

EFICÁCIA E TOLERÂNCIA DO NITROFURFURILIDENE (1) NA FASE CRÔNICA DA MOLÉSTIA DE CHAGAS

Newton Neves da Silva **, Gisebel Kuhn **, João Francisco Cardoso dos Santos ****
Günther Von Eye ***** e João Aioisio Braga Chaher *****

Foram seleccionados 25 pacientes chagásicos crônicos que apresentavam sorologia positiva e elevada parasitemia.

A 15 deles, durante 120 dias, foi ministrado o Nitrofurfurilidene na dose diária de 8 a 10 mg por quilo de peso. Aos 10 restantes deu-se placebo. No trans e pós-tratamento não se verificaram alterações nas funções hepática, hematopoiética ou renal de caráter iatrogênico. Xenodiagnóstico e provas sorológicas foram realizadas mensalmente. O xenodiagnóstico, nos 15 doentes tratados, aos 60º dias da fase trans-terapêutica, mostrou-se negativo e assim se manteve durante 4 anos, período de tempo que durou a nossa observação. Quanto às reações sorodiagnósticas o mesmo não ocorreu, embora a partir dos 12 meses do término do tratamento o grupo que recebeu a droga tenha passado a apresentar níveis mais baixos de anticorpos.

Os A.A. comentam o desacordo entre os achados do xenodiagnóstico e os das provas sorológicas e sugerem uma hipótese para justificá-lo. Concluem que, embora com menos evidência do que nas formas agudas, o Nitrofurfurilidene revela certa eficácia na fase crônica da infecção chagásica.

INTRODUÇÃO

Até agora restrita à América Latina, onde, segundo Rassi & Ferreira (15), existem sete milhões de pessoas infectadas, a Moléstia de Chagas tem vários aspectos à espera de solução, a começar pelo tratamento específico.

Dentre as substâncias ensaiadas, tanto na infecção humana como na doença animal experimental, os nitrofuranos foram aquelas que mais esperanças trouxeram aos pesquisadores e, por isso, neles foram concentrados os maiores esforços no sen-

tido de resolver o importante problema da terapêutica específica dessa tripanosomiase.

O grupo dos nitrofuranos compreende substâncias dotadas de variada atividade antimicrobiana, algumas com acentuada ação tripanosomicida. Um histórico da evolução dos estudos referentes a essas drogas frente ao *Trypanosoma cruzi* encontra-se nos trabalhos de Coura & Rodrigues da Silva (10), Marra (13) e Brener (4).

Rock et alii (1) numa série de experimentos mostraram que o Nitrofurfurilidene age "in vivo" contra as formas tripomas-

* Trabalho realizado no Instituto de Pesquisas Biológicas da Secretaria da Saúde, no Departamento de Parasitologia e Microbiologia do Instituto de Biociências da U.F.R.G.S. e no Hospital Psiquiátrico São Pedro de Porto Alegre.

** Do Instituto de Pesquisas Biológicas do Rio Grande do Sul

*** Do Departamento de Parasitologia e Microbiologia do Instituto de Biociências da U.F.R.G.S.

**** Do Hospital Psiquiátrico São Pedro de Porto Alegre.

***** Do Instituto Nacional de Previdência Nacional.

(1) O NITROFURFURILIDENE, designado provisoriamente Bay 2502, foi sintetizado por HERLINGER, MEYER E PETERSON, pesquisadores da Farbenfabriken Bayer AG, Alemanha Ocidental.

tigotas e amastigotas do *Trypanosoma cruzi*.

Com base nos trabalhos de Ferreira et alii (11), Cerisola et alii (7), Tourres (18) e Rassi & Ferreira (15), essa droga administrada a pacientes de forma aguda, mostrou resultados altamente favoráveis.

No que se refere à fase crônica da infecção chagásica, os trabalhos publicados ainda não permitem uma tomada de posição. Em que pesem as naturais dificuldades que seriam encontradas, programamos este estudo com o objetivo de avaliar a eficácia e tolerância do Nitrofurfurilidene nessa fase da infecção chagásica.

MATERIAL E MÉTODOS

1 — Tipo de paciente

No Hospital Psiquiátrico São Pedro de Porto Alegre, Brasil, foram selecionados 25 doentes mentais crônicos, com idade compreendida entre 23 e 52 anos, do sexo masculino, que apresentavam as reações de fixação de complemento, hemoaglutinação e imunofluorescência simultaneamente positivas, além de parasitemia elevada e persistente detectada pelo xenodiagnóstico.

O exame clínico não revelou outra patologia evidente além da doença mental. Todos estavam assintomáticos com relação à Moléstia de Chagas e internados há mais de 4 anos. Visto que no local não há triatomíneos, consideramos tais pacientes como chagásicos crônicos. Durante todo o período do nosso estudo permaneceram internados no hospital, afastando, assim, a possibilidade de reinfeção.

2 — Exames de controle

Afora o clínico, foi realizado o eletrocardiográfico como também, antes, durante e depois do tratamento, os seguintes testes laboratoriais: hemograma, prova de função hepática (bilirrubina, transaminases, Hanger e timol), hemossedimentação e exame comum de urina, os quais na fase trans-terapêutica foram efetuados mensalmente.

A pesagem dos doentes foi feita a cada 15 dias até o término do tratamento e, a seguir, mensalmente.

3 — Sorologia

As amostras de sangue foram coletadas mensalmente com os pacientes em jejum. O próprio tubo de coleta foi centrifugado e o soro dividido em 2 porções de 1 ml. Os soros foram liofilizados em aparelho Repp e mantidos em atmosfera de nitrogênio. Depois de fechados com tampa de alumínio e rotulados, os frascos foram conservados no freezer a -20°C .

Um frasco de cada amostra foi enviado para o Instituto "Mário Fatalla Chaben", de Buenos Aires, e outro examinado em Porto Alegre. As provas sorológicas foram feitas com o mesmo antígeno e pelo mesmo técnico ao fim do nosso estudo, com exceção das amostras de sangue coletadas após 4 anos do início do tratamento, cujos exames foram realizados só em Porto Alegre e, evidentemente, com outra partida de antígeno.

A *Reação de fixação do complemento* foi realizada somente quando da seleção dos pacientes e o foi, conforme a técnica descrita por Cerisola & Rosenbaum (9).

A *Reação de hemoaglutinação* foi praticada, conforme a técnica de Boyden (2) e modificações propostas por Cerisola & Lazari (8) sendo cada amostra de soro testada nas diluições de 1:2 até 1:128.

A *Reação de imunofluorescência* foi executada conforme a técnica recomendada por Camargo (5) e cada soro foi examinado nos títulos de 1:15 até 1:128.

A *Reação de imunofluorescência* foi executada conforme a técnica recomendada por Camargo (5) e cada soro foi examinado nos títulos de 1:15 até 1:960.

4 — Xenodiagnóstico

Na prova xenodiagnóstica adotamos um critério técnico que nos permitisse, além de determinar a positividade ou negatividade, ter uma avaliação semi-quantitativa. Para cada paciente foram utilizados 88 *Triatoma infestans*, contidos em 8 caixas, rotuladas de A a H, cada uma contendo 11 ninfas de 3º ou 4º estágio. Quatro caixas foram colocadas na face externa de cada braço durante 30 minutos. As caixas A, B, C e D foram examinadas em Porto Alegre e as E, F, G, e H o foram em Bue-

nos Aires, após 30, 60 e 90 dias da data de aplicação e dentro da seguinte orientação:

- a) Exonerava-se o conteúdo de cada caixa em um copo, no qual eram contados os triatomíneos, anotado o número de mortos (se houvesse) e desprezadas as capas resultantes de ecdíses.
- b) Em uma placa de porcelana escavada realizavam-se dois "pools" das fezes com salina tamponada (pH 7,2), - cada um oriundo da metade do número de insetos existentes na caixa.
- c) De cada "pool" preparavam-se 2 lâminas, as quais eram examinadas por 2 técnicos distintos. Os casos positivos sempre foram confirmados por mais de 1 técnico. Em Porto Alegre as caixas positivas não eram mais examinadas.

5 — Tratamento

Usamos em nosso estudo, Nitrofurfurilidene em comprimidos sulcados de 120 mg. O placebo, com a mesma cor da droga, era um pouco menor. Os pacientes foram divididos em 2 grupos: Um, de 10 doentes, recebeu o placebo e outro, de 15 pacientes, recebeu a droga.

A dose diária foi de 8 a 10 mg por quilo de peso, em 3 porções ao dia. Incumbimos para tal enfermeiros altamente responsáveis para que tivéssemos certeza de que a droga fosse ministrada na forma correta e precisa. O ajuste da dose em relação ao peso do paciente foi feito quinzenalmente.

A droga foi ministrada durante 120 dias. Esse tratamento prolongado deriva dos trabalhos de Brener (4) que observou que na infecção experimental do camundongo devem ser mantidos níveis elevados, no mínimo, por 60 dias. O prazo de 120 dias foi puramente arbitrário, na presunção de que as formas amastigotas, nesse período, evoluam até as formas tripomastigotas, quando seriam mais suscetíveis ao agente tripanosomicida.

RESULTADOS

1 — Xenodiagnóstico

O xenodiagnóstico praticado dentro do critério técnico atrás descrito mostrou-se

de grande valia na evidenciação do *Trypanosoma cruzi*. Quando da fase de seleção dos pacientes, Lima et alii (12) em um grupo de 50 indivíduos que apresentavam positividade para as 3 reações sorológicas já referidas, obtiveram com a leitura de 30 dias 56% de positivos, valor aumentado para 58% com a de 60 dias.

Mantendo-se essa metodologia, realizamos em nossos doentes 513 exames utilizando um total de 45.056 triatomíneos. Foram efetuados 4 xenodiagnósticos pré-terapêutico, 4 trans-terapêutico e 18 pós-terapêutico.

O quadro 2 mostra os resultados. Nele se nota que o grupo placebo manteve-se positivo durante uma observação de 27 meses enquanto que, o grupo teste, a partir do primeiro mês (com uma exceção) negativou e assim permaneceu até a última leitura, isto é, até 49 meses após o início do tratamento.

2 — Sorologia

Um estudo estatístico dos nossos resultados permitiu a confecção das figuras 2 e 3, nas quais temos a curva sorológica do grupo placebo e do grupo teste, na figura 2 com a imunofluorescência e na 3, com a hemoaglutinação. Ele revela que, dentro dos critérios convencionais, a totalidade dos soros ainda se mostra reagente, embora apresentem flutuações de título através do tempo.

Nota-se que, em torno dos 12 meses do término do tratamento, o grupo que recebeu a droga passa a apresentar níveis mais baixos de anticorpos, os quais são mantidos até a última determinação, quando o título dos imunofluorescentes oscilou entre 1/30 a 1/120 enquanto os hemoaglutinantes de 1/16 a 1/128.

3 — Efeitos colaterais

Cumpra-nos frisar que os 15 pacientes tratados eram também portadores de doença mental crônica e a isso se deve atribuir o fato de que os sintomas e sinais subjetivos, descritos por outros autores tenham sido anotados tão poucas vezes.

O quadro nº 1 reflete a lateralidade registrada. Nele, como também no gráfico da figura 1, observa-se que todos os pacientes perdem peso, em média 12,8%, em-

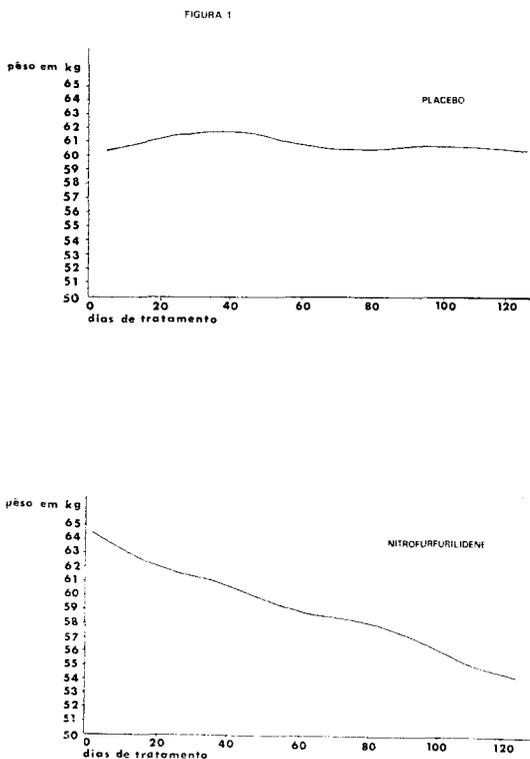


FIGURA 1 — Curva ponderal dos dois grupos estudados.

bora só um terço tenha apresentado hipoxemia. Seis meses após o término do tratamento, todos, com exceção de dois, tinham recuperado o seu peso inicial. Em um dos dois foi verificado, um ano após o encerramento da terapia, ser portador de uma tuberculose pulmonar.

A má tolerância digestiva (náuseas e/ou vômitos) foi anotada em 5 casos.

Entre as alterações neurológicas registramos:

— Vertigens, visão turva, neurite e tremor em um caso; adinamia geral em dois casos; miastenia localizada nas pernas em quatro casos e parestesia em cinco casos. Nestes últimos pacientes o tratamento foi suspenso no dia 94º e reiniciado no dia 106º, com os sintomas desaparecidos.

Não observamos convulsões, embora houvesse no grupo 3 pacientes com passado comicial.

Essas alterações para o lado do sistema nervoso se manifestaram após 3 meses de tratamento. Um paciente apresentou no 56º dia de tratamento uma dermatite alérgica — eritrodermia exfoliativa — com severa repercussão sobre o estado geral, obrigando-nos a suspender o tratamento. Após 3 meses recuperou-se plenamente.

4 — Anatomopatologia

Os pacientes, em número de 4, que faleceram no decurso de nosso estudo foram necropsiados não tendo sido encontradas lesões que pudessem ser imputadas à medicação. O exame microscópico não revelou focos de formas amastigotas.

5 — Exames de controle

A prova eletrocardiográfica realizada em todos os pacientes revelou em apenas um alterações compatíveis com miocardite

chagásica. Quanto aos testes laboratoriais, não acusaram nenhuma modificação das funções hepáticas, hematopoiética e renal.

No que diz respeito às alterações ponderais tivemos oportunidade de referir quando abordamos os efeitos colaterais.

COMENTÁRIOS

Na fase crônica da Moléstia de Chagas, são inexpressivos os sintomas e sinais clínicos de infecção. Quanto aos demais que forem observados, devem ser relacionadas às afecções resultantes e, por conseguinte, não se pode esperar alterações neles em consequência do tratamento específico.

Mesmo na sua forma aguda, o quadro clínico tem muito pouco valor na avaliação da eficácia de uma terapêutica etiológica, pois na maioria dos casos os sintomas regredem espontaneamente, dentro de semanas ou meses ainda que na ausência de qualquer tratamento.

Uma análise dos trabalhos de Cerisola et alii (7 e 8), Tourres (18) e Rassi & Ferreira (15) mostra que nas provas sorológicas os casos agudos tratados com esquemas adequados de Nitrofurilidene negativam em cerca de 80%. Quanto à fase crônica da infecção chagásica, o único trabalho que apresenta um estudo sorológico bem conduzido é o de Schenone et alii (17), os quais, usando a Reação de Fixação do Complemento e a Reação de Hemoaglutinação, verificaram que tais provas permaneciam positivas após 10 meses da conclusão do tratamento, notando somente uma diminuição do título. Os resultados da sorologia dos nossos pacientes concordam com os referidos acima, isto é, todos os soros — após 4 anos do término do tratamento — ainda se mostram reagentes, embora se observe uma queda nos títulos, tanto na Reação de Imunofluorescência como na Reação de Hemoaglutinação. Schenone et alii (17) fazem o seguinte comentário a propósito de tal observação: "La persistencia de anticuerpos inmunodiagnósticos (RCF y RHA positivas) conjuntamente con la ausencia aparente del antígeno representado por el *T. cruzi*, permitiría suponer que estamos en presencia de una situación similar a la que ocurre en sífilis y otras infecciones crónicas tales como el pian o frambesia, en las cuales la serología permanece positiva después de un tratami-

ento considerado adecuado (Medina, 1959)" e terminam afirmando que "La serología no constituiría un criterio adecuado para evaluar la efectividad de un tratamiento en la infección chagásica crónica." Com o que não concordam Cançado et alii (6) quando, após uma série de ponderáveis argumentos, concluem: "Embora não se tenha ainda estabelecido o critério de cura da doença de Chagas, é de crer-se que, curada a doença, o xenodiagnóstico e as reações sorológicas deverão negatizar-se."

De tudo isso, o que resta de real e de efetivamente intrigante é o desencontro entre os achados do xenodiagnóstico e os das provas sorológicas.

A extinção definitiva, pelo menos em aparência, da parasitemia sugeriria o estabelecimento de uma "sterilisatia magna", isto é, a total eliminação do parasita. Mas tal conclusão contrastaria com a generalizada positividade das provas sorológicas, permanecendo por um período tão prolongado.

A outra suposição cabível e talvez mais válida é a de que o parasita, num novo estado de equilíbrio com o hospedeiro, ainda permaneça sob formas amastigotas em número reduzido, condicionando passagens tão discretas para a forma hemocirculante que se tornaria indetectável pelo xenodiagnóstico, prova esta de sensibilidade sabidamente baixa (58% segundo nossa experiência, obtida por método semelhante e não menos sensível que o preconizado por Schenone et alii (17)).

PRINCIPAIS CONSTATAÇÕES

1 — Com o nitrofurilidene administrado a 15 pacientes na fase crônica da infecção chagásica, na dose diária de 8-10 miligramas por quilo de peso, durante 120 dias obteve-se a negatificação da prova de xenodiagnóstico, em 100% dos casos.

2 — Em todos eles, a parasitemia estava desaparecida aos 60 dias de tratamento e ainda se mantinha ausente 4 anos após, prazo esse que não deixa de ser significativo.

3 — Os exames sorológicos quantitativos revelaram que todos os soros ainda se mostram reagentes, observando-se, porém, um declínio dos anticorpos nos pacientes tratados, em comparação com o grupo placebo.

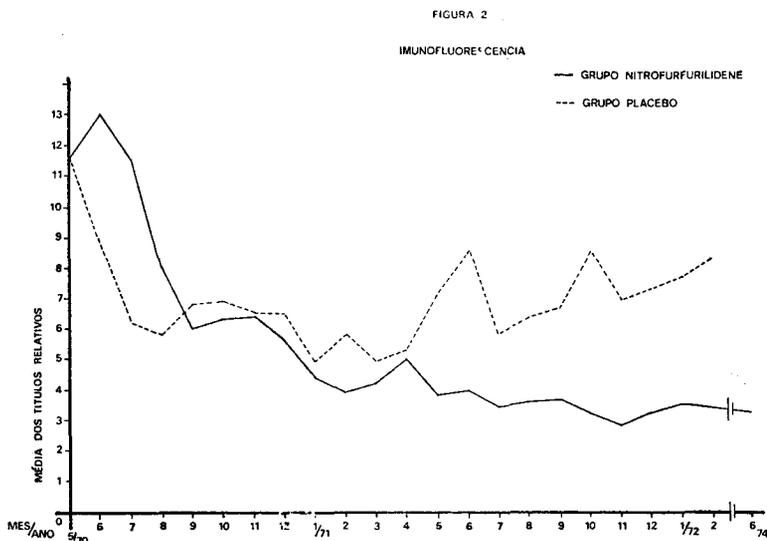


FIGURA 2 — Curva da média dos títulos relativos dos anticorpos imunofluorescentes.

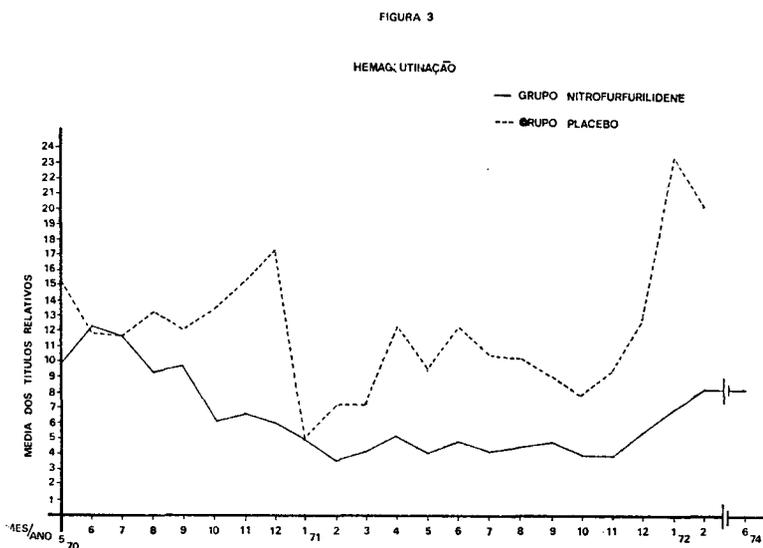


FIGURA 3 — Curva da média dos títulos relativos dos anticorpos hemaglutinantes.

4 — Os efeitos colaterais, que se mostraram reversíveis quando da interrupção do tratamento, mais presentes foram:

— perda de peso, hiporexia, má tolerância digestiva (náuseas e/ou vômitos), salientando-se entre as alterações neurológicas — miastenia de membros inferiores e parestesia, cumprindo-nos ainda destacar um caso severo de eritrodermia exfoliativa.

Notamos que, o aparecimento dos parafeitos neurológicos guardam relação direta com o tempo de ministração da droga.

5 — Em virtude da negatização dos xenodiagnósticos após 60 dias de terapêutica e pelo fato dos efeitos colaterais mais graves (neurológicos) terem se manifestado em torno do 90º dia está indicada uma nova pesquisa por um período mais curto de tratamento (45-60 dias) ** com a finalidade de determinar o tempo ideal de ministração da droga.

CONCLUSÕES

1 — Persistência da positividade das provas sorológicas ao lado da persistência da negatividade do xenodiagnóstico por um período de 4 anos após o início do

tratamento, trouxe-nos certa dificuldade na avaliação definitiva da eficácia do *Nitrofurfurilidene* na fase crônica da infecção chagásica, pois em termos de ausência de parasitas a droga seria altamente eficaz, porém, em termos de presença de anticorpos os resultados não seriam tão brilhantes.

2 — A ação do *Nitrofurfurilidene*, inquestionavelmente plena na forma aguda da infecção e aparentemente parcial na forma crônica, deixa fora de dúvida seu caráter específico. Isso basta para recomendar a realização de novas pesquisas. Primeiro para esclarecer definitivamente os resultados do tratamento nas formas crônicas, segundo, para, no caso de êxitos parciais, se poder partir para novas manuseios com a droga até que se obtenham resultados tão satisfatórios quanto os que se verificam na forma aguda.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao corpo técnico do Instituto de Diagnóstico e Investigación de la Enfermedad de Chagas "Dr. Mário Fatala Chaben" de Buenos Aires e à Bayer pela ajuda proporcionada para a realização do presente trabalho.

S U M M A R Y

Twenty five patients with chronic Chagas' disease were selected presenting positive serology and high parasitaemia. A group of fifteen patients was treated with Nitrofurfurilidene during 120 days with daily doses of 8-10 mg per kg of body weight. The remaining group of ten individuals received only placebo.

Yatrogenic alteration of liver, hematopoesis or kidney were not observed during or after treatment.

Xenodiagnosis of the experimental 15 patient group was negative at the 60th day of treatment and remained so up to 5 years that the observation lasted.

Regarding the serum diagnosis the behaviour was not alike eventhough the experimental group presented lower levels of antibodies after the 12th month of the treatment.

The authors discuss the disagreement between the xenodiagnosis and serologic results and offer an hypothesis to justify it. They conclude that Nitrofurfurilidene has some efficiency in the chronic phase of Chagas' disease although less evident than in the acute form.

** Tal ensaio, contando com a mesma equipe de trabalho, acha-se em fase de conclusão.

EXPERIÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 — BOCK, M., CÖNNERT, R. & HABERKORN, A. — Studies with Bay 2502 on animals. Bol. Chil. Parasit. 24: 13-19, 1969.
- 2 — BOYDEN, S. V. — The absorption of protein on erythrocytes treated with tannic acid and subsequent hemagglutination by anti-proteinsera. J. Exp. Med. 93: 107-120, 1951.
- 3 — BRANT, T. C., LARANJA, F. S., BUSTAMANTE, F. M. & MELO, A. L. — Dados sorológicos e eletrocardiográficos obtidos em população não selecionada de zonas endêmicas de Doenças de Chagas no Estado do Rio Grande do Sul. R. Bras. Mal. Doe. Trop. 9: 141-148, 1957.
- 4 — BRENER, Z. — Atividade terapêutica do 5 — nitro-furaldeído-semi-carbazona (nitrofurazona) em esquemas de duração prolongada na infecção experimental do camundongo pelo *Trypanosoma cruzi*. Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo, 3: 43-49, 1961.
- 5 — CAMARGO, M. E. — Fluorescent antibody test for the serodiagnosis of American Trypanosomiasis. Technical modification involving preserved culture forms of *Trypanosoma cruzi* in a slide test. Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo, 8: 227-234, 1966.
- 6 — CANCELADO, J. R., MARRA, U. D., MOURÃO, O. G., ALVARES, J. M., OLIVEIRA, J. P. M., MACHADO, J. R. & SALGADO, A. A. — Bases para avaliação do tratamento específico da Doença de Chagas Humana segundo a parasitemia. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 7: 155-166, 1973.
- 7 — CERISOLA, J. A., ALVARES, M. & DE RASSI, A. M. — Imunodiagnóstico da Doença de Chagas. Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo, 12: 403-411, 1970.
- 8 — CERISOLA, J. A. & LAZZARI, J. — Resultados obtenidos con el test hemaglutinacion para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas. Proc. VII Inter. Congr. Trop. Med. Malar. 2: 252-253, 1963.
- 9 — CERISOLA, J. A. & ROSENBAUM, M. B. — La reacion de fijacion del complemento para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas. Prensa Med. Argent., 45: 1454-1463, 1968.
- 10 — COURA, J. R. & SILVA, J. R. — Aspectos atuais do tratamento da Doença de Chagas. Arq. Bras. Med., 51: 283-290, 1961.
- 11 — FERREIRA, H. O., PRATA, A. & RASSI, A. — Administração prolongada de nitrofurazona no tratamento da Doença de Chagas aguda. Hospital, 63: 1391-1396, 1963.
- 12 — LIMA, D. F., SILVA, N. N., SANTOS, J. F. C., ZINGANO, A. G., FROES, O. M. & CHAER, J. A. B. — Resultado parcial do xenodiagnóstico realizado em um grupo de pacientes serologicamente positivos para a Doença de Chagas e internados no Hospital São Pedro (de alienados) em Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 4: 367-370, 1970.
- 13 — MARRA, U. D. — Ensáio terapêutico clínico com a Nitrofurazona e a Levofuraltadona na forma crônica da Doença de Chagas. Tese, Belo Horizonte, Imprensa da Univ. de Minas Gerais, publ. nº 350, 1965, cap. I, pp. 1726.
- 14 — RASSI, A. — Atualização terapêutica da Doença de Chagas e critério de avaliação de cura. J. Bras. Med., 10: 531-535, 1966.
- 15 — RASSI, A. — & FERREIRA, H. O. — Tentativas de tratamento específico da fase aguda da Doença de Chagas com nitrofuranos em esquemas de duração prolongada. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 5: 149-262, 1971.
- 16 — SCHENONE, H., ALFARO, E., BEYES, H. & TAUCHER, E. — Valor del xenodiagnóstico en la infección chagásica crônica. Bol. Chil. Parasit., 23: 149-154, 1968.
- 17 — SCHENONE, H., CONCHA, L., ARANDA, R., ROJAS, A. & ALFARO, E. — Experiência terapêutica com el BAY 2502 en la infección chagásica crônica del adulto. Importancia del uso adecuado del xenodiagnóstico. Bol. Chil. Parasit., 24: 66-69, 1969.
- 18 — TOUPRES, C. L. B. — La enfermedad de Chagas en período agudo y su tratamiento con el BAY 2502. Bol. Chil. Parasit. 24: 24-27, 1969.