



### **GRUPO "ZONOSIS PARASITARIAS" (ZP).**

Departamento de Biología. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad Nacional de Mar del Plata. CONICET.

**Director del Grupo:** Prof. Dr. Guillermo Denegri

**Integrantes del Grupo:** M. Celina Elissondo; Marcela Dopchiz; Andrea Cumino; Ricardo Guichón; Martín Fugassa; M. Vanesa Andresiuk; Clara Albani, Natalia Scioscia, Patricia Hollmann Marina Maggiore, Carla Lavallen; M. Celeste Nicolao; Patricia Pensel, Karina Bravo, Andrea Palazzo y Patricia Gonzalez.

**Dirección y Contacto:** Funes 3250. 7600. MAR DEL PLATA. E-mail: [gdenegri@mdp.edu.ar](mailto:gdenegri@mdp.edu.ar) TE. (0223) 475-2426 Int. 450.

### **Áreas Temáticas y Perfiles de la Investigación**

Las áreas temáticas de investigación del Grupo se desarrollan en el marco en un Programa de Investigación en Zoonosis Parasitarias de importancia regional teniendo como filosofía una fuerte relación con el medio y procurando aportar conocimientos y soluciones a los problemas que plantean estas patologías para la salud pública. Desde el inicio de las actividades la orientación del Grupo en ZP fue entonces articular de manera armoniosa la investigación básica y aplicada, apostando fuertemente a definir una política de estrecha relación entre la investigación, la extensión y la docencia, teniendo en cuenta que desarrollamos nuestra actividad en la Universidad pública y gratuita. Creemos entonces que los problemas que plantea el medio deben ser los disparadores para que la universidad se constituya en fuente principal de generación de nuevo conocimiento científico y no al revés, como a veces sucede. En muchas oportunidades los temas a investigar no tienen nada que ver con la realidad en la que está inserta la institución y pareciera que la falacia de la "universalidad del conocimiento" pusiera una barrera infranqueable a la resolución de los problemas que nos aquejan como sociedad. Si los temas de investigación nos vienen impuestos por las naciones que generan un supuesto conocimiento universal, aséptico y sin carga valorativa, la aceptación por nuestras comunidades locales implican una fuerte dependencia cultural y una violación flagrante al compromiso ético con nuestros semejantes que están esperando de la institución Universidad que les ayuden a diagnosticar, evaluar y resolver sus problemas sociales, culturales, educativos y políticos. En este marco hemos creído necesario fomentar la generación de conocimiento inter, multi pluri y transdisciplinario donde todos los actores sociales tengan algo que decir y aportar para la resolución de los problemas. Es por eso que debe propiciarse que el abordaje de las realidades sociales no sea una cuestión solo "disciplinar" sino que se la debe trascender para que el denominador común que nuclea a todos los actores involucrados sea el "problema a resolver". Este cambio paradigmático en el abordaje y el accionar implica necesariamente que todos los actores sociales tienen algo interesante que decir y aportar a la resolución de los problemas. En el caso de las zoonosis parasitarias de importancia en salud pública estas consideraciones cobran una especial trascendencia.

### **Evolución histórica de las actividades del Grupo y logros alcanzados**

El Grupo de Investigación Zoonosis Parasitarias (ZP) ha desarrollado desde su inicio investigaciones focalizadas al conocimiento de la epidemiología de hidatidosis / echinococcosis en el sudeste de la provincia de Buenos Aires y a otras zoonosis en mascotas. Los estudios epidemiológicos de la enfermedad hidatídica para el período 1974-2002 en centros de salud de la Ciudad de Mar del Plata detectaron una situación preocupante debido a la gran cantidad de casos diagnosticados (n= 382). Además se comprobó la presencia de casos pediátricos de procedencia rural y urbana. La cantidad de casos nuevos por año y los valores de incidencia variaron de un año a otro y en cada institución sin mostrar ninguna tendencia en particular, evidenciando que en la zona no hay programa de control en marcha y que la enfermedad continúa sin intervención humana para controlarla. Con respecto al ganado de consumo se caracterizó la epidemiología de la enfermedad en la región, se estableció una prevalencia general para algunas Regiones Sanitarias de la provincia de Buenos Aires del 11,5 al 14 % en porcinos y bovinos y 4 % en ovinos, con variación en las mismas según la región, alcanzando valores máximos y representativos, siendo de 14,19% para la Región sanitaria VIII. Para el ganado vacuno se establecieron valores de abundancia, morfología de los quistes, predominio de fertilidad y vitalidad en función de la edad de los animales y la localización de los quistes. Además se comprobó la viabilidad de quistes hidatídicos bovinos en perros a través de la obtención de adultos grávidos. Con estudios de genotipo, se determinó la cepa G1 y grupos G1/G2 en los hospedadores estudiados. Otros estudios



realizados por nuestro grupo permitieron poner a punto la caracterización de grupos de cepas G1 (en bovinos, porcinos y humanos) y G7 (en porcinos) a través de morfometría de los ganchos a partir de protoescolices y la tipificación de genotipo utilizando técnicas de biología molecular. En cuanto a la echinococcosis canina, se determinó la presencia de perros urbanos y periféricos portadores del parásito en el partido de General Pueyrredón. Se realizaron además estudios de echinococcosis ambiental, utilizando la técnica de coproantígeno, que indicaron la presencia del parásito en ambientes urbanos (33% de las plazas estudiadas de la ciudad de Mar del Plata) y en campos del partido (16,7%). Además se realizaron estudios de echinococcosis canina en el partido de Lobos encontrando prevalencias 1.2 veces más elevadas respecto a las halladas en el Pdo. de Gral. Pueyrredón.

Simultáneamente se desarrolló una línea de investigación en quimioterapia experimental utilizando técnicas de cultivo *in vitro* para el mantenimiento de protoescolices de *E. granulosus* durante tiempos prolongados sin alterar su morfología y sin producir cambios en su evolución. Esto permitió desarrollar pruebas de cultivo *in vitro* con diferentes fármacos y analizar los cambios estructurales y ultraestructurales producidos sobre este estadio del parásito. Además se logró la puesta a punto de un modelo experimental para el cultivo *in vitro* en dirección vesicular del metacestode *E. granulosus* y se obtuvo por primera vez microquistes totalmente desarrollados a partir de protoescolices de *E. granulosus* de origen bovino. Los tiempos de evolución cortos del cultivo *in vitro* permiten en unas pocas semanas evaluar la viabilidad de los protoescolices. Una vez puesta a punto la técnica de cultivo y mantenimiento de *E. granulosus*, los trabajos de investigación realizados hasta la fecha por este grupo se han dirigido por un lado, a la búsqueda *in vitro* e *in vivo* de diferentes fármacos con acción antihelmíntica sobre el cestode *E. granulosus* y por otro al desarrollo de una línea de investigación basada en el estudio de las alteraciones metabólicas focalizadas sobre cambios en el metabolismo intermediario y en los mecanismos de obtención de energía del parásito.

En relación a la eficacia de diferentes drogas, se ha evaluado el efecto de fármacos de la familia de los bencimidazoles-carbamatos, mejorando su eficacia y cinética y de combinaciones con ivermectina y otros fármacos. Se focalizó la atención en el flubendazole (FLBZ), fármaco que fue dejado de lado en los años 80 como posible opción para el tratamiento de la echinococcosis quística en humanos. Se demostró su efectividad *in vitro* sobre protoescolices, microquistes y quistes. Con respecto a las pruebas de eficacia *in vivo*, en un trabajo en conjunto entre el Laboratorio de Zoonosis Parasitarias de la UNMdP y el Laboratorio de Farmacología de la Facultad de Veterinaria de la UNCPBA se logró establecer un modelo experimental en ratones que permite obtener animales infectados en un lapso de 6 a 8 meses. Se realizaron estudios con albendazole (ABZ) utilizando nuevas formulaciones, dosis menores y tiempos breves de tratamiento obteniendo resultados alentadores en lo que hace a establecer la dosis óptima y el protocolo de tratamiento adecuado de la enfermedad en humanos. También se realizaron estudios *in vivo* con FLBZ y se corroboró la eficacia *in vitro*. Los estudios *in vivo* incluyeron el desarrollo de una formulación de FLBZ-ciclodextrina, la cual al incrementar la biodisponibilidad del antihelmíntico (demostrada en estudios farmacocinéticos) se logró un significativo incremento en la actividad cestodocida, evaluada como menor desarrollo de quistes en los animales tratados.

Por otro lado, debido al importante auge de la Fitomedicina en Argentina y en el mundo, se realizaron estudios con aceites esenciales y sus derivados. Se obtuvieron excelentes resultados con timol, un terpenoide de origen natural extraído de plantas del género *Thymus* y conocido por sus propiedades antisépticas, fungicidas y larvicidas. Se demostró su eficacia *in vitro* sobre protoescolices, microquistes y quistes. También se ha demostrado la eficacia *in vitro* del aceite esencial de menta y romero y se está trabajando actualmente con aceites esenciales de canela, *Menta pulegium*, clavo y sus derivados.

Se ha desarrollado una línea de investigación basada en el estudio de las alteraciones metabólicas frente a diferentes fármacos, focalizadas sobre el estudio de los cambios en el metabolismo del parásito. Los primeros resultados aportados por este grupo fueron focalizados en responder a nivel de los mecanismos de acción de los bencimidazoles-metil carbamato, la mayor eficiencia del FLBZ respecto a otros fármacos de su género, y conseguir los primeros datos bioquímico-moleculares que pudieran dar cuenta de esta diferencia. Mostramos que FLBZ induce un aumento de la liberación de calcio citosólico, una disminución transcripcional en la expresión de tubulina y malato dehidrogenasa mitocondrial y una disminución significativa en niveles de glucógeno. También se confirma mediante microscopía confocal y sondas fluorescentes un efecto despolarizante generalizado en protoescolices tratados con ivermectina. Estos resultados son



compatibles con la existencia de múltiples sitios de acción para FLBZ, y llevan a concluir que FLBZ induce un efecto protoescolicida por un mecanismo dependiente de calcio y como otros halógeno-bencimidazol-derivados, podría interferir con un amplio espectro de mecanismos celulares. Estos resultados alentaron la hipótesis de búsqueda de vías de acción y señalización en las que intervenga una modificación de calcio citoplasmático como desencadenante precoz en las alteraciones provocadas por ciertos fármacos para ser utilizados como protoescolicidas efectivos. Se demostró la acción protoescolicida de fármacos citostáticos inmunomoduladores y fue identificado y clonado el gen que codifica para una proteína perteneciente a la superfamilia de inmunofilinas denominada Eg-FKBP. Esta proteína presenta todos los aminoácidos involucrados en la actividad rotamasa y en la interacción con los ligandos farmacológicos, rapamicina y sus derivados. Se puso en evidencia, que esta proteína es un posible modulador de canales de calcio mediados por ligandos y es el receptor intracelular que mediaría los efectos farmacológicos de los rapálogos en forma dependiente de la dosis

Otra línea de trabajo es el estudio de la variación en el perfil proteico constitutivo de protoescolices de origen bovino provenientes de diferentes órganos (hígado y pulmón) utilizando geles 2DE. Los resultados preliminares obtenidos indican que habría un patrón de expresión proteica diferencial según el origen de los protoescolices. El estudio diferencial del proteoma de *E. granulosus* sería promisorio como herramienta en el análisis comparativo tanto para distinguir el origen de los protoescolices de uno o varios hospedadores como así también para comparar parásitos tratados con drogas antihelmínticas.

Basado en la capacidad proliferativa de las membranas germinativas de los quistes hidatídicos, se ha establecido metodológicamente el desarrollo de cultivos primarios *in vitro* para *E. granulosus*, permitiendo el desarrollo de un sistema metabólicamente muy activo constituido por estructuras generadas por el parásito, pero carentes de componentes del hospedador. Esta metodología representa una herramienta muy valiosa y de gran utilidad para estudiar la biología del metacestode a nivel molecular y el modo de acción *in vitro* de diferentes fármacos complementaria al mantenimiento de protoescolices y animales de experimentación

En lo que respecta al abordaje de las zoonosis a nivel local y regional el Grupo de Investigación en ZP decidió desde el año 2001 abordar de una manera integral la problemática de las zoonosis parasitarias en el Partido de General Pueyrredón. En el marco del convenio de cooperación entre el Centro Municipal de Zoonosis (CMZ), dependiente de la Dirección de Protección Sanitaria de la Municipalidad del Partido de General Pueyrredón (MGP), y el ZP se han venido desarrollando estudios para conocer el grado de contaminación ambiental por parásitos en caninos ingresados al CMZ, plazas, calles, aceras, areneros de plazas y de jardines de infantes y en playas de la ciudad, encontrando altas prevalencias de parásitos (entre el 34% y el 83%). Se comprobó que la carga parasitaria en los caninos depende de las condiciones higiénico-sanitarias en las que estos viven, situación que está relacionada con la realidad socio-económica de la población humana. Las altas prevalencias de areneros de jardines de infantes contaminados sumado a que las especies parasitarias halladas son zoonóticas, indican que existe un riesgo potencial de índole sanitario para la población, especialmente para los niños que concurren a los jardines de infantes. Por otro lado, los resultados obtenidos en el relevamiento en playas de la ciudad de Mar del Plata sugieren la necesidad de implementar campañas de educación para la tenencia responsable de mascotas y la recolección diaria de las heces en las playas estudiadas. En base a estos resultados y en función de los lineamientos estratégicos del Grupo hemos desarrollado dos (2) proyectos de Extensión ("*Promoción y Prevención en salud de las Enteroparasitosis Pediátricas en un barrio con Necesidades Básicas Insatisfechas de la ciudad de Mar del Plata*") y ("*Las zoonosis y las mascotas en el Barrio Libertad*") y uno (1) de Voluntariado Universitario financiado por el Ministerio de Educación a través de la Secretaria de Políticas Universitarias ("*Promoción en salud y prevención de las zoonosis parasitarias en barrios con NBI de Mar del Plata*").

Desde el año 2008 se está llevando a cabo el Proyecto: "*Portadores asintomáticos de quistes hidatídicos: detección precoz a través de ultrasonografía en la población rural escolar del partido de Gral. Pueyrredón, provincia de Buenos Aires*". Este proyecto cuenta con la colaboración desde el punto de vista médico de la Fundación Médica de Mar del Plata, fue aprobado por el Consejo Institucional de Revisión de Estudios de Investigación (CIREI) del Hospital Privado de Comunidad de Mar del Plata y cuenta con el aval de la Jefatura de Gestión Estatal de Región N° 19, Dirección General de Cultura y Educación, pcia. Buenos Aires. Se ha trabajado hasta el momento en seis escuelas rurales del partido, se evaluaron por ultrasonografía un total de 743 niños, entre los



cuales sólo se detectó a una niña portadora de una imagen compatible con quiste. Esta es la primera vez que se realiza una acción de este tipo en el partido debido a que el mismo no se encuentra bajo actividades programáticas de control.

#### **Líneas actuales de investigación incluyendo sus responsables y participantes**

Las líneas actuales de investigación del Grupo en ZP son continuación de las que se vienen desarrollando y se ha incorporado recientemente los estudios biológicos y epidemiológicos de la hidatidosis-echinococcosis en animales silvestres.

- **Quimioterapia experimental de la hidatidosis-echinococcosis: estudios *in vitro*, *in vivo* y cultivo celular**

**Responsable:** Dra. María Celina Elissondo

**Integrantes:** A. Cumino; C. Albani, M. Maggiore, P. Pensel

- **Estudios bioquímicos-moleculares**

**Responsable:** Dra. Andrea Cumino

**Integrantes:** MC. Elissondo; M. Fugassa; MC Nicolao

- **Análisis proteómico de *E. granulosus***

**Responsable:** Dra. Marcela Dopchiz

**Integrantes:** Débora Nercessián, Patricia González, Nora Pierangelli (U. Comahue)

- **Estudios de cepas/ genotipos de *E. granulosus* y otras especies del género en hospedadores domésticos y silvestres**

**Responsable:** Dra. Maria Vanesa Andresiuk

**Integrantes:** Vet. Natalia Scioscia

**Expertos que colaboran:** F. Ponce Gordo (España); U. Saarma (Estonia); A. D' Alessandro (Prof. Emérito Univ. de Tulane, USA)

- **Estudios biológico-epidemiológicos de la hidatidosis-echinococcosis silvestre**

**Responsable:** Vet. N. Scioscia

**Integrantes:** MV. Andresiuk

**Expertos que colaboran:** A. D' Alessandro (Prof. Emérito Univ. de Tulane, USA)

- **Condiciones socio-ambientales y contaminación parasitaria en niños y ambiente en barrios periféricos de Mar del Plata (Partido de General Pueyrredón).**

**Responsable:** M. Dopchiz

**Integrantes:** M. Fugassa, M.E. Lasta, P. Hollmann; C. Lavallen; K. Bravo, P. González.

- **Portadores asintomáticos de quistes hidatídicos: detección precoz a través de ultrasonografía en población rural escolar del partido de Gral. Pueyrredón, Buenos Aires, Argentina**

**Responsable:** Elissondo C

**Integrantes:** Maggiore M, Palazzo A, Statti M, Dopchiz M, Rae E, Pensel P, Correa A, Albani C, Lavallen C, Albanese.