pacientes, e possuiu uma menor frequência de reações adversas, facilitando o seu uso na terapêutica.

O objetivo do tratamento é destruir os cisticercos, e ao mesmo tempo ter um controle simultâneo da resposta imune do hospedeiro usando medicamentos antiinflamatórios, tais como corticosteróides. Essa estratégia tem sido utilizada em todo o mundo e impede a inflamação prolongada que está relacionada com a degeneração dos cisticercos. Essa combinação de fármacos apresenta uma melhora na evolução clínica e nos resultados em pacientes com NCC (TAKAYANAGUI *et al.*, 2011).

Apesar da OMS preconizar o tratamento da NCC com ABZ e PZQ, isolados ou em associação, já existem relatos de parasitos resistentes a esse tratamento (WHO, 2010). Este fato gera muita preocupação, frente às poucas alternativas de tratamento existentes (GREENBER, 2005; MARQUÉZ-NAVARRO *et al.*, 2013).

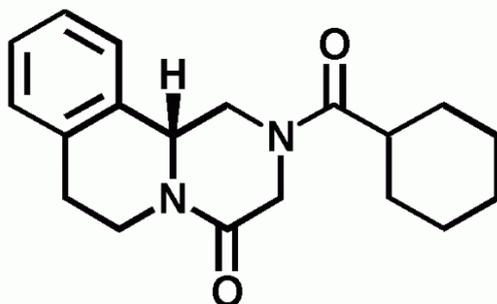
A dosagem e a duração do tratamento irão depender do número, localização, e estágio de desenvolvimento do cisticerco. É importante ressaltar que a administração do fármaco antiparasitário, pode induzir o aumento do edema cerebral já existente. Dessa forma o tratamento antiparasitário é contra-indicado em NCC subaracnóide, pois o paciente pode apresentar hipertensão craniana, pois a morte do parasito gera uma reação inflamatória local (GARCIA *et al.*, 2014).

Embora o tratamento com os cestocidas ABZ e PZQ tem sido o foco da maioria dos estudos, outros tratamentos também têm sido realizados. Como por exemplo, as drogas antiepilépticas (DAE), intervenções cirúrgicas e medidas de suporte. Os usos destes medicamentos em curto prazo possuem efeitos colaterais toleráveis. Mas quando usados a longo prazo como é o caso da NCC, os efeitos colaterais são mais frequentes, graves e até mesmo fatais (NASH *et al.*, 2006).

### **1.5.1 Praziquantel**

O praziquantel (PZQ) foi desenvolvido em 1975, nos laboratórios da Bayer na Alemanha, possuindo a seguinte estrutura química 2- (ciclohexilcarbonil)-1,2,3,6,7,11b-

hexahydro-4H-pyrazino (2,1- a) isoquinolin2-4-one (Fig. 12). É um pó cristalino quase branco, possuindo o ponto de fusão entre 136-140°C. É estável em condições normais, e praticamente insolúvel em água (ANDREWS *et al.*, 1983).



**Praziquantel (PZQ)**

**Figura 12.** Estrutura química do praziquantel (Fonte: <http://www.thesynapticleap.org/schisto/images/PZQ>)

Ensaio quimioterapêuticos têm sido realizados para avaliar o uso clínico do PZQ no tratamento de trematódeos e cestódeos em humanos. E vários resultados positivos foram publicados (LEE & CHAI, 1985; KEIZER & UTZINGER, 2004). Tem sido relatado que a maior parte das infecções por trematódeos e cestódeos em humanos, com exceção da *Fasciola hepatica* e do *Echinococcus granulosus*, são tratados com sucesso utilizando as dosagens recomendadas do praziquantel, entretanto serão dosagens diferenciadas de acordo com a espécie e localização do parasito (LEE & CHAI, 1985; KEIZER & UTZINGER, 2004).

Em alguns casos raros, o PZQ pode causar reações anafiláticas ou hipersensibilidade em alguns pacientes (KYUNG *et al.*, 2011; LEE *et al.*, 2011). Após a administração do PZQ é possível observar com frequência os efeitos colaterais em 30-60% dos pacientes tratados, mas esses geralmente são transitórios desaparecendo após 24h da ingestão do fármaco (JAOKO *et al.*, 1996; BERHE *et al.*, 1999).

O PZQ é absorvido rapidamente no intestino humano, mais de 80% das doses administradas via oral são absorvidas pelo trato gastrointestinal, atingindo sua concentração máxima no plasma em um prazo de 1-2 horas (LEE & CHAI, 1985). Este fármaco é submetido a um metabolismo de primeira passagem no fígado, com o desaparecimento rápido da circulação, tendo uma meia-vida de 1-2h (LEE & CHAI, 1985). A eliminação do fármaco ocorre 24h após a administração, preferencialmente

através da urina (60-80%), podendo ser eliminado também pelas fezes e bile (15-35%), (STEINER *et al.*, 1976; ANDREWS *et al.*, 1983; JONG-YIL CHAI, 2013).

A biodisponibilidade do PZQ sofre um aumento se for administrada simultaneamente com a cimetidina, que é uma substância que inibe a atividade do citocromo P450 (importante na hidroxilação de fármacos), provocando um aumento de 100% da biodisponibilidade do fármaco, logo essa associação de praziquantel com cimetidina tem sido utilizada especialmente para o tratamento da NCC, pois para esse tratamento é necessária concentrações elevadas de fármaco (METWALLY *et al.*, 1995; JUNG *et al.*, 1997).

A eficácia terapêutica do PZQ em cestódeos foi documentada pela primeira vez, entre 1976 e 1977, descrita antes mesmo do uso de PZQ em trematódeos (THOMAS & GÖNNERT, 1977). No entanto, os primeiros estudos, sobre o efeito *in vitro* do PZQ foram realizados em 1980 em *Hymenolepis nana*, *H. diminuta*, *Equinococcus multilocularis*, e em 1981 foi realizado o estudo em *T. taeniaeformis* (BECKER *et al.*, 1981). O PZQ foi eficaz contra os metacestóides de *T. solium* e *T. multiceps*, no tratamento do hospedeiro animal. O PZQ, na dosagem de 50 mg/kg/dia durante 10 dias levou os cisticercos à morte na musculatura dos suínos, embora os cisticercos na cavidade intracraniana não morreram com essa dosagem. Concluindo que quanto maior a dosagem ou a duração do tratamento, maior a eficácia do fármaco no cérebro de suínos (ANDREWS *et al.*, 1983).

A hidatidose em humanos, causada pelo metacestóide (cisto hidático) de *E. granulosus* e *E. multiloculares* não possuem êxito com o tratamento apenas a base de PZQ (ANDREWS *et al.*, 1983). Sendo que a eficácia terapêutica só pode ser alcançada quando é utilizada a combinação do ABZ (10-15 mg/kg/dia) com o PZQ (50 mg/kg/dia) sendo realizado o tratamento durante 1 mês, geralmente utilizado como pré-operatório (HARALABIDIS *et al.*, 2008; TEKIN *et al.*, 2011).

A eficácia do PZQ no tratamento da NCC, quando o cisticercos está localizado no parênquima cerebral ou no ventrículo, ocorre devido a passagem metabolizada da droga através da barreira hematoencefálica (LEE & CHAI, 1985).

O mecanismo de ação do PZQ de forma detalhada ainda não foi elucidado (CIOLI, 2000), mas alguns efeitos são bastante conhecidos, como a paralisia muscular do parasito, como é observada no caso da esquistossomose (CIOLI, 2000). A contração muscular é um dos primeiros efeitos observados no parasito exposto ao fármaco tanto *in vivo* quanto *in vitro* (CIOLI & PICA-MATTOCCIA, 2003). Em decorrência da

contração, os parasitos perdem a capacidade de fixação, devido ao relaxamento da musculatura da ventosa ventral (acetábulo), e são arrastados para o fígado, onde ocorrem reações do sistema imunológico contra o parasito, e, em conjunto com outros agravos ao parasito, culminará com a eliminação dos mesmos (PAX *et al.*, 1978).

Outro efeito precoce que pode ser observado após o uso do PZQ, são as alterações morfológicas no tegumento devido ao rápido influxo de Ca<sup>+</sup>, ocorrendo a vacuolização na base do tegumento, acompanhado por um aumento na exposição do antígeno de superfície do parasito (MELHORN *et al.*, 1981; CIOLI & PICA-MATTOCCIA 2003; CHAN *et al.*, 2012).

A grande vantagem de se usar o PZQ é o seu amplo espectro de atividade, sendo que desde o primeiro estudo realizado com animais já havia comprovado que esse fármaco era igualmente eficaz contra o *Schistosoma mansoni*, *S. haematobium*, *S. japonicum*, *S. intercalatum* e *S. mattheei* (WEBBE & JAMES, 1977). O PZQ é eficaz em todas as idades, e nas diferentes formas clínicas da esquistossomose, incluindo a esquistossomose cerebral causada por *S. japonicum* a síndrome neurológica causada por *S. mansoni* e *S. haematobium* usado com sucesso em ambos os casos (SCRIMGEOUR & GADJUSEK, 1985). Apesar de o PZQ ser a primeira escolha para o tratamento da esquistossomose, a sua baixa solubilidade, restringiu a sua administração via oral (ANDREWS, 1985; GONZÁLEZ-ESQUIVEL *et al.*, 2005). Fazendo com grandes dosagens sejam necessárias para atingir a concentração adequada para os locais alvos (GONZÁLEZ-ESQUIVEL *et al.*, 2005).

A eficácia do PZQ em pacientes humanos com *Schistosoma sp* geralmente é satisfatória, embora seja mais eficaz nas infecções pelo parasito adulto. Uma única dose oral de 40 mg/kg, é útil para o tratamento em massa, sendo bastante eficaz, com taxas de cura de 85,7% para *S. japonicum*, 79,4-88,6% para *S. mansoni*, 83,0-88,9% para *S. haematobium*, e 75,0% para *S. mekongi* (ANDREWS *et al.*, 1983; COULIBALY *et al.*, 2012; LOVIS *et al.*, 2012). A taxa de cura pode ser aumentada para 99,5%, com o uso de duas doses de 40 mg/kg para *S. japonicum* (SETO *et al.*, 2011) e para 80,8% com o uso de uma única dose de 75 mg/kg para *S. mekongi* (LOVIS *et al.*, 2012).

A eficácia do PZQ para o tratamento de infecções de parasitos hepáticos (exceto para *F. hepatica*) é semelhante a infecção por *Schistosoma sp* (LEE & CHAI, 1985). Uma dose única de 40 mg/kg é utilizado para o tratamento em massa, com taxas de cura de 87,1% para *Clonorchis sinensis*, 90,0% para *Opisthorchis viverrini*, e 97,0%

para *O. felineus*. O aumento da dose para 3x25 mg/kg/dia durante 1 dia ou 2 dias pode aumentar a taxa de cura para 85,7-100% para *C. sinensis* (RIM & YOO, 1979).

Tem sido relatado o surgimento de cepas de *S. mansoni* e *S. japonicum* resistentes ao praziquantel (LIANG *et al.*, 2002; WANG *et al.*, 2012b). Em outras espécies de nematódeos, a resistência ao praziquantel não tem sido documentada (KEIZER & UTZINGER, 2004). Há vários relatos de uma possível resistência PZQ em *Schistosoma* (FALLON *et al.*, 1996; CIOLI, 2000; DAY & BOTROS, 2006; DOENHOFF *et al.*, 2008; WANG *et al.*, 2012b), incluindo aqueles que utilizam de estratégias para induzir experimentalmente o *Schistosoma* PZQ-resistente.

As infecções por *T. solium* e *T. saginata* são altamente sensíveis a uma dose baixa (10 mg/kg) de PZQ, possuindo uma taxa de cura de 96-100% (RIM *et al.*, 1979; CHAI *et al.*, 1985). As infecções pelo cestóide *Diphyllobothrium latum* são tratadas com sucesso por PZQ, na dosagem de 10-25 mg/kg, com uma taxa de cura de 100% (BYLUND *et al.*, 1977; CHAI *et al.*, 1985). No entanto, infecções por *H. nana* geralmente necessitam de uma dose mais elevada (25 mg/kg) para se obter uma taxa de cura satisfatória (SCHENONE, 1980).

No tratamento da NCC, a administração de corticosteróides, como a dexametasona, deve sempre acompanhar o tratamento anti-helmintico para reduzir as reações adversas, tais como dor de cabeça, vômitos e sintomas neurológicos, que podem ocorrer devido ao aumento da pressão intracraniana (LEE & CHAI, 1985).

A NCC ventricular ou subaracnóide, e a cisticercose ocular são refratárias ao tratamento com PZQ (SANTOS *et al.*, 1984; LEE & CHAI, 1985; TAKAYANAGUI *et al.*, 2011), provavelmente devido à barreira hematoencefálica ou barreira hemato-ocular que interfere na difusão do fármaco no local no qual é encontrado o cisticerco. Sendo que nesses casos, a remoção cirúrgica é o melhor tratamento a ser realizado (TAKAYANAGUI *et al.*, 2011). O PZQ permanece contra-indicado em cisticercose ocular em qualquer dosagem. No entanto, a dose de PZQ, utilizado como um cestocida, deve ser a mais baixa possível (5 mg/kg de peso corporal) na forma de uma dose única, que é 1/5 da dose mínima diária, com duração de 3-6 dias em cisticercose cutânea e 1/10 da dose mínima diária, dada por 2 semanas em NCC (JUNG *et al.*, 1997).

Na NCC racemosa é recomendado o uso de ABZ combinado com PZQ durante 1 mês, porque a excisão cirúrgica para a retirada completa dos cisticercos da cisterna basal é impraticável (TAKAYANAGUI *et al.*, 2011).

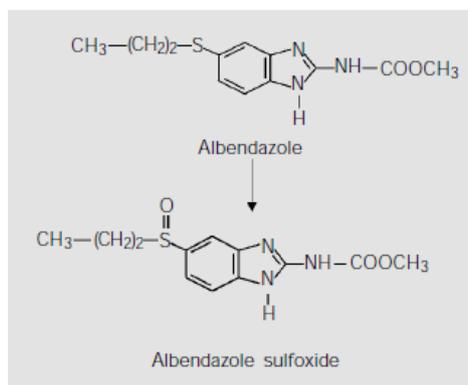
Em estudo realizado por Leando *et al.* (2014) *in vivo* com cisticercos de *T. crassiceps* implantados no encéfalo de camundongos, tratados com PZQ demonstrou que os cisticercos utilizaram a via da fumarato reduase, como uma via alternativa para produzir energia na presença deste fármaco.

### 1.5.2 Albendazol

O primeiro composto benzimidazólico foi introduzido na medicina clínica no início dos anos 1960, sendo este denominado de tiabendazol. O tiabendazol tinha uma aplicação limitada devido à sua frequência de efeitos colaterais (anorexia, náuseas, vômitos, desconforto epigástrico, vertigem, dor de cabeça, fadiga, sonolência, bradicardia entre outros) (COOK, 1991). Sem dúvidas o anti-helmíntico mais eficaz de largo espectro do grupo dos benzimidazólicos é o albendazol devido a sua rápida absorção no lúmen intestinal alcançando os tecidos em altas concentrações, mesmo quando administrado em baixas dosagens. Foi introduzido em 1979 e desde então não saiu mais do mercado (COULAUD & ROSSIGNOI, 1984).

O albendazol (ABZ), carbamato de metil N-(5-propilsulfanil-3H-benzoimidazol-2-il) (Fig.13),  $C_{12}H_{15}N_3O_2S$  e  $265,33 \text{ g.mol}^{-1}$ , apresenta atividade contra nematódeos, trematódeos e cestódeos, logo devido a sua eficiência e baixo custo tem se tornado um medicamento de ampla utilização, tanto na medicina veterinária quanto na medicina humana (CAMPBELL, 1990).

Inicialmente o ABZ é oxidado ao seu metabolito ativo denominado de albendazol-sulfóxido (ABZ-SO) (MARRINER *et al.*, 1986); (Fig.13). Apresenta uma rápida velocidade de absorção intestinal, quando convertido ao seu composto ativo (ABZ-SO), desta forma não ocorre a sua detecção no plasma (EDWARDS & BRECKENRIDGE, 1988).



**Figura 13.** Estrutura química do albendazol e do albendazol sulfóxido (Adaptado de Oliveira *et al.* 2015)

A absorção do ABZ é reforçada por uma refeição gordurosa, pois o fármaco é lipossolúvel. O albendazol sulfóxido (ABZO-SO) é 70% ligado a proteína e tem uma meia vida de 9h. Com doses de 10 mg/kg/dia, a concentração ativa da droga em cisto hidático varia de 0,52-1,61 mg/L (GIL-GRANDE *et al.*, 1993). E no tratamento de tecidos com hidatidose são necessários 0,5 mg/L para obter uma terapêutica eficaz (WEN *et al.*, 1994). A concentração de ABZO em nível plasmático varia de acordo com o local no qual o parasito é encontrado, ou seja, no liquido cefalorraquidiano (cerca de 50%) e no tecido cerebral (cerca de 40%) (MOSKOPP & LOTTERER, 1993).

O ABZ em dose única diária (10 mL da suspensão, sendo que a suspensão oral tem 40 mg/mL de ABZO) demonstrou eficácia de 100% no tratamento de ascaridíase e enterobíase, 92% no de ancilostomíase, 90% no de tricuriase e 97% no de giardíase em crianças. No tratamento contra *Necator americanus* a erradicação foi de 75%. A dose única diária (10 mL da suspensão), utilizada por três dias consecutivos, teve eficácia de 86% na teníase e de 62% na estrogiloidíase (JAGOTA *et al.*, 1986; DUTTA *et al.*, 1994; HORTON, 2002).

Este fármaco atua ligando-se a  $\beta$ -tubulina do parasito, impedindo a polimerização da actina, dessa forma bloqueando a captação da glicose de forma seletiva e irreversível, assim interferindo no metabolismo energético do parasito, pois reduz o armazenamento do glicogênio, considerada esta a principal fonte de glicose para ser metabolizada e obter energia do parasito (CIOLI & PICA-MATTOCCIA, 2003; KÖHLER, 2001; PALOMARES *et al.*, 2007).

Segundo a empresa fabricante do ABZ (Vitapan®) este fármaco inibe a polimerização dos microtúbulos, diminuindo o nível de energia existente no meio no qual o parasito se encontra, tornando-se este inadequado para a sobrevivência do

parasito. Assim esse fármaco irá imobilizá-lo em seguida ocorrendo a morte do parasito. Sobre a atuação deste fármaco no cisticerco, foi observado que ele age da mesma forma que foi descrita pelo fabricante, ou seja, inibindo e causando uma depleção de energia. Aproximadamente 75% a 90% dos cisticercos desaparecem após o uso desse fármaco, também sendo eficaz nas formas subaracnóides, meníngeas e ventriculares da NCC (SHIMA & SHARMA, 2009).

O ABZO causa perfurações no tegumento, além de causar uma ruptura das fibras musculares do parasito. Sabe-se que a forma adulta do parasito apresenta um tegumento mais delgado, desta forma apresentando uma melhor ação do fármaco. Enquanto que as formas larvais são mais resistentes ao tratamento (MARKOSKI *et al.*, 2006).

O tratamento recomendado para NCC inicialmente, é a utilização de 15mg/kg durante 30 dias, mas outros estudos mostraram que 7 dias de tratamento, seria efetivo da mesma maneira que o tratamento de 30 dias, isso ocorre pois a dosagem e os dias de tratamento realizados em caso de NCC dependem da situação individual de cada paciente (SHIMA & SHARMA, 2009).

O albendazol foi utilizado amplamente de 1970 a 1990 obtendo êxito no tratamento da NCC, apesar de que em alguns casos ainda era necessário a intervenção cirúrgica. Ainda assim, o albendazol tem sido apontado por alguns pesquisadores como mais eficiente no tratamento que o praziquantel (COOK, 1990; COOK, 1991).

Tanto o ABZ quanto o PZQ causam a morte do parasito, levando a uma resposta inflamatória, ocorrendo o pico entre o 5º e o 7º dia do tratamento. Esta resposta inflamatória quando associada com a encefalite, ou reações das meninges, podem levar a um aumento da pressão intracraniana, levando o paciente a óbito. Devido a esse fato, é de suma importância o acompanhamento médico durante todo o tratamento (NOGALES-GAETE *et al.*, 2006).

O uso generalizado dos benzimidazólicos em geral, tem desenvolvido resistência do parasito a estes agentes quimioterápicos. Isso ocorre devido a sua alta eficácia, baixo custo e administração oral, levando a utilização desses fármacos em larga escala no tratamento de infecções intestinais por nematódeos.

De acordo com estudo realizado *in vivo* por Zurabian *et al.* (2013) o ABZ é capaz de diminuir significativamente a carga parasitaria de *T. crassiceps* infectando camundongos, podendo ainda causar danos teciduais nos cisticercos inoculados na cavidade intraperitoneal em camundongos.

Os estudos de Palomares *et al.* (2006) demonstraram que *in vitro* o ABZ-SO gerou várias mudanças na morfologia e estrutura do cisticerco de *T. crassiceps*, como por exemplo, a perda parcial de tecidos, que está associado a essa ação dos benzimidazóis. O ABZ-SO destrói os microtúbulos, assim interferindo na nutrição do cisticerco; leva também a ruptura das células flamas, mostrando que houve um prejuízo na função excretora causado pelos danos gerados nos microtúbulos. Dessa forma é possível concluir que o ABZ-SO gera um colapso interno no parasito, sendo alterada sua forma e reduzindo o fluído vesicular.

Um estudo realizado por Escobedo *et al.* (2013) tendo como objetivo notificar a eficácia terapêutica do ABZ e do ABZ-SO, administradas em diferentes dosagens e esquemas terapêuticos, contra bovinos infectados experimentalmente com *T. saginata*. Foram realizados 11 ensaios entre os anos de 2002 e 2012, compostos por 10 experimentos com ABZ-SO e 1 com ABZ. Os resultados encontrados em um estudo realizado em 2008 com ABZ-SO (2,5 mg/kg) administrados 30,60 e 90 dias após a inoculação, em relação a eficácia contra cisticerco de *T. saginata*, revelou-se que essa formulação atingiu uma eficácia de 9,32% contra o cisticerco (ESCOBEDO *et al.*, 2013). Devido a essa baixa eficácia foi realizado um novo experimento nesse mesmo ano (2008), com o aumento da dosagem do ABZ-SO (7,7 mg/kg por via subcutânea), obtendo uma eficácia de 36,8%. Entre os anos de 2009 e 2010 diferentes dosagens (5 e 15 mg/kg) e esquemas terapêuticos (45 DPI e 90 DPI; 30, 60 e 90 DPI) foram testados, com o objetivo de aumentar a eficácia do ABZ-SO contra cisticerco de *T. saginata*. Nesses casos a eficácia variou de 0-30%. No ultimo teste realizado com ABZ-SO a via de administração foi alterada (via oral), bem como o esquema de tratamento e as dosagens. Essas alterações conseguiram aumentar a percentagem da eficácia do ABZ-SO para 88% (ESCOBEDO *et al.*, 2013).

Em estudos realizados por Fraga *et al.* (2012<sup>a</sup>, 2012<sup>b</sup>) após o tratamento *in vivo* de cisticercos de *T. crassiceps* inoculados na cavidade intraperitoneal com ABZ mostrou um aumento de oxaloacetato e  $\alpha$ -cetoglutarato, induzindo o parasito a utilizar uma fonte alternativa de produção de energia, como a oxidação dos ácidos graxos, porque se observou o aumento na produção de  $\beta$ -hidroxibutirato e propionato.

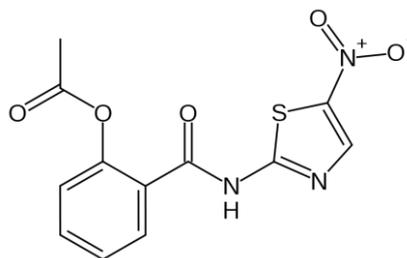
Em estudo realizado por Leandro *et al.* (2014) após o tratamento *in vivo* de cisticercos de *T. crassiceps* inoculados intracranialmente com ABZ demonstrou uma tendência a aumentar a fermentação láctica e a produzir principalmente acetato ao invés do propionato. Sendo que a utilização dessa via alternativa, pode causar um declínio

energético para o parasito, pois a fermentação láctica é menos rentável energeticamente. Sendo essas alterações causadas pela ação do ABZ na captação de glicose.

### 1.5.3 Nitazoxanida

A nitazoxanida (NTZ) é um fármaco antiparasitário do grupo dosnitrotiazóis. Sendo descrito pela primeira vez em 1975, por Jean François Rossignol no Instituto Pasteur (ROSSIGNOL & CAVIER, 1975). A NTZ é derivada da nitrotiazolil-salicilamida de amplo espectro, que mostra uma excelente atividade contra uma grande variedade de protozoários, bactérias, nematódeos e trematódeos (WHITE, 2003).

A NTZ é um pó cristalino, amarelo brilhante, pouco solúvel em etanol e praticamente insolúvel em água, mas é solúvel em acetonitrila. Quimicamente é a acetilxi-N-(5-nitro-2-tiazolil) benzamida, (fig.14) apresentando como fórmula molecular: C<sub>12</sub>H<sub>9</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>S, e seu peso molecular 307,3. No Brasil começou a ser comercializada em 2006, encontra-se disponível na forma de comprimidos revestidos e pó para suspensão oral, sobre o nome comercial de ANNITA® (Figura 14); (MALESUIK, 2010).



**Figura 14.** Estrutura química da Nitazoxanida (MALESUIK, 2010)

Estudos farmacocinéticos demonstraram que a NTZ é absorvida no trato gastrointestinal (TGI). No sangue é total e rapidamente hidrolisada pelas esterases do plasma a tizoxanida que é glucoronizada no metabólito chamado tizoxanidagluconida. As taxas de absorção ou níveis plasmáticos não sofrem influência significativa na ingestão simultânea de alimentos. A tizoxanida é excretada na urina, bile e fezes. (WHITE, 2003; FOX & SARAVOLATZ, 2005).

Uma vez administrada por via oral, sua forma ativa (tizoxanida) também apresenta atividade parasiticida (STETTLER *et al.*, 2003). Observou-se que esse fármaco também é eficaz contra várias outras infecções parasitárias, como *Hymenolepis nana*, *Trichuris trichiura*, *Ascaris lumbricoides*, *Fasciola hepatica*, *T. saginata* e *T.*

*solium*. Posteriormente, foi demonstrado que a NTZ é uma forma segura, eficaz e de baixo custo para o tratamento de infecção com *T. saginata* resistente ao tratamento com niclosamida e praziquantel (ROSSIGNOL & MAISONNEUVE, 1984).

Rossignol & Maisonneuve (1984) em ensaio clínico em humanos mostraram a atividade da NTZ no tratamento da teníase.

Embora tenham sido desenvolvidos em 1980, relatos sobre sua utilização são escassos, pois só recebeu aprovação pelos EUA em novembro de 2002 para o tratamento de diarreia causada por *Cryptosporidium parvum* e *Giardia intestinalis* em crianças e adultos (GILLES & HOFFMAN, 2002; WHITE, 2003).

O primeiro estudo realizado para analisar a atividade farmacológica da NTZ e do seu metabólito ativo tizoxanida em cisticercos de *T. crassiceps* foi realizado por Palomares-Alonso *et al.* (2007). Neste estudo foi observado ao microscópio de luz que o principal efeito desse fármaco ocorreu na camada germinativa do parasito, no qual foram encontrados lipídios, o que reflete o estresse metabólico ocorrido após o tratamento. Esse efeito também foi observado anteriormente em outras espécies como o *Echinococcus granulosus* (WALKER *et al.*, 2004). Por outro lado, as estruturas como as microtriquias e as células tegumentares não sofreram alterações. Esta observação não concorda com estudos anteriores, utilizando outras espécies de parasitos, no qual a NTZ produz grandes quantidades de detritos celulares e uma completa ausência das microtriquias no tegumento do parasito (STETTLER *et al.*, 2003; WALKER *et al.*, 2004).

O estudo de Palomares-Alonso *et al.* (2007) mostrou que contra cisticercos de *T. crassiceps* a NTZ e a tizoxanida são igualmente potentes, assim como o ABZ-SO. Sugerindo que a combinação do ABZ-SO com a NTZ pode ser útil no tratamento *in vivo* de cisticercose.

Estudos recentes realizados com protozoários anaeróbios têm demonstrado que NTZ inibe uma enzima fundamental para o metabolismo energético desses parasitos: a piruvato-ferrodoxina-oxireductase (GILLES & HOFFMAN, 2002). Essa enzima atua na conversão do piruvato em acetil-CoA e CO<sub>2</sub> a partir da transferência de elétrons (PALOMARES-ALONSO *et al.*, 2007).

No entanto com relação aos helmintos, ainda não se sabe o mecanismo de ação desse fármaco, mas acredita-se que as enzimas envolvidas no transporte de elétrons, parecem ser um potencial sítio de ligação da NTZ (GILLES & HOFFMAN, 2002; RAETHER & HÄNEL, 2003).

De acordo com Corbin *et al.* (1998) a *T. crassiceps* oxida o piruvato a partir da enzima piruvato ferredoxina oxidoreductase (ou complexo piruvato desidrogenase) a acetil-CoA, o qual por sua vez é convertido a acetato (BARRETT, 2009). Desta forma comprovando que existe a enzima piruvato ferredoxina oxidoreductase em helmintos.

Em estudo realizado por Isac *et al.* (2016) utilizando cisticercos de *T. crassiceps* expostos ao fármaco NTZ *in vitro* para avaliar o metabolismo do parasito, obteve como resultado um comprometimento da captação de glicose e uma preferência pelo metabolismo aeróbio devido as altas concentrações de glicose encontradas no meio de cultura, e ocorreu uma diminuição das concentrações de lactato no extrato do cisticerco. A ausência de acetato ocorreu provavelmente devido ao mecanismo de ação do fármaco que ao bloquear a enzima piruvato ferredoxina oxidoreductase impede a produção de acetil-CoA e consequentemente de acetato. A NTZ induziu um comprometimento parcial da captação de glicose, levando a uma preferênciadas vias alternativas de produção de energia.

## 2. JUSTIFICATIVA

---

A neurocisticercose (NCC) representa um dos principais acometimentos infecciosos do sistema nervoso central e uma das principais causas de epilepsia existente no mundo. A OMS estima que no mínimo 50 milhões de pessoas sofram de epilepsia e 80% dessa população reside em países em desenvolvimento.

Segundo a OMS o tratamento da NCC tem sido realizado com o uso de ABZ e PZQ, sejam eles usados isoladamente ou associados. No entanto, há relatos de casos de parasitos com resistência a esse tratamento, fato que gera muita preocupação, pois existem poucas alternativas de tratamento nessas situações. Dessa forma podemos notar a necessidade de se investigar a eficácia de outros fármacos cestocidas, que sejam mais específicos para o tratamento da NCC.

A nitaxozanida é um fármaco de amplo espectro, comercializado na maior parte da América Latina, e estudado em todo o mundo. Apresenta atividade no tratamento de infecções intestinais causadas tanto por protozoários como helmintos, embora não se tenha casos na literatura da sua ação em helmintos teciduais, como é o caso da neurocisticercose. A NTZ por ser um fármaco bastante utilizado para tratamento de helmintíases seria interessante saber o efeito deste fármaco também nos helmintos teciduais. Dessa forma a proposta desse estudo é justamente avaliar o efeito da NTZ em cisticercos de *T. crassiceps*, podendo ser utilizado como um tratamento alternativo em casos de resistência ao PZQ e ABZ.

Os estudos relacionados com a bioquímica do parasito podem indicar novos mecanismos de ação de fármacos, melhorando a ação anti-helmíntica dos compostos ativos. Pode-se também detectar vias metabólicas diferentes entre o parasito e o seu hospedeiro, o que possibilita ter novos alvos para atuação de fármacos, sem causar efeitos colaterais indesejáveis no hospedeiro.

Foram realizados estudos relevantes sobre a ação dos fármacos albendazol e praziquantel sobre o metabolismo energético de cisticercos de *T. crassiceps*, entretanto ainda não se tem informações sobre a ação da nitazoxanida no metabolismo de cisticercos de *T. crassiceps* implantados na cavidade intracraniana de camundongos. Espera-se que os resultados obtidos nesse trabalho possam auxiliar na proposição de um tratamento alternativo para neurocisticercose e de outras parasitoses teciduais.

### **3. OBJETIVOS**

---

#### **3.1. OBJETIVO GERAL**

Determinar o efeito da nitazoxanida sobre o metabolismo energético de cisticercos de *T. crassiceps* (cepa ORF) implantados na cavidade intracraniana de camundongos BALB/c fêmeas.

#### **3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Cisticercos de *T. crassiceps* implantados no SNC de camundongos BALB/c tratados com 20 mg/kg e 40 mg/kg de nitazoxanida foram empregados para:
  - a. Detectar e quantificar ácidos orgânicos do metabolismo aeróbio: oxaloacetato, malato, fumarato, succinato, alfa-cetoglutarato e citrato.
  - b. Avaliar os ácidos orgânicos do metabolismo de carboidratos: glicose, piruvato e lactato.
  - c. Quantificar os ácidos orgânicos do metabolismo de ácidos graxos:  $\beta$ -hidroxibutirato, propionato, acetoacetato e acetato.
  - d. Quantificar os níveis de uréia e creatinina.

## **4. MÉTODOS**

---

### **4.1. Manutenção de *Taenia crassiceps***

Este projeto foi avaliado e aprovado pelo Comitê de Ética em Uso de Animais (CEUA/UFG) - protocolo n. 050/2013 (Anexo 1).

A Cepa ORF de *T. crassiceps* tem sido mantida no biotério do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás (IPTSP/UFG) desde 2002, com a inoculação intraperitoneal de cisticercos de *T. crassiceps* em camundongos BALB/c fêmeas de 8 a 12 semanas de idade, no qual os cisticercos se multiplicam por brotamento. Cerca de 90 dias após a inoculação esses animais são eutanasiados por deslocamento cervical. Em seguida é realizada a necropsia para a retirada dos cisticercos na sua fase inicial, sendo estes inoculados em outros camundongos BALB/c fêmeas saudáveis para dar assim continuidade a manutenção do parasito (VAZ *et al.*, 1997; FRAGA *et al.*, 2012a; MATOS-SILVA *et al.*, 2012;).

Os camundongos recebem cuidados diários, água acidificada e ração padrão para a espécie á vontade. Foram obedecidos os princípios éticos em experimentação animal preconizados pela Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL/cobea).

### **4.2. Infecção intracraniana de camundongos BALB/c**

Para esse estudo foram utilizados camundongos BALB/c fêmeas de 8 a 12 semanas de idade e com 20 a 30 g de peso. Estes animais foram infectados na cavidade intracraniana, na região parenquimatosa do SNC com 3-5 cisticercos de *T. crassiceps* (Cepa ORF) em estágios iniciais como descrito por Matos-Silva *et al.* (2012).

#### **4.2.1 Método de inoculação**

Antes de ser realizada a inoculação, os animais foram anestesiados com uma solução anestésica de Cetamina 100 mg/mL e Xilazina 20 mg/mL na proporção de 0,1 mL/10g de peso do animal (MATOS-SILVA *et al.*, 2012).

Os cisticercos inoculados foram coletados da cavidade intraperitoneal dos camundongos que pertencem ao grupo de manutenção de ciclo. Os cisticercos coletados foram lavados de 3 a 5 vezes com solução fisiológica, e cerca de 3-5 cisticercos em estágio inicial foram coletados com uma seringa acoplada a uma agulha 25G

especialmente seccionada transversalmente a um tamanho de 2milímetros. A coleta foi realizada com o auxílio de um microscópio estereoscópico (MATOS-SILVA *et al.*, 2012).

Primeiramente os camundongos foram anestesiados, após esse procedimento a cabeça do camundongo passou por um processo de assepsia utilizando o iodo tópico, para que fossem eliminadas bactérias e outros interferentes. Após esse processo de assepsia foi realizada uma incisão longitudinal e mediana na pele do camundongo na região do crânio, utilizando uma lâmina de bisturi nº 20. Logo em seguida foi realizado o orifício de trepanação, com uma broca (1/8) movida por micromotor tomando-se o devido cuidado para não lesionar o córtex cerebral com a ponta da broca. Após a abertura do orifício os cisticercos foram inoculados no interior do encéfalo e esse orifício foi rapidamente fechado com alginato de massa dentística para que os cisticercos não fossem empurrados para fora, em sequência foi realizado o fechamento da lesão (MATOS-SILVA *et al.*, 2012).

Os animais foram assistidos diariamente entre a infecção e sua necropsia e mantidos sob condições preconizadas pela Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL/COBEA).

#### **4.3. Tratamento dos camundongos infectados**

Os camundongos infectados foram divididos em 3 grupos para a realização do tratamento, este realizado por via oral, em dosagem única e pelo método de gavagem: 1. Grupo controle, tratado com solução salina 0,9% (utilizando a mesma quantidade do fármaco para os grupos tratados); 2. Grupo tratado com 20 mg/kg de NTZ comercial (ANITTA®); 3. Grupo tratado com 40 mg/kg de NTZ comercial (ANITTA®). Cada grupo foi composto por 5 camundongos BALB/c fêmeas. O tratamento foi realizado 30 dias após a inoculação intracraniana dos cisticercos. 24h após o tratamento, os animais foram eutanasiados por deslocamento cervical para a retirada dos cisticercos do SNC. Os cisticercos foram congelados em nitrogênio líquido, para posterior análise. A primeira dosagem utilizada (20mg/kg) foi obtida a partir dos dados que constam na própria bula do fármaco, e para a segunda dosagem (40mg/kg) apenas dobrou o valor já pré-determinado pelo fabricante do fármaco.

#### **4.4. Análise bioquímica do extrato de cisticercos de *T. Crassiceps***

Após a estase em nitrogênio líquido (N<sub>2</sub>), os cisticercos foram descongelados a temperatura ambiente e em seguida rompidos em 500µL de tampão tris-HCL á 0,1M, acrescido de inibidor de protease, com pH 7,6 (RENDÓN *et al.*,2008). O homogenado obtido foi centrifugado a 15,652g (10.000 rpm), por 10 min, a 4°C (VINAUD *et al.*, 2007). Os ácidos orgânicos presentes neste homogenado foram extraídos com a utilização de uma coluna cromatográfica de troca iônica (Bond-elut®) com auxílio de um sistema de extração de fase sólida e de uma bomba a vácuo. Essa coluna de extração foi ativada inicialmente com 1mL de HCL (0,5 mol/L), 1 mL de metanol e 2 mL de água ultrafiltrada (mili-Q®). Após a ativação da coluna foi aplicada 300µL da amostra, acrescentando em seguida 2 mL de água ultrafiltrada. Para finalizar o Bond-elut® é retirado do sistema de extração de fase sólida; e com a bomba avácuo já desligada adiciona-se 250 µL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (0,5 M). Esse material foi centrifugado à 12000g/10 minutos á 2°C, utilizando apenas o sobrenadante, esteteve seu pH ajustado para 7,0. Em seguida esse homogenado foi utilizado no aparelho de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) para detecção dos ácidos orgânicos presentes no cisticercos.

#### **4.5. Análise por espectrofotometria do extrato de cisticercos de *T. Crassiceps***

As concentrações de glicose, uréia e creatina foram dosadas a partir de análise espectrofotométrica das amostras obtidas. Utilizando-se o aparelho Architect c8000, segundo o protocolo dos kits comerciais (ABOTT®). (Anexo 2)

#### **4.6. Análise estatística**

A análise estatística foi realizada utilizando o programa SigmaStat 3.5. As estatísticas descritivas foram utilizadas para determinar a média e o desvio padrão assim avaliando as diferenças entra os grupos analisados. As variáveis foram testadas para distribuição normal e variância homogênea. Foram realizados: análise de variância seguida do pós teste de Tukey e teste T seguido do pós teste de Fisher. A diferença significativa será considerada quando  $p < 0,05$ . Foram realizadas 6 repetições.

## 5. RESULTADOS

Foi possível detectar e quantificar os ácidos orgânicos do metabolismo energético de cisticercos de *T. crassiceps* retirados da cavidade intracraniana de camundongos BALB/c fêmeas após dose única de tratamento com NTZ por via oral (20 mg/kg ou 40 mg/kg).

### 5.1 Via glicolítica

Como observado na tabela 2 foram detectados: glicose, piruvato e lactato tanto no grupo controle, quanto nos grupos tratados com as duas dosagens de NTZ (20 mg/kg ou 40 mg/kg). É importante ressaltar a não detecção da glicose no grupo controle, ao contrário do observado nos grupos tratados, com elevação das taxas de glicose de acordo com as dosagens. Ou seja, ocorre um aumento dose-dependente da glicose em relação ao fármaco (NTZ). Em relação as concentrações de piruvato não detectou-se diferença estatística nas dosagens ( $p > 0,05$ ). Por outro lado, observou-se uma diminuição nas concentrações de lactato detectadas nos grupos tratados quando comparados as concentrações detectadas no grupo controle ( $p < 0,05$ ). Logo este decréscimo de lactato pode ter ocorrido devido a este ácido está sendo empregado para a produção de glicose.

**Tabela 2.** Concentrações médias ( $\pm$  desvio padrão) de ácidos orgânicos da via glicolítica detectados em cisticercos de *Taenia crassiceps* retirados da cavidade intracraniana de camundongos BALB/c após tratamento in vivo com diferentes concentrações de nitazoxanida

	Controle	NTZ 20mg/kg	NTZ 40 mg/kg
<b>Glicose (mg/dL)</b>	ND	5,8 $\pm$ 1,30	10 $\pm$ 7,26
<b>Piruvato (<math>\mu</math>M)</b>	24,45 $\pm$ 21,26	3,29 $\pm$ 1,26	9,50 $\pm$ 7,99
<b>Lactato (<math>\mu</math>M)</b>	1085,5 $\pm$ 525,27	389,32 $\pm$ 152,45*	594,67 $\pm$ 287,79

NTZ: nitazoxanida, ND – não detectado, \* diferença estatística significativa em relação ao grupo controle ( $p < 0,05$ ).

### 5.2 Ciclo do ácido cítrico

Foi possível observar citrato em todos os grupos, sendo observado um aumento significativo nas suas concentrações após o tratamento com NTZ 40 mg/Kg (Tabela 3). Não se detectou  $\alpha$ -cetoglutarato e succinato nos grupos analisados. Observou-se uma diminuição significativa nas concentrações de fumarato no grupo tratado com NTZ 20mg/kg enquanto que os tratamentos não influenciaram as concentrações de malato.

Foi possível observar um aumento significativo de oxaloacetato no grupo tratado com NTZ 40mg/kg (Tabela 3).

**Tabela 3.** Concentrações médias ( $\pm$  desvio padrão) de ácidos orgânicos do ciclo do ácido cítrico detectados em cisticercos de *Taenia crassiceps* retirados da cavidade intracraniana de camundongos BALB/c após tratamento *in vivo* com diferentes concentrações de nitazoxanida.

	Controle	NTZ 20mg/kg	NTZ 40mg/kg
<b>Citrato (<math>\mu</math>M)</b>	54,87 $\pm$	109,07 $\pm$	149,44 $\pm$
	30,32*	59,51	22,66*
<b>Fumarato(<math>\mu</math>M)</b>	36,16 $\pm$	7,40 $\pm$	21,80 $\pm$
	16,27*	0,92*	17,63
<b>Malato(<math>\mu</math>M)</b>	127,25 $\pm$	80,43 $\pm$	81,76 $\pm$
	47,18	44,09	46,95
<b>OAA(<math>\mu</math>M)</b>	8,29 $\pm$	4,26 $\pm$	10,53 $\pm$
	9,63	1,59*	3,61*

NTZ: nitazoxanida, ND – não detectado, \* diferença estatística significativa em relação ao grupo controle ( $p < 0,05$ )

### 5.3 Oxidação de ácidos graxos e catabolismo de proteínas

O acetato foi detectado no grupo controle, mas não foi detectado em nenhum dos dois grupos tratados com NTZ (tabela 4). O aceto-acetato não foi detectado em nenhum dos grupos analisados. Houve um aumento significativo nas concentrações de  $\beta$ -hidroxibutirato no grupo tratado com NTZ 40 mg/kg ( $p < 0,05$ ). O fármaco não influenciou as concentrações de uréia, creatinina e propionato detectadas.

**Tabela 4.** Concentrações médias ( $\pm$  desvio padrão) de ácidos orgânicos da oxidação dos ácidos graxos e do catabolismo de proteína detectados em cisticercos de *Taenia crassiceps* retirados da cavidade intracraniana de camundongos BALB/c após tratamento *in vivo* com diferentes concentrações de nitazoxanida.

	Controle	NTZ 20mg/kg	NTZ 40mg/kg
<b>Acetato(<math>\mu</math>M)</b>	548,50 $\pm$ 302,35	ND	ND
<b>Aceto-acetato(<math>\mu</math>M)</b>	ND	ND	ND
<b><math>\beta</math>-Hidroxibutirato(<math>\mu</math>M)</b>	739,53 $\pm$ 63,73*	411,98 $\pm$ 438,42*	1677,05 $\pm$ 197,78*
<b>Uréia(mg/dL)</b>	4,0 $\pm$ 0,0	4,0 $\pm$ 0,0	4,5 $\pm$ 0,83
<b>Creatinina(mg/dL)</b>	0,18 $\pm$ 0,04	0,18 $\pm$ 0,04	0,2 $\pm$ 3,04
<b>Propionato(<math>\mu</math>M)</b>	265,04 $\pm$ 69,57	221,86 $\pm$ 174,43	199,95 $\pm$ 118,48

NTZ: nitazoxanida, ND – não detectado, \* diferença estatística significativa em relação ao grupo controle ( $p < 0,05$ ).

## 6. DISCUSSÃO

---

Esse estudo permitiu avaliar a influência do fármaco NTZ em formulação comercial no metabolismo energético de cisticercos de *T. crassiceps* inoculados na cavidade intracraniana de camundongos. Este fármaco é amplamente utilizado no tratamento de parasitoses intestinais, sendo pouco conhecido o seu mecanismo de ação em parasitoses teciduais (GILLES & HOFFMAN, 2002). Estudos metabólicos permitem a compreensão do mecanismo de ação do fármaco, dos mecanismos de sobrevivência utilizados pelo parasito e uma melhor compreensão da relação parasito hospedeiro (VINAUD *et al.*, 2009; FRAGA *et al.*, 2012a, 2012b). De acordo com o mecanismo de ação descrito para o fármaco, inibição da enzima piruvato ferredoxina oxidoreductase (impede a formação de acetil-CoA a partir do piruvato) (GILLES & HOFFMAN, 2002) foi possível observar alterações metabólicas nos cisticercos dos grupos tratados.

### 6.1 Via glicolítica

Ocorreu a detecção de glicose apenas nos grupos tratados, com concentração crescente de acordo com a dosagem. Provavelmente a detecção de glicose ocorreu devido a gliconeogênese, pois neste estudo também podemos observar um consumo de piruvato e lactato, sendo estes utilizados na gliconeogênese para a produção de glicose (LEHNINGER, 2011).

Palomares-Alonso *et al.* (2007) descreveram que a utilização da NTZ em cisticercos de *T. crassiceps* causa danos tegumentares. Logo isso ocorre, pois o parasito utiliza a glicose do meio para sobreviver, no entanto no presente estudo isso não ocorreu, pois a glicose não foi detectada no grupo controle, mas foi detectada nos grupos tratados, provavelmente o parasitosintetizou a glicose a partir da gliconeogênese como fonte de energia.

No estudo realizado por Isac *et al.* (2016) utilizando NTZ *in vitro* em cisticercos de *T. crassiceps* observou-se que no extrato do cisticerco os níveis de glicose foram significativamente maiores nos grupos tratados com NTZ do que no grupo controle ( $p < 0,05$ ). Logo este resultado corrobora com o obtido nesse presente estudo, pois apesar do meio diferenciado em que o parasito foi desenvolvido (*in vitro* e *in vivo*), em ambos

os estudos podemos observar o aumento da glicose nos grupos tratados com NTZ em relação ao grupo controle, no qual não ocorreu a detecção da glicose.

A NTZ foi menos eficaz na inibição da atividade da piruvato ferredoxina oxidoreductase em *Escherichia coli* em ensaios enzimáticos diretos. Entretanto o crescimento bacteriano foi substancialmente inibido em um meio mínimo de glicose, utilizando 15µg/mL de NTZ sugerindo que o espectro microbiano da NTZ para organismos que não contém a enzima piruvato ferredoxina oxidoreductase, pode ser influenciada pela nutrição da bactéria (HOFFMAN *et al.*, 2007). Apesar de pertencerem a grupos taxonômicos muito distantes e distintos, podemos perceber que em *T. crassiceps* a concentração de glicose encontra-se aumentada a medida que o parasito é exposto ao fármaco, pois o parasito passa por um momento de estresse, buscando novas fontes de obter energia para sua sobrevivência.

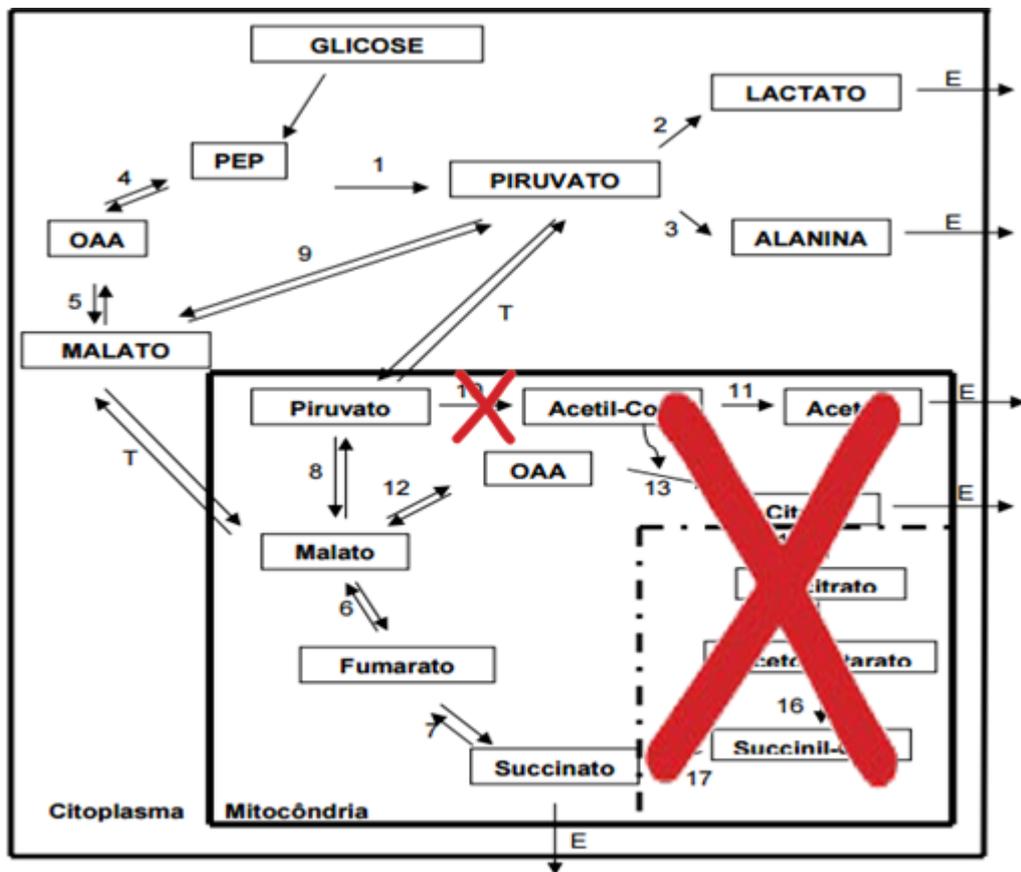
Em nosso estudo, o piruvato foi detectado em todas as amostras analisadas, e podemos observar que com relação ao grupo controle, nos grupos tratados ocorreu uma diminuição deste ácido, mesmo não ocorrendo diferença estatística significativa. Provavelmente isso ocorreu devido a indução da gliconeogênese, levando a um consumo de lactato e piruvato (LEHNINGER, 2014).

O lactato também foi detectado em todas as amostras, sendo que ocorreu diferença estatística significativa entre o grupo controle e o grupo tratado com 20 mg/kg. Podemos observar uma diminuição na concentração dos grupos tratados, em relação ao grupo controle. A detecção de lactato nos grupos tratados com NTZ (20 mg/kg ou 40 mg/kg) demonstra que o fármaco não impede a fermentação anaeróbica como fontes de ATP no parasito. Sendo o lactato quantitativamente o produto final mais importante da via anaeróbia e da fermentação aeróbia, para os cestódeos (SMYTH & MCMANUS, 1989).

## **6.2 Ciclo do ácido cítrico**

Ocorreu a detecção de citrato em todas as amostras analisadas. Podemos observar que ocorreu um aumento significativo deste ácido nos grupos tratados com NTZ 40 mg/kg em relação ao grupo controle. Devido ao mecanismo de ação do fármaco, que é inibir a enzima piruvato ferredoxina oxidoreductase (GILLES & HOFFMAN, 2002) esperava-se a não detecção deste ácido. Devido ao fato de ao bloquear a enzima o fármaco impede a formação de acetil Co-A através do piruvato,

dessa forma o acetil Co-A não iria condensar com o oxaloacetato para produzir o citrato. Logo o resultado obtido nesse estudo, indica que o acetil-CoA foi produzido por outra fonte, independente do piruvato, devido ao fato de não existir a possibilidade de detectar o citrato se não ocorrer a produção de acetil-CoA.

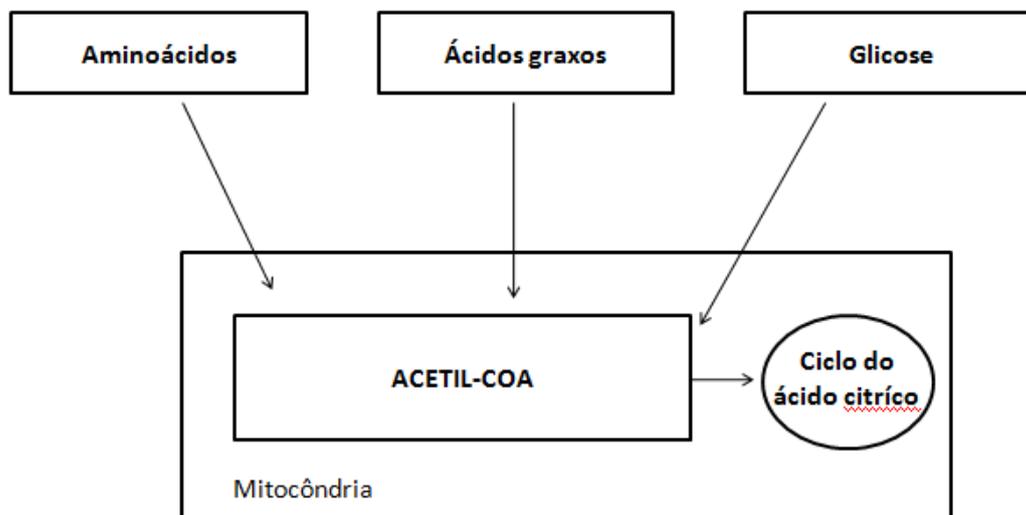


**Figura 15.** Via da degradação de carboidratos, onde podemos observar que a enzima piruvatoferredoxinaoxidoreductase foi bloqueada através da ação da NTZ e desta forma impediu a formação do acetil-CoA, e como consequência não permitiu a formação do  $\alpha$ -cetoglutarato após a administração da NTZ (Adaptado de Vinaud *et al.* 2007).

Como descrito por Lehninger *et al.* (2014), em mamíferos, o acetil- CoA pode ser originado a partir da oxidação de proteínas, lipídios e carboidratos. Em estudo realizado por Tielens *et al.* (1994) os estágios de vida livre de nematódeos, podem utilizar a reserva de lipídios para a geração de energia. Outras fontes de acetil-CoA são: a degradação de ácidos graxos; via da beta-oxidação; degradação de corpos cetônicos e catabolismo de aminoácidos (Figura 16); (KÖHLER, 1985). Com o bloqueio da produção de acetil-CoA a partir do piruvato para não afetar a produção de citrato, pode

ocorrer a utilização do acetato como fonte de acetil-CoA (BROWN, 1977; TIELENS *et al.*, 2010).

Provavelmente neste estudo, o acetil-CoA que originou o citrato foi obtido a partir da oxidação de ácidos graxos, pois ocorreu diferença significativa nas concentrações de  $\beta$ -hidroxibutirato em todas as amostras dos grupos tratados.



**Figura 16.** Fontes do acetil-CoA. As setas indicam substâncias absorvidas por processo ativo que passam por reações catabólicas no citoplasma, entrando para a mitocôndria para formar o acetil-coA (Adaptado de Vinaud *et al.* 2007)

No estudo realizado por Isac *et al.* (2016) realizado *in vitro* com o objetivo de analisar o efeito da nitazoxanida (1,2  $\mu\text{g/mL}$  ; 0,3  $\mu\text{g/mL}$  ;0,6  $\mu\text{g/mL}$  ou 0,15  $\mu\text{g/mL}$ ) no metabolismo energético de cisticercos de *T. crassiceps* observou-se um aumento significativo de citrato comparando o grupo controle com o grupo tratado com 1,2  $\mu\text{g/mL}$ . Logo esse resultado é semelhante ao observado nesse presente estudo, mesmo os estudos sendo realizados de forma diferente, ou seja, um realizado *in vitro* e o outro *in vivo*, observamos que o parasito utiliza outras fontes de produção de acetil-coA na presença da NTZ.

Não ocorreu a detecção do  $\alpha$ -cetoglutarato e succinato em nenhuma das amostras analisadas. Logo podemos dizer que tanto no grupo controle, quanto os grupos tratados observou-se uma preferência pela via da fumarato redutase (via inversa do ciclo do ácido cítrico), ou seja, essa via provavelmente não ocorreu apenas pela presença do fármaco. A via da fumarato redutase é utilizada por helmintos e protozoários mesmo sem sofrer ação de fármacos, com o objetivo de conservação de energia, sendo este o

mesmo motivo utilizado pelo parasito quando exposto ao fármaco ou em condições de estresse, por isso o parasito pode optar em situações tradicionais pelo uso da via da fumarato redutase (KÖHLER & VOIGHT, 1988). O succinato é amplamente encontrado em parasitos e tem sido extensivamente investigado em helmintos, sendo considerado o produto intermediário do ciclo do ácido cítrico e da via da fumarato redutase (KÖHLER & VOIGHT, 1988).

No estudo realizado por Isac *et al.* (2016) observou a presença do ciclo do ácido cítrico tradicional, tanto no grupo controle quanto nos grupos tratados com NTZ, mostrando que na presença do fármaco essa via não foi alterada. Esse resultado é contraditório com o encontrado nesse presente estudo, pois tanto no grupo controle quanto nos grupos tratados observamos a via da fumarato redutase, isso provavelmente ocorreu devido a diferença do meio e das condições encontradas pelo parasito para sobreviver, pois provavelmente no estudo *in vitro* ele obteve uma maior quantidade de nutrientes, dessa forma não precisando de conservar energia.

Ocorreu a detecção de fumarato em todas as amostras analisadas. Podemos observar uma diminuição do fumarato nos grupos tratados com NTZ em relação ao grupo controle, ocorrendo diferença estatística significativa entre o grupo controle e o grupo tratado com NTZ 20 mg/kg. Podemos dizer que no tratamento com NTZ 20mg/kg o fumarato foi encontrado em maior concentração em relação a maior dosagem do fármaco (40 mg/kg).

O fumarato pode ser produzido a partir do catabolismo de proteínas, comprovavelmente pode ter ocorrido nesse estudo tanto no grupo controle, quanto nos grupos tratados com NTZ, pois em todos os grupos também ocorreu a detecção de uréia e creatina, sendo estes responsáveis pela produção do fumarato (LEHNINGER, 2014). No entanto outra fonte de produção do fumarato é pela via da fumarato redutase, no qual o malato é utilizado para a produção do fumarato (LEHNINGER, 2014), que também pode ter sido a fonte deste ácido nesse estudo, pois podemos observar que a concentração de malato diminuiu nos grupos tratados, possivelmente por ter sido utilizado.

Logo com estes resultados, podemos observar que o cisticerco ao ser tratado com NTZ, devido ao seu mecanismo de ação (GILLES & HOFFMAN, 2002) procurou outras vias como o catabolismo de proteínas para obtenção de energia.

Ocorreu a detecção de malato tanto no grupo controle quanto nos grupos tratados com NTZ. Podemos observar que a concentração do malato diminuiu nos grupos

tratados em relação ao grupo controle, mesmo não ocorrendo diferença estatística significativa. O malato pode ter sido produzido tanto pela via citosólica quanto pela via mitocondrial (KÖHLER & VOIGHT, 1988), pois ocorreu a detecção tanto de oxaloacetato quanto de piruvato nesse estudo, e ambos sofreram uma diminuição nos grupos tratados em relação ao grupo controle, podendo ter sido utilizados para a produção do malato.

Provavelmente nesse estudo o oxaloacetato foi produzido a partir do malato, que também foi detectado, e ocorreu a sua diminuição nos grupos tratados com NTZ.

### **6.3 Oxidação de ácidos graxos**

O acetato foi detectado no grupo controle, mas não foi detectado nos grupos tratados com NTZ. Isso provavelmente ocorreu devido ao mecanismo de ação do fármaco (GILLES & HOFFMAN, 2002) que ao bloquear a enzima piruvato ferredoxina oxidoreductase impede a produção de acetil-CoA a partir do piruvato, sendo esta uma das principais fontes de produção do acetato. Dessa forma o cisticerco utilizou outras fontes de acetil-CoA nesse estudo, sendo este utilizado para a condensação com o oxaloacetato para produzir o citrato, sendo este detectado. Provavelmente a quantidade de acetil-CoA produzido pela oxidação de ácidos graxos não foi suficiente para ser utilizado para a formação do acetato, como observado neste estudo. Demonstrando juntamente com os outros ácidos orgânicos detectados, que o cisticerco realizou a via da fumarato redutase.

Em estudo realizado por Brown (1977) quando a enzima piruvato ferredoxina oxidoreductase é bloqueada, e desta forma não consegue produzir acetil-CoA a partir do piruvato, o parasito pode utilizar como fonte de acetil-CoA o acetato. Isso pode ter ocorrido nesse estudo, pois o acetato foi detectado no grupo controle, sendo assim este pode ter sido utilizado para a produção de acetil-CoA.

Em estudo realizado *in vitro* por Isac *et al.* (2016) com cisticercos de *T. crassiceps* expostos a NTZ, também não ocorreu a detecção do acetato no extrato do cisticerco tratados com NTZ, confirmando assim como nesse presente estudo o mecanismo de ação do fármaco, que é o bloqueio da enzima piruvato ferredoxina oxidoreductase (GILLES & HOFFMAN, 2002).

Em alguns cestódeos como *E. granulosus*, *H. diminuta*, *T. crassiceps* a secreção de acetato é detectada quando o piruvato está em excesso na mitocôndria, que pode não

ser convertido em acetil-CoA usado no ciclo do ácido cítrico (MEHLHORN *et al.*, 1988). Ao contrário do que ocorreu no presente estudo, pois o piruvato foi encontrado diminuído nos grupos tratados com NTZ, mostrando que este não estava em excesso na mitocôndria.

O estudo do efeito da NTZ em protozoários foi relatado por Yousuf Aqueel *et al.* (2015) ao estudar um sistema enzimático complexo e organelas para a geração de ATP em *Acanthamoeba castellanii* sob baixas condições de oxigênio via piruvato ferredoxina oxidoreductase. O estudo determinou os efeitos da NTZ sob as propriedades biológicas de *A. castellanii*. Obteve como resultado que a NTZ afeta os processos de diferenciação celular, proteases extracelulares e a viabilidade de *A. castellanii* sob condições microaerófilas. Entretanto não se pode afirmar que o mecanismo de ação da NTZ em helmintos e protozoários é o mesmo, pois são organismos com organelas completamente diferentes.

Em contraste com estudos anteriores Dubreuil *et al.* (1996) demonstra que a NTZ foi ativa em condições anaeróbias, no estudo realizado por Florence Tchouaffi-Nana *et al.* (2003) demonstraram que a NTZ (25 µg/mL) e seu metabólito ativo tizoxanida, inibiram o crescimento de *Staphylococcus epidermidis* no meio de cultura líquido sob aeração de forma dose-dependente. Em concentrações de fármaco inferiores (10 µg/mL) ocorreu pouco efeito sobre a taxa de crescimento bacteriano exponencial. Neste estudo também foi possível observar que as dosagens sub-inibitorias de NTZ podem afetar na produção de biofilme.

A detecção do β-hidroxibutirato nos grupos tratados com NTZ, provavelmente ocorreu devido a ação do fármaco, que ao inibir a enzima piruvato ferredoxina oxidoreductase (GILLES & HOFFMAN, 2002), impede que o cisticerco produza acetil-CoA na sua via tradicional. Como no estudo foi detectado citrato tanto no grupo controle, quanto nos grupos tratados, provavelmente o acetil-CoA teve sua origem na oxidação dos ácidos graxos. A detecção deste ácido orgânico indica a utilização da oxidação de ácidos graxos pelo cisticerco exposto a NTZ para obtenção de acetil-CoA e energia.

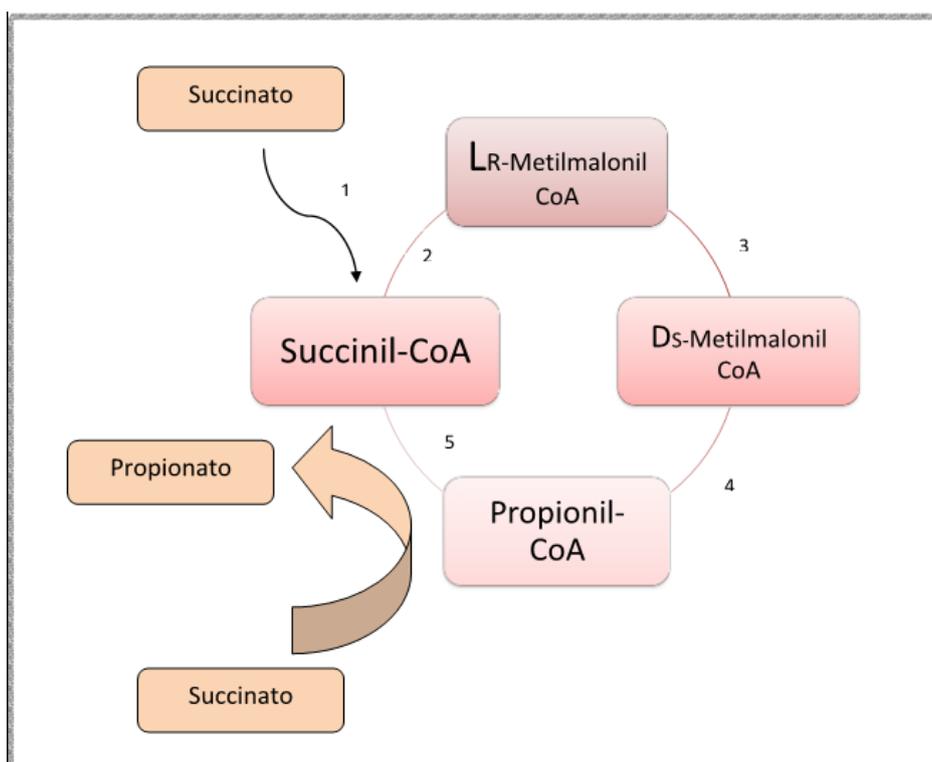
No estudo realizado *in vitro* por Isac *et al.* (2016) com cisticercos de *T. crassiceps* observou a ausência de acetato, logo isso induziu o aumento da oxidação dos ácidos graxos e uma diferença significativa nas concentrações de β-hidroxibutirato detectadas no extrato de cisticercos dos grupos tratados com 1,2 e -6 µg /mL de NTZ (p

<0,05). Esse resultado de Isac *et al.* (2016) corrobora com os obtidos nesse presente estudo, pois mostra que quando o parasito é exposto a NTZ, mesmo em ambientes e condições diferentes o parasito utiliza a oxidação de ácidos graxos como fonte alternativa de produção de energia.

Tielens *et al.*(1984) demonstraram a produção de acetato, utilizado como um precursor do  $\beta$ -hidroxibutirato em estágios larvais e adultos de *F. hepatica* quando em situações de anaerobiose. O que pode ter ocorrido nesse estudo, pois ocorreu a detecção do acetato no grupo controle, e este não foi detectado nos grupos tratados com NTZ.

O propionato foi detectado em todas as amostras analisadas, e podemos observar que ocorreu uma diminuição do propionato nos grupos tratados com NTZ em relação ao grupo controle, mesmo não ocorrendo diferença estatística significativa.

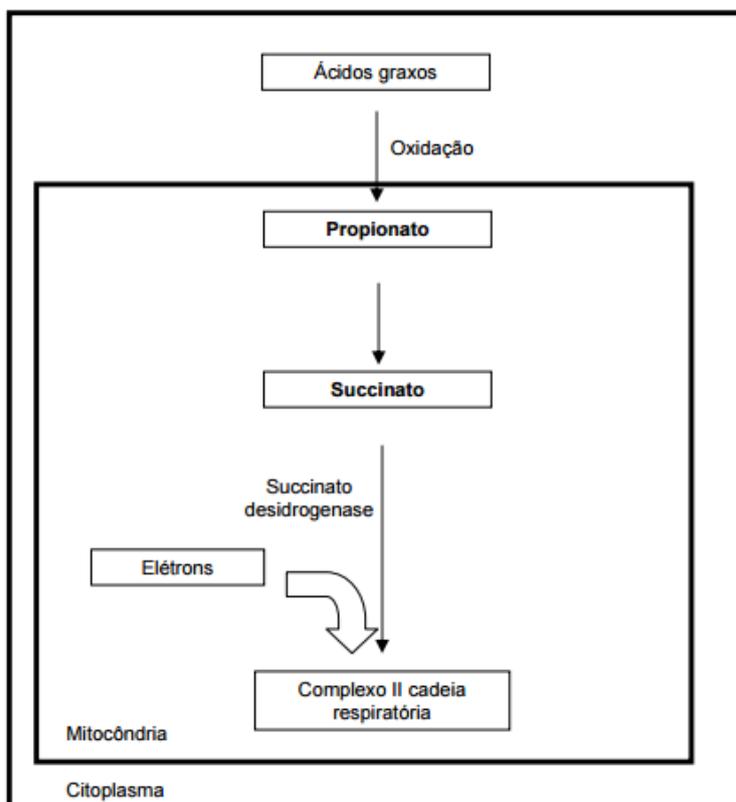
Uma das fontes do propionato é a conversão do succinato em propionato como pode ser observado na figura 17.



**Figura 17.** Via de formação de propionato em helmintos. 1) succinilCoA; 2) metilmalonilCoA; 3) metilmalonilCoAracemase; 4) propionilcoA; 5) acilCoAtransferase. (Adaptado de Köhler & Voigt 1988)

Mas como não foi detectado succinato em nenhuma das amostras analisadas, provavelmente essa não foi a fonte de propionato neste estudo. Outra fonte de obtenção do propionato é a oxidação dos ácidos graxos como observado na figura 18, que devido

aos outros ácidos orgânicos analisados podemos dizer que ocorreu esse processo metabólico nos cisticercos implantados na cavidade intracraniana dos camundongos sobre ação da NTZ (20 mg/kg ou 40 mg/kg) analisados neste estudo.



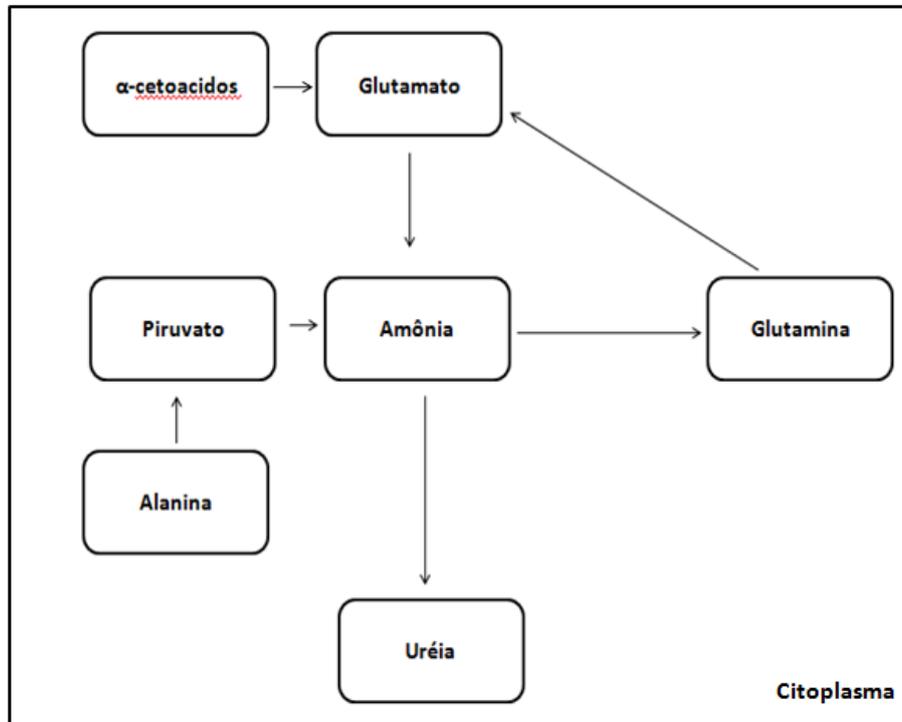
**Figura 18.** Oxidação de ácidos graxos em vertebrados. A enzima succinato desidrogenase fornece elétrons para o complexo II da cadeia respiratória. Esquema adaptado de Vinaud *et al.* 2008.

#### 6.4 Catabolismo de proteínas

Ocorreu a detecção de uréia e creatinina, tanto no grupo controle quanto nos grupos tratados, apesar de não haver diferença estatística significativa, podemos observar que houve um pequeno aumento nas concentrações desses metabólitos no grupo tratado com NTZ 40 mg/kg em relação ao grupo controle e ao grupo tratado com NTZ 20 mg/kg.

Os helmintos são capazes de produzir íons amônio, ácido úrico ou uréia. A uréia pode ser formada a partir de 4 fontes: 1) absorção de arginina através do hospedeiro, que é catabolizada pela arginase; 2) absorção de uréia através do hospedeiro; 3) degradação de purinas da via do ácido úrico; 4) a partir da utilização da amônia e do

bicarbonato, dando origem ao ciclo da ornitina-ureia (MOHAMED *et al.*, 2005); (Fig.19). Provavelmente neste estudo a uréia foi obtida através da degradação de purinas, devido a detecção tanto de uréia como de creatinina nos grupos tratados.



**Figura 19.** Catabolismo de aminoácidos em hepatócitos de vertebrados é observado nesse esquema o processo que ocorre até a formação da uréia. Esquema adaptado de Lehninger *et al.*, 2014.

No caso do cisticercos de *T. crassiceps* quanto exposto a NTZ foi possível observar, a melhoria das suas vias alternativas para assegurar a sobrevivência do parasito nas dosagens utilizadas.

## 7. CONCLUSÕES

---

A detecção dos ácidos orgânicos em suas respectivas concentrações demonstra que os cisticercos de *T. crassiceps* implantados na cavidade intracraniana de camundongos BALB/c fêmeas tratadas com NTZ (20 mg/kg ou 40 mg/kg) utilizaram diferentes vias de produção de energia.

A não detecção de  $\alpha$ -cetoglutarato no grupo controle e nos grupos tratados com NTZ, juntamente com outros ácidos orgânicos detectados nesses grupos, conclui-se que ambos os grupos utilizaram a via da fumarato redutase para produção de energia.

Com a detecção de glicose apenas nos grupos tratados com NTZ juntamente com alterações nas concentrações de piruvato e lactato pode-se concluir que o parasito utilizou a gliconeogênese como fonte de produção da glicose nesse estudo.

A detecção do  $\beta$ -hidroxibutirato em concentrações aumentadas no grupo tratado com NTZ 40 mg/kg em cisticercos de *T. crassiceps* conclui-se que este parasito utiliza a oxidação de ácidos graxos quando exposto ao fármaco como fonte alternativa de energia. Sendo também utilizada a oxidação de ácidos graxos para a produção de acetil-coA, citrato e propionato.

O tratamento não influenciou nas vias de catabolismo de proteínas devido a não alteração nas concentrações de ureia e creatinina nos grupos analisados.

## 8. REFERÊNCIAS

---

- AGAPEJEV SVETLANA. Aspectos clinicos-epidemiológicos da neurocisticercose no Brasil. **Arq Neuropsiquiatr**, n. 61(3-B), p.822-828, 2003.
- ALARCON T.A, DEL BRUTTO O.H. Neurocysticercosis: declining incidence among patients admitted to a large public hospital in Guayaquil, Ecuador. **Pathog Glob Health**; n. 106: p.310–11, 2012.
- ALUJA AS. Cysticercosis in the pig. **Curr Top Med Chem**; 8:368–74, 2008.
- ALVAREZ JI, MISHRA BB, GUNDRUM UM, MISHRA PK, TEALE JM. *Mesocestoides corti* intracranial infection as a murine model for neurocysticercosis. **Parasitol** n. 137 p.359–372, 2010.
- AMAR AP, GHOSH S, APUZZO ML. Treatment of central nervous system infections: a neurological perspective. **Neuroimaging Clin N Am**; n. 10 (2), p.445 – 59, 2000.
- ANDREWS P, THOMAS H, POHLKE R, SEUBERT J. Praziquantel associated with the larvae of *Mesocestoides corti*. **Medl Res Rev** n. 3 p.147-200, 1983.
- ANDREWS, P. Praziquantel: mechanism of anti-schistosomal activity. **Pharmacol. Ther.** v.29, p-129-156, 1985.
- BAGRADE G, KIRJUSINA M, VISMANIS K, OZOLINS J. Helminth parasites of the Wolf *Canis lupus* from Latvia. **J Helminthol** 83: 63-68, 2009.
- BARRETT J. Forty years of helminth biochemistry. **Parasitol** n. 136(12): p.1633–1642; 2009.
- BECKER B, MEHLHOM H, ANDREWS P, THOMAS H. Ultrastructural investigations on the effect of praziquantel on the tegument of five species of cestodes. **Z Parasitenkd.** n. 64 p. 257-69, 1981.
- BERHE N, GUNDERSEN SG, ABEBE F, BIRRIE H, MEDHIN G, GEMETCHU T. Praziquantel side effects and efficacy related to *Schistosoma mansoni* egg loads and morbidity in primary school children in north-east Ethiopia. **Acta Trop** n. 72 p.53–63, 1999.
- BROWN TDK. The enzymatic interconversion of Acetate and Acetyl- coenzyme A in *Escherichia coli*. **J Gen Microbiol** n.102, p.327-336, 1977.
- BYLUND G, BANG B, WIKGREN K. Tests with a new compound (Praziquantel) against *Diphyllobothrium latum*. **J Helminthol**; n.51 p.115-119, 1977.

- CAMPBELL, W. C. Benzimidazoles: Veterinary Uses. **Parasitology Today**, v. 6, n. 4, 1990.
- CANTU C, BARINAGARREMENTERIA F. Cerebrovascular complications of neurocysticercosis. Clinical and neuroimaging spectrum. **Arch Neurol**; n. 53: p.233–39, 1996.
- CARABIN H, MILLOGO A, PRAET N. Seroprevalence to the antigens of *Taenia solium* cysticercosis among residents in three villages in Burkina Faso: a cross-sectional study. **PLoS Negl Trop Dis**. n. 3 p. 555, 2009.
- CARABIN H, NIDMUBANZI, C.P., BUDKE M.C., NGUYEN H., QIAN Y., COWAN D.L., STONER A.J., RAINWATER E., DICKEY M. Clinical manifestation associated with neurocysticercosis: A systematic review. **PLoS Negl Trop Dis**. Volume 5; Issue 5 ; e1152, 2011.
- CARDONA E.A., RESTREPO I.B., JARAMILLO M.J., TEALE M.J. Development of an Animal Model for Neurocysticercosis: Immune Response in the Central Nervous System Is Characterized by a Predominance of gd T Cells. **J Immunol**; n.162 p. 995-1002, 1999.
- CARRADA-BRAVO, T. Teniasis-cisticercosis como problema de salud pública. **Bol Med Hosp Infant Mex**, v.44, n.7, p.427-434, 1987.
- CHAI JY, SOHN WM, HONG SJ, LEE SH, SEO BS. Anthelmintic effect of praziquantel in the treatment of *Taenia saginata* and *Diphyllobothrium latum* infection. **J Korean Soc Chemother**; n. 3 p. 181-184, 1985.
- CHAN JD, ZAROWIECKI M, MARCHANT JS. Ca (2+) channels and Praziquantel: A view from the free world. **Parasitol Int**; S1383-5769, 2012.
- CIOLI D. Praziquantel: is there real resistance and are there alternatives? **Curr Opin Infect Dis** n. 13 p. 659–663, 2000.
- CIOLI, D; PICA-MATTOCIA, L. Praziquantel. **Parasitol Reseach**. n. 90, supp 1:S3-9, 2003.
- COOK, G. C. Anthelmintic agents: some recent developments and their clinical application. **The Fellowship of Postgraduate Medicine**, 1991.
- COOK, G.C. Doenças Parasitárias na Prática Clínica. **Springer- Verlag**, Londres, Berlim, 1990.
- CORBIN I, SIMCOFF R, NOVAK M, BLACKBURN BJ. Metabolism of [3-(13) C]-pyruvate by cysticerci of *Taenia crassiceps*. **Parasitol Res**. N. 84(6) p.516-518, 1998.

COULAND J.P., ROSSIGNOL J.F. Albendazol: a new single dose anthelmintic. Study in 1455 patients. **Acta trop**, n.43, p.87-80, 1984.

COULIBALY JT, N'GBESSO YK, KNOPP S, KEISER J, N'GORAN EK, UTZINGER J. Efficacy and safety of praziquantel in preschool-aged children in an area co-endemic for *Schistosoma mansoni* and *S. haematobium*. **PLoS One**; n.6: e1917, 2012.

COYLE CM, MAHANTY S, ZUNT JR, WALLIN MT, CANTEY PT, WHITE JÚNIOR AC, O'NEAL SE, SERPA JA, SOUTHERN PM, WILKINS P, MCCARTHY AE, HIGGS ES, NASH TE. Neurocysticercosis: Neglected but Not Forgotten. **PLoS Negl Trop Dis**. 6(5):e1500, 2012.

CRUZ M, CRUZ I, HORTON J, Albendazole versus praziquantel in the treatment of cerebral cysticercosis: clinical evaluation. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine Hygiene** 85: 244-247, 1995.

CRUZ ME, SCHANTZ PM, CRUZ I, ET AL Epilepsy and neurocysticercosis in an Andean community. **Int J Epidemiol**; n.28: p.799–803; 1999.

DAY, T. A; BOTROS, S. Drug resistance in schistosomes. In Parasitic Flatworms: Molecular Biology, Biochemistry, Immunology and Physiology (ed. Maule, A. and Marks, N. J.), pp. 256–268. **CAB International, Oxfordshire, UK, 2006.**

DEL ARENAL IP, FLORES AG, POOLE Rk, ESCAMILLA JE. *Taenia crassiceps* metacestodes have cytochrome oxidases aa3 but not cytochrome o functioning as terminal oxidase. **Mol Biochem Parasitol** n. 114 p. 103-109, 2001.

DEL ARENAL IP, RUBIO ME, RAMIREZ J, RENDÓN JL, ESCAMILLA JE. Cyanide-resistant respiration in *Taenia crassiceps* metacestode (cysticerci) is explained by the H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> producing side-reaction of respiratory complex 1 with O<sub>2</sub>. **Parasitol Int**, n. 5 p.1825-1835, 2005.

DEL BRUTTO OH, GARCÍA HH. Neurocysticercosis in Nonendemic Countries: Time for a Reappraisal. **Neuroepidemiology**, n. 39 p.145-146, 2012.

DEL BRUTTO OH, GARCÍA HH. Neurocysticercosis. **Handb Clin Neurol**, n.114 p.313–325, 2013.

DEL BRUTTO OH, SANTIBANEZ R, IDROVO L, RODRIGUEZ S, DIAZ-CALDERON E, NAVAS C, GILMAN RH, CUESTA F, MOSQUERA A, GONZALEZ AE, TSANG VC, GARCIA HH. Epilepsy and neurocysticercosis in Atahualpa: a door-to-door survey in rural coastal Ecuador. **Epilepsia** n. 46 p.583–587, 2005.

DEL BRUTTO OH. Neurocysticercosis: A Review. **Scientific World Journal**.159821, 2012.

DOENHOFF, M. J., CIOLI, D; UTZINGER, J. Praziquantel: mechanisms of action, resistance and new derivatives for schistosomiasis. **Current Opinion in Infectious Diseases** n. 21, p. 659–667, 2008.

DORAIS, F. J.; ESCH, G. W. Growth rate of two *Taenia crassiceps* strains. **Experimental Parasitology**, Estados Unidos, n.25, p. 395–398, 1969.

DUBREUIL, L., I. HOUCHE, Y. MOUTON, AND J. F. ROSSIGNOL. *In vitro* evaluation of activities of nitazoxanide and tizoxanide against anaerobes and aerobic organisms. **Antimicrob. Agents Chemother.** n. 40 p. 2266–2270, 1996.

DUTTA, AK. A randomised multicentre study to compare the safety and efficacy of albendazole and metronidazole in the treatment of giardiasis in children. **Indian J Pediatr**, n. 61(6): p. 689-693, 1994.

EDWARDS, G.; BRECKENRIDGE, A. M. Clinical pharmacokinetics of antihelminthic drugs. **Clinical pharmacokinetics**, Inglaterra, n. 15 v. 2, p.67-93, 1988.

ESCOBEDO G., PALACIOS-ARREOLA M.I, OLIVOS A, LÓPEZ-GRIEGO L, MORALES-MONTOR J., Tamoxifen treatment in hamsters induces protection during taeniosis by *Taenia solium*. **Biomed Research International**, 2013.

ESTANOL B, CORONA T, ABAD P. A prognostic classification of cerebral cysticercosis: therapeutic implications. **J Neurol Neurosurg Psychiatr.** n. 49; p.1131–1134, 1986.

FABIANI S, BRUSCHI F. Neurocysticercosis in Europe: still a public health concern not only for imported cases. **Acta Trop**; n.128 p. 18–26, 2013.

FALLON, P. G., TAO, L. F., ISMAIL, M. M. AND BENNETT, J. L. Schistosome resistance to praziquantel: Fact or artifact? **Parasitology Today** n. 12, p. 316–320, 1996.

FERREIRA LM, HOCHMAN B, BARBOSA MVJ. Modelos experimentais em pesquisa. **Acta Circ Bras.** n. 20(2): p. 28-34; 2005.

FLEURY A, CARRILLO-MEZO R, FLISSER A, SCIUTTO E, CORONA T. Subarachnoid basal neurocysticercosis: a focus on the most severe form of the disease. **Expert Rev Anti Infect Ther.** n. 9 p.123–33, 2011.

FLEURY A, GOMEZ T, ALVAREZ I, MEZA D, HUERTA M, ET AL. High prevalence of calcified silent neurocysticercosis in a rural village of Mexico. **Neuroepidemiology** n. 22: p.139–145; 2003.

FLEURY A., TREJO A., CISNEROS, H., GARCÍA-NAVARRETE, R., VILLALOBOS, N., HERNÁNDEZ, M., HERNÁNDEZ, J.V., HERNÁNDEZ, B.,

ROSAS, G., BOBES, R.J., ALUJA, A.S., SCIUTTO, E., FRAGOSO, G. *Taenia solium*: Development of an Experimental Model of Porcine Neurocysticercosis. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, n.10.1371, 2015.

FLISSER A, CORREA D. Neurocysticercosis may no longer be a public health problem in Mexico. **PLoS Negl Trop Dis**; n. 4:e831; 2010.

FLISSER A. Epidemiology of neurocysticercosis in Mexico: from a public health problem to its control. In: Foyaca-Sibat H, editor. **Novel Aspects on Cysticercosis and Neurocysticercosis**. Rijeka, Croatia: In Tech; p. 307–340, 2013.

FLISSER, A. Taeniasis-cysticercosis: an introduction. **The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health**. n. 22, p. 233-235, 1991.

FLORENCE TCHOUAFFI-NANA, T. ERIC BALLARD, CHRISTINE H. CARY, TIMOTHY L. MACDONALD, FONSECA-SALAMANCA F, MARTÍNEZ-GRUEIRO MM, MARTÍNEZ FERNÁNDEZ AR. Nematocidal activity of nitazoxanide in laboratory models. **Parasitol Res**, n.68, p. 382-3, 2003.

FOGANG YF, CAMARA M, DIOP AG, NDIAYE MM. Cerebral neurocysticercosis mimicking or comorbid with episodic migraine? **BMC Neurol**. p. 14:138; 2014.

FOGANG YF, SAVADOGO AA, CAMARA M, TOFFA DH, BASSE A, SOW AD, NDIAYE MM. Managing neurocysticercosis: challenges and solutions. **International Journal of general medicine**, n. 8; p. 333-334, 2015.

FOX, L. M.; SARAVOLATZ, L. M.-Nitazoxanide: A new thiazolideantiparasitic agent. **Reviews of Anti-Infective Agents**, Estados Unidos, n. 40, p. 1173-1180, 2005 .

FRAGA CM, COSTA TL, BEZERRA JCB, LINO JUNIOR RS, VINAUD MC. Fatty acids oxidation and alternative energy sources detected in *Taenia crassiceps* cysticerci after host treatment with antihelminthic drugs. **Exp Parasitol**. n. 131, p. 111-115, 2012b.

FRAGA CM, COSTA TL, BEZERRA JCB, LINO JUNIOR RS, VINAUD MC. *Taenia crassiceps*: Host treatment alters glycolysis and tricarboxylic acid cycle in cysticerci. **Exp. Parasitol**. n. 130; p. 146-151. 2012a.

FREEMAN, R.S Studies on the biology of *Taenia crassiceps* (Zeder 1800) Rudolphi, 1810 (Cestoda). **Can J Zool** n. 40, p. 969-990, 1962.

FREITAS A.A, MOURA V.B.L, GONÇALVES S.F, RODRIGUES A.A, FÉLIZ R.M, SOARES T.P, IRUSTA V.R.C, VINAUD M.C, OLIVEIRA M.A.P, LINO-JUNIOR R.S. Kinetics of the Inflammatory Response in Subcutaneous Cysticercosis Induced in Mice by *Taenia crassiceps*. **J. Comp. Path.**, Vol. 147, p. 267e274, 2012.

GARCIA HH, NASH TE, DEL BRUTTO OH. Clinical symptoms, diagnosis, and treatment of neurocysticercosis. **Lancet Neurol**; n.13, p.1202–1215, 2014.

GARCIA, H.H; GONZALEZ, A.E.; GILMAN, R.H. Cysticercosis Working Group in Peru. Circulating parasite antigen in patients with hydrocephalus secondary to neurocysticercosis. **Am J Trop Med Hyg** n. 66, p.427-430, 2002.

GEMMELL, M., MATYAS, Z., PAWLOWSKI, Z. ET AL. (Ed.). Guidelines for surveillance prevention and control of taeniasis/ cysticercosis. Geneva: **World Health Organization**, p. 207, 1983.

GEMMELL, M.A., LAWSON, J.R. Ovine cysticercosis as model for research into the epidemiology and control of human and porcine cysticercosis *Taenia solium*: The application of control. **Acta Leiden**. N.57, p.173-80, 1982.

GIL-GRANDE, L. A., RODRIGUEZ-CAABEIRO, F., PRIETO, J. G., SANCHEZ-RUANO, J. J., BRASA, C., AGUILAR. Randomised controlled trial of efficacy of albendazole in intra-abdominal hydatid disease. **Lancet**. n.342, p. 1269–72, 1993.

GILLES, H. M.; HOFMAN, P. S. Treatment of intestinal parasitic infections: a review of nitazoxanide. **Trends in parasitology**, Inglaterra, n. 18, v. 3, p. 95-97, 2002.

GONZÁLEZ-ESQUIVEL, D.; RIVIERA, J.; CASTRO, N.; YEPEZ-MULIA, L.; HELGI, J.C. *In vitro* characterization of some biopharmaceutical properties of praziquantel. **Int. J. Pharm.**, v.295, p.93-95. 2005.

GREENBERG, R. M. Ca<sup>2+</sup> signalling, voltage-gated Ca<sup>2+</sup> channels and praziquantel in flatworm musculature. **Parasitology**, Inglaterra, n.131: 97-108, 2005.

HARALABIDIS S, DIAKOU A, FRYDAS S, PAPADOPOULOS E, MYLONAS A, PATSIAS A, ROILIDES E, GIANNOULIS E. Long-term evaluation of patients with hydatidosis treated with albendazole and praziquantel. **Int J Immunopathol Pharmacol**; n. 21: p. 429- 35, 2008.

HOFFMAN, P.S., SISSON, G., CROXEN, M.A., WELCH, K., HARMAN, W.D., CREMADES, N., MORASH, M.G. Antiparasitic drug nitazoxanide inhibits the pyruvate oxidoreductases of *Helicobacter pylori* and selected anaerobic bacteria and parasites, and *Campylobacter jejuni*. **Antimicrob Agents Chemother**. n.51, p. 868–876; 2007.

HORTON, J. Albendazole: a broad-spectrum anthelmintic for treatment of individuals and populations. **Curr Opin Infect Dis**, n. 15(6), p. 599-608, 2002.

HUGGINS, D. Teníasas. **Pediatr Moderna**, v.24, n.6, p.251- 256, 1989.

ISAC E., PINCANÇO, A.G., COSTA, L.T., LIMA, F.N., ALVES, M.M.S.D., FRAGA, M.C., LINO-JUNIOR, S.R., VINAUD, M.C. Nitazoxanide induces *in vitro* blockage of glucose uptake and aerobic preference in *Taenia crassiceps* cysticerci. **Indian Journal of research**, volume 5, issue 5, p.376-379, 2016.

JAGOTA, SC. ET AL. Albendazole, a broad-spectrum anthelmintic, in the treatment of intestinal nematode and cestode infection: a multicenter study in 480 patients. **Clin Ther**, 8(2): 226-23, 1986.

JAOKO WG, MUCHEMI G, OGUYA FO. Praziquantel side effects during treatment of *Schistosoma mansoni* infected pupils in Kibwezi, Kenya. **East Afr Med J** n. 73, p. 499–501; 1996.

JONG-YIL CHAI. Praziquantel Treatment in Trematode and Cestode Infections: An Update. **Infect Chemother** n. 45(1), p. 32-43, 2013.

JUNG H, MEDINA R, CASTRO N, CORONA T, SOTELO J. Pharmacokinetic study of praziquantel administered alone and in combination with cimetidine in a single-day therapeutic regimen. **Antimicrob Agents Chemother** n. 41, p. 1256–1259, 1997.

KEISER J, UTZINGER J. Chemotherapy for major food-borne trematodes: a review. **Expert Opin Pharmacother**, n. 5, p.1711-26, 2004.

KÖHLER P, VOIGHT WP. Nutrition and metabolism. Parasitology in focus: facts and trends. ed. **Springer-Verlag**, 1<sup>a</sup> ed. 924pp, 1988.

KÖHLER P. 1985. The strategies of energy conservation in helminths. **Mol Biochem Parasitol** n. 17(1) p.1-18, 1985.

KÖHLER, P. The biochemical basis of anthelmintic action and resistance. **International Journal of Parasitology**, Inglaterra, n. 31, v. 4, p. 336-345, 2001.

KYUNG SY, CHO YK, KIM YJ, PARK JW, JEONG SH, LEE JI, SUNG YM, LEE SP. A paragonimiasis patient with allergic reaction to praziquantel and resistance to triclabendazole: successful treatment after desensitization to praziquantel. **Korean J Parasitol**, n. 49 p.73-7, 2011.

LARRALDE, C., SOTELO, J., MONTOYA, R.M., PALENCIA, G., PADILLA, A., GOVEZENSKY, T., DIAZ, M.L. & SCIUTTO, E. Immunodiagnosis of human cysticercosis in cerebrospinal fluid. Antigens from murine *Taenia crassiceps* cysticerci effectively substitute those from porcine *Taenia solium*. **Archives of Pathology and Laboratory Medicine** n. 114, p. 926–928, 1990.

LEANDRO, A.L ; FRAGA M.C., LINO-JR S.R. VINAUD C.M. Partial reverse of the TCA cycle is enhanced in *Taenia crassiceps* experimental neurocysticercosis after *in vivo* treatment with anthelmintic drugs. **Parasitol Res** n. 113: p.1313–1317, 2014.

LEE JM, LIM HS, HONG ST. Hypersensitive reaction to praziquantel in a clonorchiasis patient. **Korean J Parasitol**; n, 49, p. 273-5, 2011.

LEE SH, CHAI JY. Praziquantel in the treatment of trematode and cestode infections. **J Korean Soc Chemother**; n, 3, p. 95- 118, 1985.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. Princípios de bioquímica, second ed. **Sarvier Editora de Livros Médicos Ltda.** São Paulo, 839p, 2014.

LI T, CRAIG PS, ITO A, ET AL. Taeniasis/cysticercosis in a Tibetan population in Sichuan Province, China. **Acta Trop**; n. 100, p. 223–231, 2006.

LIANG YS, COLES GC, DAI JR, ZHU YC, DOENHOFF MJ. Adult worm tegumental damage and egg-granulomas in praziquantel- resistant and -susceptible *Schistosoma mansoni* treated *in vivo*. **J Helminthol**, n. 76, p. 327-33, 2002.

LOVIS L, MAK TK, PHONGLUXA K, AYÉ SOUKHATHAMMAVONG P, VONGHACHACK Y, KEISER J, VOUNATSOU P, TANNER M, HATZ C, UTZINGER J, ODERMATT P, AKKHAVONG K. Efficacy of praziquantel against *Schistosoma mekongi* and *Opisthorchis viverrini*: a randomized, single-blinded dose-comparison trial. **PLoS One**, n. 6:e1726, 2012.

MAILLARD, H. ; MARIONNEAU, J. ; PROPHETTE, B.; BOYER, E. ; CELERIER, P. *Taenia crassiceps* cysticerci and AIDS. **AIDS**, Inglaterra, n. 12, p. 1551-1552. 1998.

MALESUIK, MARCELO DONATEL. Nitazoxanida: desenvolvimento e validação de métodos analíticos e estudos da estabilidade. **Programa de Pós-graduação em ciências farmacêuticas**, Porto Alegre, 2010.

MARKOSKI, M. M.; TRINDADE, E. S.; CABRERA, G.; LASCHUK, A.; GALANTI, N.; ZAHA, A.; NADER, H. B.; FERREIRA, H. B. Praziquantel and albendazole damaging action *in vitro* developing *Metacystoides corti* (Platyhelminthes: Cestoda). **Parasitology International**, Holanda, n. 5, v.1, p. 55-61, 2006.

MÁRQUEZ-NAVARRO, A.; PÉREZ-REYES, A.; ZEPEDA-RODRIGUES, A.; REYNOSO-DUCOING, O.; HERNÁNDEZ-CAMPOS, A.; HERNÁNDEZ-LUIS, F.; CASTILLO, R.; YÉPEZ-MULI, A. L.; AMBROSIO, J. R. RCB20, an experimental benzimidazole derivative, affects tubulin expression and induces gross anatomical changes in *Taenia crassiceps* cysticerci. **Parasitology Research**, Alemanha, n. 112, p. 2215-2226, 2013.

MARRINER, S. E., MORRIS, D. L., DICKSON, B. & BOGAN, J. A. Pharmacokinetics of albendazole in man. **European Journal of Clinical Pharmacology** n. 30, p. 705, 1986.

MATOS-SILVA H, RECIPUTTI BP, PAULA EC, OLIVEIRA AL, MOURA VBL, VINAUD MC, OLIVEIRA MAP, LINO-JUNIOR RS. Experimental encephalitis caused by *Taenia crassiceps* cysticerci in mice. **Arq Neuro-Psiquiatr** n. 70(4); p. 287–292, 2012.

MEDINA MT, DURON RM, MARTINEZ L, OSORIO JR, ESTRADA AL, ET AL. Prevalence, incidence, and etiology of epilepsies in rural Honduras: the Salama Study. **Epilepsia** n. 46.p. 124–131, 2005.

MEHLHORN H, BECKER B, ANDREWS P, THOMAS H, FRENKEL JK (1981) In vivo and in vitro experiments on the effects of praziquantel on *Schistosoma mansoni*. **Drug Res** n. 31, p. 544–554, 1981.

METWALLY A, BENNETT JL, BOTROS S, EBEID F. Effect of cimetidine, bicarbonate and glucose on the bioavailability of different formulations of praziquantel. **Drug Res** n. 45, p. 516–518, 1995.

MISHRA D. Cysticercosis headache: an important differential of childhood headache disorder in endemic countries. **Headache**; n.47: p. 301–302; 2007.

MITCHELL, G. F., J. J. MACHALONIS, P. M. SMITH, W. L. NICHOLAS, AND N. L. WARNER.MONTANO SM, VILLARAN MV, YLQUIMICHE L, FIGUEROA JJ, RODRIGUEZ S, ET AL. Neurocysticercosis: association between seizures, serology, and brain CT in rural Peru. **Neurology** n. 65, p. 229–233, 2005.

MMWR.Morbidity and Mortality.**Weekly Report**. 1992, n.41 (37), p. 691-699, 1992.

MOHAMED, S.A., FAHMY, A.S., MOHAMED, T.M., HAMDY, S.M. Urea cycle of *Fasciola gigantica*: purification and characterization of arginase. **Comparative Biochemistry and Physiology** n.142, p; 308–316, 2005.

MONTANO SM, VILLARAN MV, YLQUIMICHE L, FIGUEROA JJ, RODRIGUEZ S, ET AL. (2005) Neurocysticercosis: association between seizures, serology, and brain CT in rural Peru. **Neurology** n. 65, p. 229–233, 2005.

MORALES-MONTOR, J. & LARRALDE, C. The role of sex steroids in the complex physiology of the host– parasite relationship: the case of the larval cestode of *Taenia crassiceps*. **Parasitology** n. 131, p. 287–294, 2005.

MOSKOPP, D. & LOTTERER, E. Concentrations of albendazole in serum, cerebrospinal fluid and hydatidous brain cyst. **Neurosurgical Review** n. 16, p. 35–7, 1993.

MOURA V.B, LIMA S.B, MATOS-SILVA. H, VINAUD M.C, LOYOLA P. R, LINO R.S. Cellular immune response in intraventricular experimental neurocysticercosis. **Experimental Parasitology**, n 143(3), p.334-42, 2016.

MOURA V.B.L, SILVA M.M, BATISTA L.F, GOMES C.M, LEENEN P.J.M, LINO-JUNIOR R.S, OLIVEIRA M.A.P. Arginase activity is associated with fibrosis in experimental infection with *Taenia crassiceps*, but does not play a major role in resistance to infection. **Experimental Parasitology**, n. 135, p. 599–605. 2013.

NASH TE, MAHANTY S, LOEB JA, ET AL. Neurocysticercosis: a natural human model of epileptogenesis. **Epilepsia**; n. 56 (2): p.177–183, 2015.

NASH, T. E, SINGH, G, WHITE, A. C., RAJSHEKHAR, V, LOEB, J. A, PROANO, J. V, TAKAYANAGUI, O. M, GONZALEZ, A. E, BUTMAN, J. A, DEGIORGIO, C, DEL BRUTTO, O. H, DELGADO-ESCUETA, A, EVANS, C. A, GILMAN, R. H, MARTINEZ, S. M, MEDINA, M. T, PRETELL, E. J, TEALE, J. AND GARCIA, H. H. Treatment of neurocysticercosis: current status and future research needs. **Neurology** n. 67, p. 1120–1127, 2006.

NOGALES-GAETE, J.; ARRIGADA, C. R.; SALINAS, R. R. Tratamiento de laneurocysticercosis; revisión crítica. **Revista Médica de Chile**, Chile, n.134, p. 789-796, 2006.

NOVAK, M. Quantitative studies on the growth and multiplication of tetrathyridia of *Mesocestoides corti* Hoeppli, 1925 (Cestoda: Cyclophyllidia) in rodents. **Can. J. Zool.** n. 50, p.1189, 1972.

PALOMARES F, PALENCIA G, AMBROSIO JR, ORTIZ A, COOK HJ. Evaluation of the efficacy of albendazole sulphoxide and praziquantel in combination on *Taenia crassiceps* cyst: in vitro studies. **J Antimicrob Chemother.**n.57, p. 482-488. 2006.

PALOMARES-ALONSO, F. ; PILIADO, J. C.; PALENCIA, G.; ORTIZ-PLATA, A.; JUNG-COOK, H. Efficacy of nitazoxanide, tizoxanide and /albendazole sulphoxide combination against *Taenia crassiceps* cysts. **The Journal of antimicrobial chemotherapy**, Inglaterra, n. 59, v. 2, p. 212-218, 2007.

PAX RA, BENNETT JL, FETTERER R. A benzodiazepine derivative and praziquantel: effects on musculature of *Schistosoma mansoni* and *Schistosoma japonicum*. **Naunyn-Schmiedebergs Arch Pharmacol**; n. 304, p. 309 – 15, 1978.

- RAETHER, W.; HANEL, H. Nitroheterocyclic drugs with broad spectrum activity. **Parasitology, reseach**, Alemanha, Res. 90 Supp 1:S19-39, 2003.
- RAJSHEKHAR V, JOSHI DD, DOANH NQ, VAN DE N, XIAONONG Z. *Taenia solium* taeniosis/cysticercosis in Asia: epidemiology, impact and issues. **Acta Trop**; n. 87, p.53–60, 2003.
- RAJSHEKHAR V, RAGHAVA MV, PRABHAKARAN V, OOMMEN A, MULIYIL J. Active epilepsy as an index of burden of neurocysticercosis in Vellore district, India. **Neurology**; n. 67, p.2135–2139, 2006.
- RANGEL R, TORRES B, DEL BRUTO O, SOTELO J. Cysticercotic encephalitis: a severe form in young females. **Am J Trop Med Hyg**; n. 36, p.387–92, 1987.
- RENDÓN JL, DEL ARENAL IP, GUEVARA-FLORES A, MENDONZA-HERNÁNDEZ G, PARDO JP. Glucose 6-phosphate dehydrogenase from larval *Taenia crassiceps* (cysticerci): purification and propereties. **Parasitol Res** n. 102, p. 1351-1357, 2008.
- RESTREPO, B. I., AGUILAR, M. I., MELBY, P. C. AND TEALE, J. M. Analysis of the peripheral immune response in patients with neurocysticercosis: evidence for Tcell reactivity to parasite glycoprotein and vesicular fluid antigens. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene** n. 65, p. 366–370, 2001a.
- RESTREPO, B. I., ALVAREZ, J. I., CASTANO, J. A., ARIAS, L. F., RESTREPO, M., TRUJILLO, J., COLEGIAL, C. H. AND TEALE, J. M. Brain granulomas in neurocysticercosis patients are associated with a Th1 and Th2 profile. **Infection and Immunity** n. 69, p. 4554–4560, 2001b.
- REY, L. As bases da parasitologia médica. Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan**, 349p, 1992.
- REY, L. Parasitologia - parasitos e doenças parasitárias do homem nas Américas e na África. 2 ed. Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan**, 731p, 1991.
- RIM H.J., YOO K.S. Chemotherapeutic effect of praziquantel (Embay 8440) in the treatment of clonorchiasis sinensis. **Korea Univ Med J**, n.16, p. 459-70. 1979.
- ROSSIGNOL JF, MAISONNEUVE H. Nitazoxanide in the treatment of *Taenia saginata* and *Hymenolepis nana* infections. **Am J Trop Med Hyg**; n. 33, p. 511-2, 1984.
- ROSSIGNOL, J. F.; CAVIER, R. New derivative of 2-benzamido-5-nitrothiazoles, **ChemAbstr**, n. 83: 281216 n, 1975.
- RUDOLPHI, 1810 (Cestoda). **Canadian Journal of Zoology**, n.40, p. 969-990.

SANTOS R, CHAVARRIA M, AGUIRRE AE. Failure of medical treatment in two cases of intraocular cysticercosis. **Am J Ophthalmol**; n. 97, p. 249-50, 1984.

SAVIOLI LS, DAUMERIE D. First WHO report on neglected tropical diseases: working to overcome the global impact of neglected tropical diseases. Geneva: **World Health Organisation** 2010.1 2010.1. p. 1–169, 2010.

SCHENONE H. Praziquantel in the treatment of *Hymenolepis nana* infection in children. **Am J Trop Med Hyg**, n. 29, p.320- 1, 1980.

SCRIMGEOUR EM, GAJDUSEK DC. Involvement of the central nervous system in *Schistosoma mansoni* and *Schistosoma haematobium* infection. **Brain** n. 108, p.1023–1038, 1985.

SERPA J.A., YANCEY L.S., WHITE A.C. JR. Advances in the diagnosis and management of neurocysticercosis. **Expert Rev Anti Infect Ther**; n.4, p. 1051-1061, 2006.

SETO EY, WONG BK, LU D, ZHONG B. Human schistosomiasis resistance to praziquantel in China: should we be worried? **Am J Trop Med Hyg**, n. 85, p.74-82, 2011.

SINGH G, BURNEO JG, SANDER JW. From seizures to epilepsy and its substrates: neurocysticercosis. **Epilepsia**; n.54, p. 783–792, 2013.

SINHA S, SHARMA BS. Neurocysticercosis: a review of current status and management. **J Clin Neurosci** n. 16, p. 867–876, 2009.

SMYTH, J.D., MCMANUS, D.P. *The Physiology and Biochemistry of Cestodes*. **Cambridge University Press**, Cambridge, 1989.

SOTELO J, DEL BRUTTO OH, PENAGOS P, ESCOBEDO F, TORRES B, RODRIGUEZ-CARBAJAL J, RUBIO-DONNADIEU F. Comparison of therapeutic regimen of anticysticercal drugs for parenchymal brain cysticercosis. **Journal of Neurology** n. 237, p. 69-72, 1990.

STEINER K, GARBE A, DIEKMANN HW, NOVAK H. The fate of praziquantel in the organism. I: Pharmacokinetics in animals. **Eur J Drug Metab Pharmacokinet** n. 1 p.85–95, 1976.

STETTLER M, FINK R, WALKER M ET AL. In vitro parasitocidal effect of nitazoxanida against *Echinococcus multilocularis* metacestodes activity. **Antimicrob Agents Chemother**; n. 47, p. 467-74, 2003.

STIEN A, VOUTILAINEN L, HAUSISALMI V, FUGLEI W, MORK T, YOCCOZ NG, IMS RA, HENTTONEN H. Intestinal parasites of the Arctic fox in relation to the

abundance and distribution of intermediate hosts, **Parasitology**; n.137 (1), p. 149-157, 2010.

TAKAYANAGUI O.M., JARDIM E. Therapy for neurocysticercosis. Comparison between albendazole and praziquantel. **Archives of Neurology**, n. 49, p. 290-294, 1992

TAKAYANAGUI O. M., LEITE J. Neurocysticercose. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, n. 34(3): p. 283-290, 2001.

TAKAYANAGUI OM, ODASHIMA NS, BONATO PS, LIMA JE, LANCHOTE VL. Medical management of neurocysticercosis. **Expert Opin Pharmacother**. n. 12, p.2845–2856, 2011.

TAKAYANAGUI OM. [Neurocysticercose. II. Avaliação da terapêutica com praziquantel. **Arquivos de Neuropsiquiatria** n. 48, p. 11-15, 1990.

TEKIN R, KARA AF, TEKIN RC, CIMEN D. Cardiac hydatid cyst case recovered with medical treatment. **Anadolu Kardiyol Derg**; n.11, p. 650-1, 2011.

THOMAS H, GÖNNERT R. The efficacy of praziquantel against cestodes in animals. **Z Parasitenkd**; n.52, p. 117-2, 1977.

TIELENS AGM, VAN GRINSVEN KWA, HENZE K, VAN HELLEMOND JJ, MATIN W. Acetate formation in the energy metabolism of parasitic helminthesand protists. **Int J Parasitol** n. 40, p. 387-397, 2010.

TIELENS, A.G.M, VAN DEN HEUVEL, J.M. AND VAN DEN BERGH, S.G. The energy metabolism of *Fasciola hepatica* during its development in the final host. **Mol. Biochem. Parasitol** n. 13, p. 301-307, 1984.

TORRES-CORZO JG, TAPIA-PEREZ JH, VECCHIA RR, CHALITA-WILLIAMS JC, SANCHEZ-AGUILAR M, SANCHEZ-RODRIGUEZ JJ. Endoscopic management of hydrocephalus due to neurocysticercosis. **Clin Neurol Neurosurg**; n. 112, p. 11–16, 2010.

VAZ AJ, NUNES CM, PIAZZA RM, LIVRAMENTO JA, DA SILVA MV, NAKAMURA PM. Immunoblot with cerebrospinal fluid from patients with neurocysticercosis using antigen from cysticerci of *Taenia solium* and *Taenia crassiceps*. **Am J Trop Med Hyg**. n.57; p. 354-357; 1997.

VINAUD MC, FERREIRA CS, JUNIOR RSL, BEZERRA JCB. *Taenia crassiceps*: Energetic and respiratory metabolism from cysticerci. **Exp Parasitol**. n. 1120, p. 221-226, 2008.

- VINAUD MC, FERREIRA CS, LINO JÚNIOR RS, BEZERRA JCB. *Taenia crassiceps*: fatty acids oxidation and alternative energy source *in vitro* cysticercoci exposed to anthelmintic drugs. **Exp Parasitol**. n.122; p.208-211. 2009.
- VINAUD MC, LINO JUNIOR RS, BEZERRA JCB. *Taenia crassiceps* organic acids detected in cysticerci. **Exp Parasitol**; n. 116, p. 335-339, 2007.
- WALKER, M., ROSSIGNOL, J.F., TORGERSON, P., HEMPHILL, A. In vitro effects of nitazoxanida on *Echinococcus granulosus* protoscoleces and metacestodes. **The Journal of Antimicrobial Chemotherapy** n.54, p.609–616, 2004.
- WALLIN MT, KURTZKE JF. Neurocysticercosis in the United States: review of an important emerging infection. **Neurology**.n. 63(9), p.1559-1564, 2004.
- WANG W, WANG L, LIANG YS. Susceptibility or resistance of praziquantel in human schistosomiasis: a review. **Parasitol Res**; n. 111, p. 1871-7, 2012b.
- WEBBE G, JAMES C. A comparison of the susceptibility to praziquantel of *Schistosoma haematobium*, *S. japonicum*, *S. mansoni*, *S. intercalatum* and *S. mattheei* in hamsters. **Z Parasitenkd** n. 52, p. 169–177, 1977.
- WEN, H., ZOU, P. F., YANG, W. G., LU, J., WANG, Y. H., ZHANG, J. H. ET AL. Albendazole chemotherapy for human cystic and alveolar echinococcosis in north western China. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene** n.88, p.340–3, 1994.
- WHITE A. Nitazoxanide: an important advance in anti-parasitic therapy. **Am J Trop Med Hyg**; n. 68, p.382-3, 2003.
- WHITE, A.C. Neurocysticercosis: a major cause of neurological disease worldwide. **Clinical Infectious Diseases** n. 24, p. 101–113, 2005.
- WHITE, C. A., JR. Neurocysticercosis: a major cause of neurological disease. **Clin infect Dis**.n 24, p. 101-103, 1997.
- WHO 2010- Working to overcome the global impact of neglected tropical diseases: First WHO report on neglected tropical diseases. **World Health Organization**.
- WHO.2008. [http://www.who.int/zoonoses/neglected\\_zoonotic\\_diseases/en/](http://www.who.int/zoonoses/neglected_zoonotic_diseases/en/) acessado em 10/03/2008.
- WHO, 2012. Accelerating work to overcome the global impact of neglected tropical diseases. A roadmap for implementation. Geneva. Available from: [whqlibdoc.who.int/hq/2012/WHO\\_HTM\\_NTD\\_2012.1\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/hq/2012/WHO_HTM_NTD_2012.1_eng.pdf).
- WILLMS K, ZURABIAN R. *Taenia crassiceps*: *in vivo* and *in vitro* models. **Parasitology** n. 137 (3), p. 335-346, 2010.

WILMS K, PRESAS AMF, JIMÉNEZ JA, LANDA A, ZURABIÁN R, UGARTE MEJ, ROBERT L. *Taeniide* tapeworm responses to in vitro glucose. **Parasitol Res** n. 96, p. 296-301, 2005.

YOUSUF AQEEL, RUQAIYYAH SIDDIQUI, MARIA FAROOQ, NAVEED AHMED KHAN. Anaerobic respiration: In vitro efficacy of Nitazoxanide against mitochondriate *Acanthamoeba castellanii* of the T4 genotype. **Experimental Parasitology** n.157, p. 170 e 176, 2015.

ZENKA J, PROKOPIC J. Malic enzyme, malate dehydrogenase, fumarasereductase and succinate dehydrogenase in the larvas of *Taenia crassiceps* (Zelder, 1800). **Folia Parasitol (Praha)** n. 34, p. 131-136, 1987.

ZURABIAN, R.; AGUILAR-VEGA, L.; TERRONE-VARGAS, E.; CERVERA HERNANDEZ, M. E.; WILLIMS, K. ; RUIZ-VELASCO, ACOSTA, S. *In vivo* albendazole treatment of *Taenia crassiceps* cysticerci strain WFU: proliferation, damage, and recovery. **Parasitol Research**, Alemanha, n. 112, v. 11, p. 396103968, Epub 2013 Sep 5, 2013.

# ANEXOS

## Anexo 1– Parecer do Comitê de Ética, TCLE

14/2/2014 Gmail - Notificação de Aprovação de Projeto - CEUA/PRPPG/UFG

 Marina Vinaud <marinavinaud@gmail.com>

---

**Notificação de Aprovação de Projeto - CEUA/PRPPG/UFG**  
1 mensagem

---

**Comissão de Ética no Uso de Animais CEUA** <ceua.ufg@gmail.com> 14 de fevereiro de 2014 11:24  
Para: Marina Vinaud <marinavinaud@gmail.com>

Prezado(a) Pesquisador(a) Marina Clare Vinaud,

Comunicamos que o projeto inscrito sob **Protocolo n. 050/13**, intitulado *Neurocisticercose experimental: alterações morfológicas e bioquímicas causadas pela ação de nitazoxanida e niclosamida*, foi **Aprovado** pela Comissão de Ética no Uso de Animais/CEUA-PRPPG-UFG.

Reiteramos a importância desse Parecer substanciado e lembramos que o(a) pesquisador(a) responsável deverá encaminhar à CEUA-PRPPG-UFG um Relatório Final baseado na conclusão do estudo e na incidência de publicações decorrentes deste, de acordo com o disposto na Lei nº. 11.794 de 08/10/2008, e Resolução Normativa nº. 01, de 09/07/2010 do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal-CONCEA.

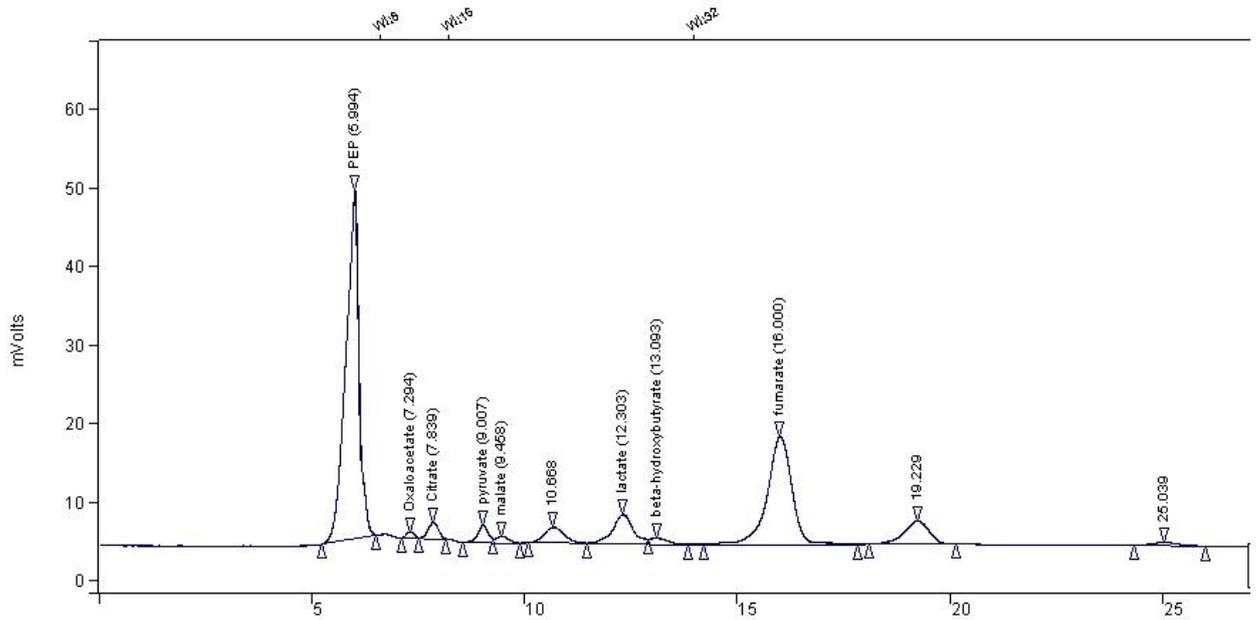
Atenciosamente,

--

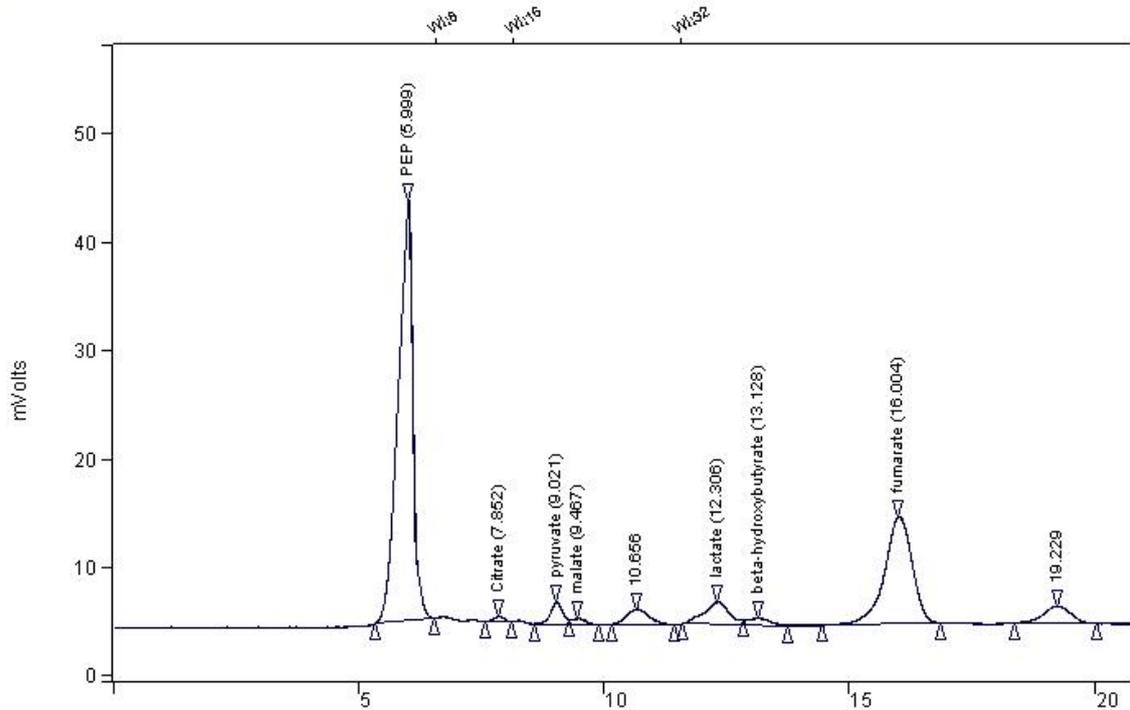
.....  
**Comissão de Ética no Uso de Animais/CEUA**  
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação/PRPPG  
Universidade Federal de Goiás/UFG  
(62)3521-1215

<https://mail.google.com/mail/u/0/?ui=2&ik=4c87100485&view=pt&search=inbox&th=14430916881ca9c2> 1/1

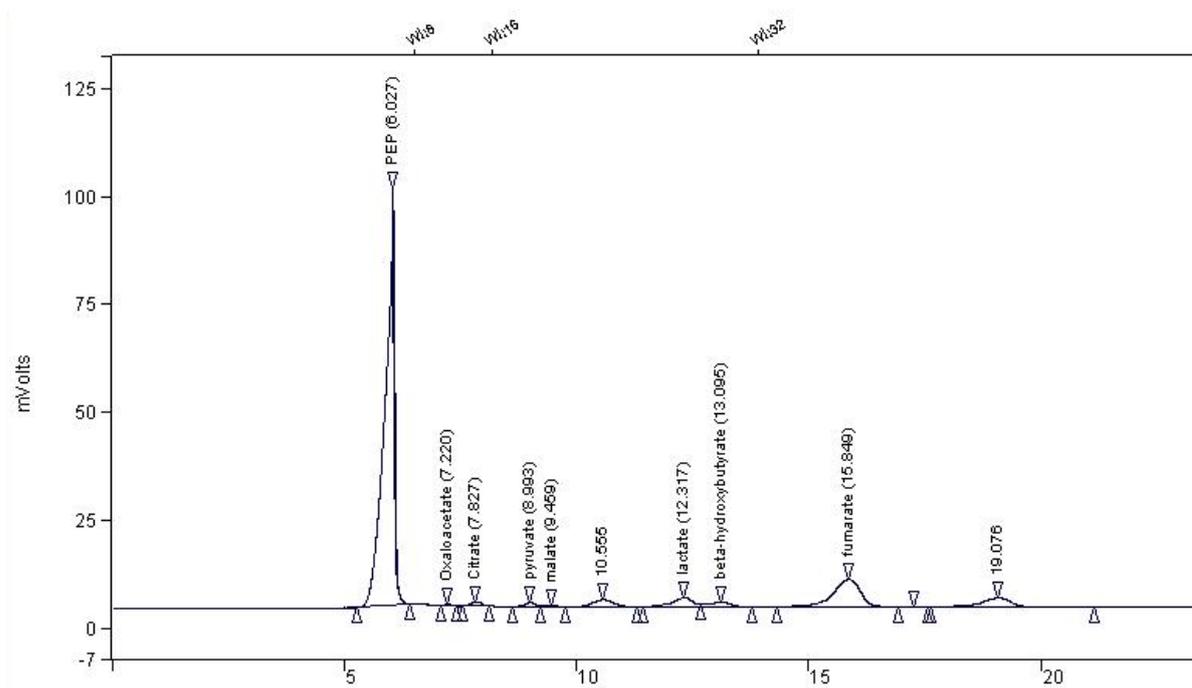
## Anexo 2- Cromatogramas



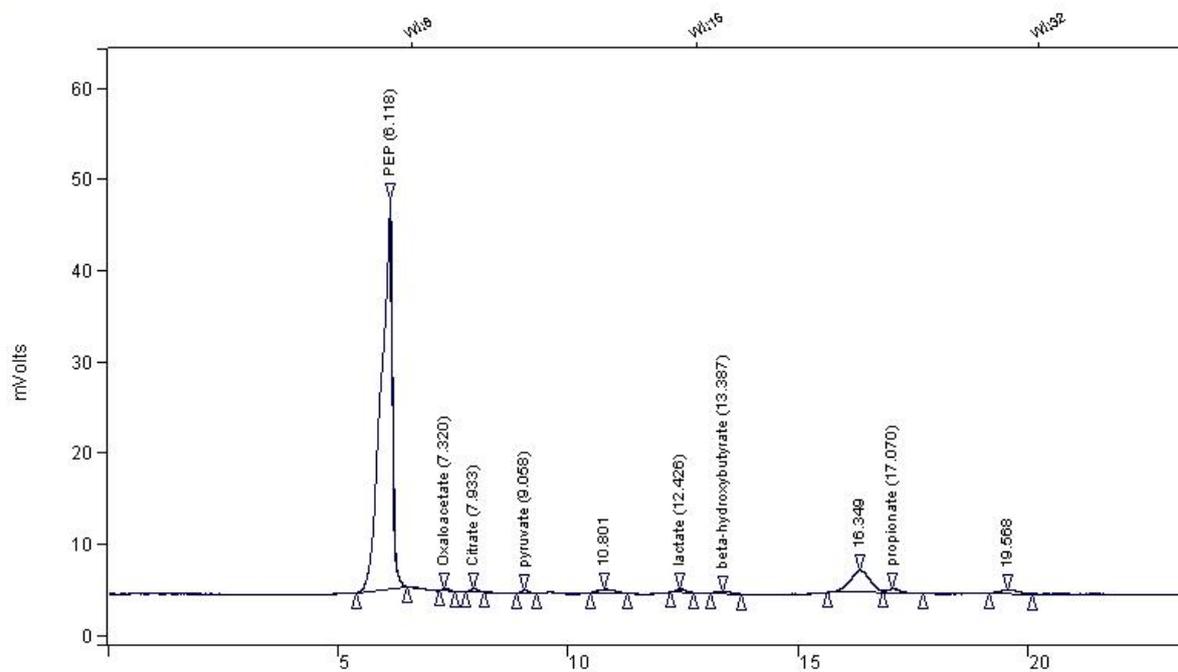
**Cromatograma 1:** Detecção *in vivo* de ácidos orgânicos presentes nos cisticercos de *Taenia crassiceps* no grupo controle (1ª repetição)



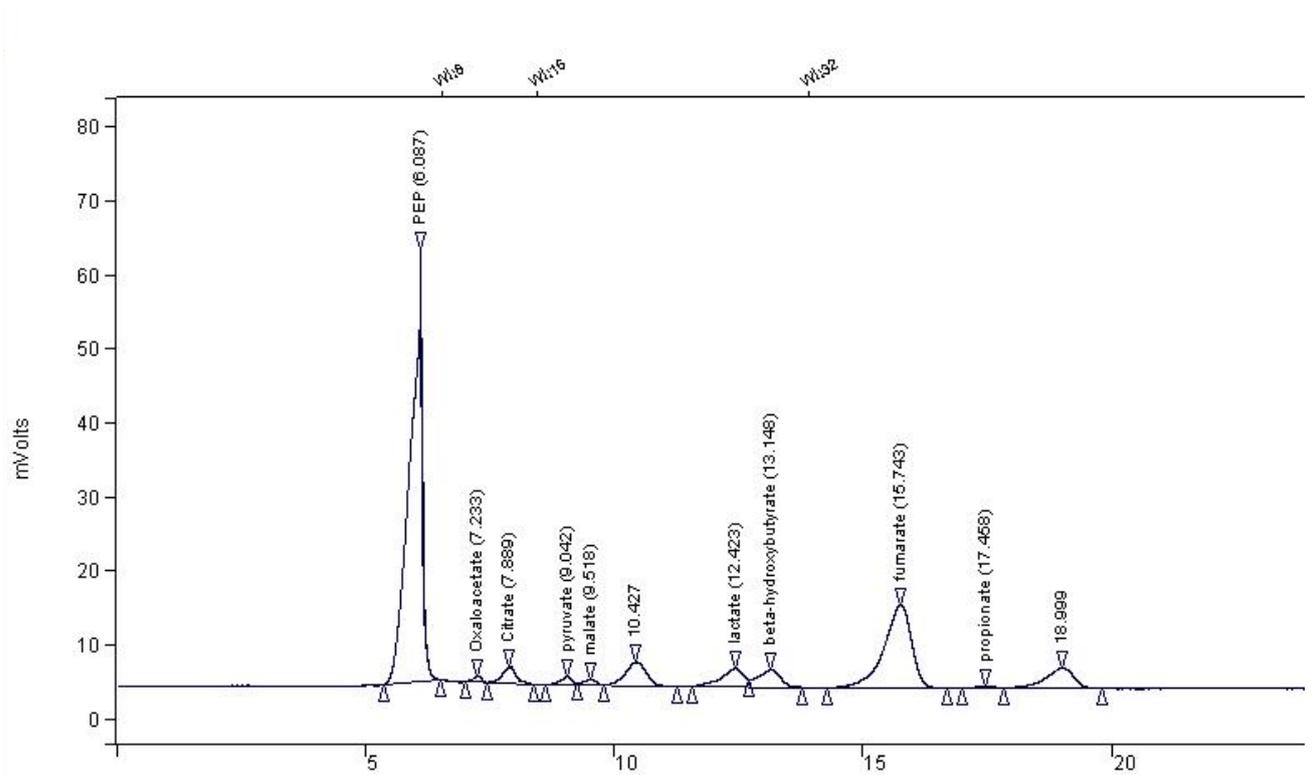
**Cromatograma 2:** Detecção *in vivo* de ácidos orgânicos presentes nos cisticercos de *Taenia crassiceps* no grupo controle (2ª repetição).



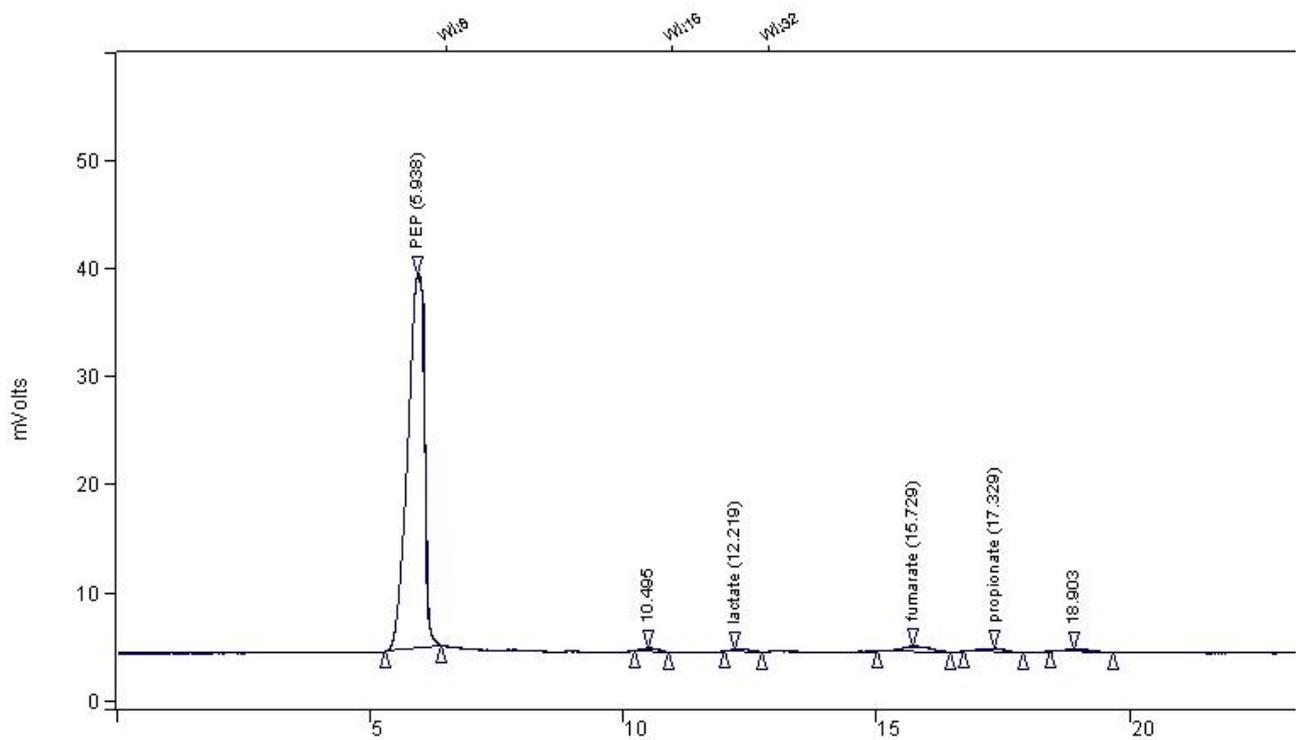
**Cromatograma 3:** Detecção *in vivo* de ácidos orgânicos presentes nos cisticercos de *Taenia crassiceps* expostos a NTZ 20 mg/kg (1ª repetição).



**Cromatograma 4:** Detecção *in vivo* de ácidos orgânicos presentes nos cisticercos de *Taenia crassiceps* expostos a NTZ 20 mg/kg (2ª repetição).



**Cromatograma 5:** Detecção *in vivo* de ácidos orgânicos presentes nos cisticercos de *Taenia crassiceps* expostos a NTZ 40 mg/kg (1ª repetição).



**Cromatograma 6:** Detecção *in vivo* de ácidos orgânicos presentes nos cisticercos de *Taenia crassiceps* expostos a NTZ 40 mg/kg (2ª repetição).