

NOVO PROCESSO PARA TRIAGEM DE MEDICAMENTOS NA INFECÇÃO EXPERIMENTAL PELO *Trypanosoma cruzi*

Rubens CAMPOS (1), Vicente AMATO NETO (2), Hertha Barbara Wüllert Telles de SOUZA (1) &
Lucia Maria Almeida BRAZ (1)

RESUMO

É proposto processo para a triagem da capacidade terapêutica de medicamentos na infecção experimental pelo *Trypanosoma cruzi*. O método tem base no emprego de triatomíneos parasitados que se alimentam, decorridos períodos diferentes para haver compatibilização com níveis sanguíneos, em camundongos aos quais foi administrado o fármaco sob apreciação; assim, o tubo digestivo do hemíptero participará como estrutura propícia à avaliação.

Em observação inicial, ocorreu utilização do benzonidazol, que se mostrou apenas parcialmente ativo, pelo menos de acordo com a maneira de execução do novo procedimento.

UNITERMOS: *Trypanosoma cruzi*; Infecção experimental; Tratamento; Triagem de medicamentos.

INTRODUÇÃO

O estágio atual da terapêutica da doença de Chagas não atingiu ainda uma situação ideal, onde os recursos disponíveis na prática cotidiana, representados essencialmente pelo uso do benzonidazol e do nifurtimox, não permitem atingirem-se resultados plenamente satisfatórios, principalmente na fase crônica da infecção. Desta forma, ensaios destinados a selecionar novos princípios medicamentosos ativos contra o agente causal, são plenamente justificáveis.

Para se avaliar a atividade de um fármaco sobre o *Trypanosoma cruzi*, os diferentes procedimentos técnicos têm como princípio básico colocar a substância testada em contato com o protozoário. Constituem exemplos de tais métodos as culturas com meios artificiais apropriados ou de tecidos e a especulação terapêutica em animais experimentalmente infectados¹⁻⁵.

No primeiro caso, a intenção é evidenciar principalmente a ação nas formas epimastigotas; no segundo, o objetivo corresponde a observar a atuação referente aos elementos amastigotas e, quanto ao último, mais usado justamente por imitar sob certos aspectos a parasitemia humana, deseja-se verificar o comportamento da droga em estudo na fase de tripomastigotas sangüícolas e, eventualmente, durante a etapa de comprometimento celular. Convém frisar, porém, que nem sempre os resultados obtidos, mediante emprego de um ou de todos os três processos, são perfeitamente superponíveis ao que sucede em indivíduos com doença de Chagas.

Existem na literatura comunicações relativas ao fato de que determinados medicamentos, dados a seres humanos ou animais, depois de absorvidos alcançam elevados níveis na circulação, aí permanecendo no decurso de algum tempo e, se em tal

Trabalho do Laboratório de Investigação Médica - Parasitologia, do Hospital das Clínicas, da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

(1) Membro de Laboratório.

(2) Chefe do Laboratório.

Endereço para correspondência: Rubens Campos. Laboratório de Investigação Médica - Parasitologia. Avenida Dr. Amaldo, 455. CEP 01246 São Paulo, SP, Brasil.

período, o sangue for ingerido por artrópodes hematófagos, nestes haverá possibilidade de manifestar-se influência do composto. A respeito, encontram-se verificações concernentes ao cotrimoxazol³ e à ivermectina².

A proposta de novo sistema experimental para "screening" de substâncias antitripanossomos, agora informada, junta observações acima descritas, pois consiste em estabelecer, em animais, teor sanguíneo do fármaco, que após será ingerido por triatomíneos infectados; se ele possuir capacidade tripanossomicida, o tubo digestivo do inseto deverá, portanto, ficar livre do parasita.

MATERIAL E MÉTODOS

Ninfas de *Triatoma infestans*, do quarto estágio e criadas em laboratório, sugaram camundongos com infecção pela cepa Y do *T. cruzi*. Após 20 dias, selecionamos 60 que tinham formas flageladas nas fezes e compusemos Grupos e subdivisões adiante especificados.

- Grupo A: 50 triatomíneos; subdivisões A2, A3, A4, A6 e A24: dez insetos em cada uma, para sucção em camundongos não infectados, que haviam recebido, respectivamente, duas, três, quatro, seis e 24 horas antes 500 mg/kg de benzonidazol ("Rochagan - Produtos Roche Químicos e Farmacêuticos S/A"), por via oral, em água destilada e através de sonda gástrica. Demos essa dose, única, com fundamento em conhecimentos atinentes ao composto, para atingir concentração conveniente, sem o objetivo de tratar os animais⁴.

- Grupo B: dez triatomíneos que não receberam o benzonidazol; controle da infecção.

Um outro conjunto ficou também composto, de acordo com o esclarecimento a seguir consignado.

- Grupo C: 25 triatomíneos sem o *T. cruzi*; subdivisões C2, C3, C4, C6 e C24: cinco insetos em cada uma, para sucção em camundongos não infectados, que haviam recebido o benzonidazol, imitando-se o praticado relativamente ao Grupo A; controle do medicamento.

Treze dias depois da aplicação do antiparasitário teve lugar procura do *T. cruzi* nas

fezes dos agrupados em A e B, mantendo-se constante observação das condições vitais a respeito do conjunto C. Decorrido um mês, os hemípteros de A e B, sacrificados, possibilitaram dissecação e análise do conteúdo intestinal, ficando rotulados como positivos os com tripanossomos af.

RESULTADOS

Dos 50 triatomíneos do Grupo A, que sugaram camundongos com possíveis níveis sanguíneos de benzonidazol, ao exame após 13 dias 21 estavam positivos (Tabela 1). A procura do *T. cruzi* mais completa e definitiva, com dissecação do tubo digestivo, no trigésimo-dia, confirmou essa constatação. A observação do número, permite confrontar a positividade em relação ao momento em que os "barbeiros" alimentaram-se, depois da ingestão do medicamento pelos roedores, e sugere presumível maior quantidade do fármaco alcançada de quatro até seis horas, uma vez que, quanto aos insetos correspondentes a esses períodos, as cifras tradutoras de negatividades ficaram algo maiores. Por seu turno, o antiparasitário não exerceu ação danosa sobre os hemípteros, pois entre os 25 do Grupo C apenas dois morreram.

Todos os triatomíneos do grupo B continuaram infectados.

TABELA 1

Trypanosoma cruzi nas fezes e no conteúdo intestinal de triatomíneos alimentados em camundongos, após 2, 3, 4, 6 e 24 horas do tratamento com benzonidazol

CAMUNDONGOS	TRIAMOMÍNEOS					
	FEZES			CONTEÚDO INTESTINAL		
	Positivos	Negativos	Mortos	Positivos	Negativos	Mortos
A ₂	6	4	0	6	3	1
A ₃	5	5	0	9	1	0
A ₄	3	7	0	5	4	1
A ₆	4	6	0	5	5	0
A ₂₄	3	7	0	8	2	0

DISCUSSÃO

Os modelos experimentais destinados à identificação de novos recursos terapêuticos dotados de atividades sobre o *T. cruzi* não são, até agora, os

ideais. Por meio deles, quase sempre somente podemos deduzir que determinada substância demonstra alguma ação, mas os resultados não se superpõem aos comprovados no tratamento de doentes. Há necessidade, portanto, de outras investigações, para encontro de táticas mais eficientes. Por isso, idealizamos o procedimento que estamos relatando, baseado no emprego de triatomíneos intencionalmente infectados pelo *T. cruzi*.

Essa proposta derivou de dois fatos fundamentais:

a) o aparelho digestivo desses hemípteros comporta-se-i-a como tubo de ensaio e meio adequado à sobrevivência e multiplicação do protozoário; b) a constatação de que o cotrimoxazol e a ivermectina agem curativamente em infestações por artrópodes hematófagos, devendo o remédio atingi-los por intermédio do sangue do hospedeiro.

A execução da técnica que idealizamos é fácil e viável em qualquer laboratório de Parasitologia. O primeiro medicamento escolhido para certo teste foi o benzonidazol, considerado possuidor de eficácia à infecção, pelo *T. cruzi*, de animais ou de seres humanos, atuando mormente nas formas tripomastigotas.

De acordo com o processo que sugerimos, o composto em apreço mostrou-se parcialmente ativo, desde que não eliminou o parasita do tubo digestivo da totalidade dos insetos infectados. Essa constatação permite pelo menos duas interpretações: ou a droga realmente não tem a propriedade que se afirma ou nossa proposição experimental não é plenamente satisfatória. Não obstante, investigações suplementares, com a participação de diferentes pesquisadores e uso de outras medicações sob avaliação constituem a maneira de formar juízo acerca da metodologia que projetamos.

SUMMARY

Proposal of a new process for screening of drugs in experimental infection with *Trypanosoma cruzi*.

We propose a screening process for detection of therapeutic activity of drugs against experimental infection with *Trypanosoma cruzi*. It is based on the use of infected tryatominae that are fed on mice which have received the study drug. Blood meals are made at different time schedule in order to adapt with serum drug levels. The digestive tube of the hemiptera will, thus, work as a suitable structure for examination.

In a initial observation, benzonidazole was used, and was shown to be only partially active at least in the conditions of this new procedure.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BRENER, Z. & ANDRADE, Z. A. - *Trypanosoma cruzi* e doença de Chagas. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1979.
2. CAMPBELL, W. C. & BENZ, G. W. - Ivermectin a review of efficacy and safety. J. vet. Pharmacol. Ther., 7: 1-16, 1984.
3. CAMPOS, R.; MOREIRA, A. A. B.; CASTILHO, V. L. P.; AMATO NETO, V.; FRANÇA, I. L. & MONTEIRO, C. J. A. - Cura da pediculose da cabeça por meio do cotrimoxazol administrado pela via oral. Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo, 23: 28-30, 1981.
4. CANÇADO, J. R. & CHUSTER, N. - *Cardiopatia chagásica*. Belo Horizonte, Fundação Carlos Chagas, 1985.
5. PESSÓA, S. B. - *Parasitologia médica*. 11ª ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1988.

Recebido para publicação em 06/11/1990
Aceito para publicação em 23/05/1991