

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Avaliação da Atividade Esquistossomicida do 3-(4-clorobenzil)-5-(4-nitrobenzilideno)-imidazolidina-2,4-diona (FZ-4) e do Praziquantel frente ao *Schistosoma mansoni* (cepa BH)

POLLIANA GUABIRABA E SILVA

RECIFE – 2006

POLLIANA GUABIRABA E SILVA

Avaliação da Atividade Esquistossomicida do 3-(4-clorobenzil)-5-(4-nitrobenzilideno)-imidazolidina-2,4-diona (FZ-4) e do Praziquantel frente ao *Schistosoma mansoni* (cepa BH)

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Ciências Biológicas, na área de concentração de Farmacologia, Fisiologia e Química Medicinal.

Orientadoras:

Prof^a Dr^a Suely Lins Galdino

Prof^a Dr^a Mônica Camelo Pessoa Azevedo Albuquerque

RECIFE – 2006

Silva, Polliana Guabiraba e

Avaliação da atividade esquistossomicida do 3 - (4-clorobenzil)-5-(4-nitrobenzilideno)-imidazolidina-2,4-diona (FZ-4) e do Praziquantel frente a *Schistosoma mansoni* (cepa BH). / Polliana Guabiraba e Silva. – Recife : O Autor, 2006.

65 folhas. il., fig.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCB. Ciências Biológicas – Farmacologia, Fisiologia e Química Medicinal 2006.

Inclui bibliografia.

**1. *Schistosoma mansoni*. 2. Praziquantel. 3. Atividade in vivo
4. Imidazolidina I. Título.**

616.995.122

CDU (2.ed.)

UFPE

616.9

CDD (22.ed.)

CCB 071

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

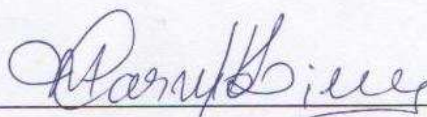
Dissertação de mestrado a ser defendida no dia 09 de Outubro de 2006 perante a Banca

Examinadora constituída pelos seguintes professores:



Profª Drª Suely Lins Galdino

Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco



Profª Drª Maria do Carmo Alves de Lima

Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco



Profª Drª Paloma Lys de Medeiros

Departamento de Histologia e Embriologia da Universidade Federal de Pernambuco

DEDICO A

Meus pais

José Guabiraba da Silva

E Irenise Cordeiro e Silva

Meu pai

João de Siqueira Cavalcanti

Meu pai

João de Siqueira Cavalcanti

DEDICO À

Meus pais
José Guabiraba da Silva
e Irenise Cordeiro e Silva

Meu marido Alexandre de Siqueira Cavalcanti
e meu filho Arthur Guabiraba Cavalcanti

AGRADECIMENTOS

A Deus, que me deu forças para enfrentar todas as dificuldades, com a certeza de que sem a sua ajuda não teria chegado ao final.

A meus pais, José Guabiraba e Irenise Cordeiro sempre presentes em minha vida, obrigada, pelo apoio, paciência, carinho e cuidados com o netinho;

A meu marido Alexandre, por acreditar em mim, incentivando para que fosse possível a concretização de mais uma etapa, obrigada pelo amor e dedicação e compreensão pelos momentos de ausência;

A meus irmãos Lidiane Guabiraba e Waldiney Guabiraba, pela ajuda e apoio;

A Orientadora Professora Mônica C.P.A. Albuquerque por toda a compreensão, apoio, amizade, orientação e dedicação;

A Orientadora Professora Suely Lins Galdino, pela oportunidade de trabalhar neste projeto;

A Professora Maria do Carmo Alves de Lima, do Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármaco, do Departamento de Antibióticos da UFPE, pelo incentivo e esclarecimentos nos momentos de dúvidas;

Ao Professor Ivan da Rocha Pitta, do Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos, do Departamento de Antibióticos da UFPE, pela colaboração;

Ao Professor João Inácio Irmão, responsável pelo moluscário da Disciplina de Parasitologia do Departamento de Medicina Tropical, pelo fornecimento dos moluscos;

As Professoras Eliete Cavalcanti da Silva e Paloma Lys de Medeiros, do Departamento de Histologia e Embriologia da UFPE, pela colaboração e apoio no desenvolvimento das análises histopatológicas;

As amigas, Juliana Kelle, Andréa Apolinário pelos momentos agradáveis que passamos juntas e em especial a Hirlla Carla Amorim e Fernanda Andrade Cesar, pela grande ajuda ao longo do experimento, vocês foram fundamentais para a conclusão desse trabalho;

Aos amigos do Setor de Imunologia, do LIKA, Conceição Gomes, Renata Ramos, Narjara, Patrícia Alves, obrigada, pela força e incentivo;

As Professoras, Valdênia Maria, Vláudia Costa e Elisabeth Malagueño pelo apoio concedido ao longo de nossa convivência no LIKA;

Aos amigos, que sempre estiveram presentes ajudando de uma forma ou de outra: Duschinka Guedes, Flaviana Carvalho, Aíla Karla, Marcelo Henrique, Daniela Viana, Merilane Calixto;

Aos funcionários do biotério do LIKA, Maria Helena Madruga e Luiz Felipe Viegas;

A Adenilda Eugênia, pela dedicação, competência, carinho e paciência;

A todos que colaboraram de forma direta ou indiretamente na concretização deste trabalho.

Meus sinceros agradecimentos.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	I
LISTA DE FIGURAS.....	II
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	V
RESUMO.....	VI
ABSTRACT.....	VII
1. INTRODUÇÃO	32
2. OBJETIVOS	36
2.1. GERAL	36
2.2. ESPECÍFICOS	36
3. REVISÃO DA LITERATURA	38
3.1. ESQUISTOSSOMOSE MANSONI	38
3.1.1. DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA E EPIDEMIOLOGIA.....	38
3.1.2. MORFOLOGIA DO <i>SCHISTOSOMA MANSONI</i>	41
3.1.3. CICLO BIOLÓGICO DO <i>SCHISTOSOMA MANSONI</i>	46
3.1.4. PATOGENIA DA ESQUISTOSSOMOSE MANSONI.....	49
3.1.4.1. GRANULOMA.....	52
3.2. DIAGNÓSTICO	55
3.3. CONTROLE DA ESQUISTOSSOMOSE	57
3.3.1. TRATAMENTO E RESISTÊNCIA.....	58
4. IMIDAZOLIDINAS	64
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	68
6. ARTIGO	78
7. CONCLUSÕES.....	99
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	100

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Atividade esquistossomicida de diferentes doses do Praziquantel contra *Schistosoma mansoni* cepa BH em camundongos após 15 dias do término do tratamento.87

Tabela 2: Média de ovos de *Schistosoma mansoni* nos diferentes estágios em fragmentos do jejuno de camundongos, sacrificados após 15 dias do término do tratamento com Praziquantel em diferentes doses durante 5 dias consecutivos.....89

Tabela 3: Atividade esquistossomicida de diferentes dose do FZ-4 contra *Schistosoma mansoni* cepa BH em camundongos após 15 dias do término do tratamento.....56

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Distribuição geográfica da esquistossomose mansoni no Brasil (REY, 2001).40
- Figura 2:** Distribuição da esquistossomose mansoni em Pernambuco (GGVS/LABEND/ESQ, 2001).....41
- Figura 3:** Segmento anterior do corpo do macho (A) e da fêmea (B) de *S. mansoni*, mostrando os principais órgãos: *a*, ventosa ventral; *b*, porção anterior do intestino; *c*, ventosa ventral (acetábulo); *d*, vesícula seminal; *e*, canal deferente; *f*, testículos; *g*, porção média bifurcada; *h*, ceco; *i*, orifício genital feminino; *j*, útero contendo dois ovos; *k*, oótipo; *m*, ovário; *n*, viteloduto; *o*, glândulas vitelinas ou vitelogênicas (REY, 2001).42
- Figura 4:** Representação esquemática do ovo (A) e miracídio (B); *tb-terebratorium*; Gp – glândulas de penetração; Ga – glândulas adesivas; Cf- células flamas; Te – túbulos excretorios; Pe – poro excretor (REY, 2001; NEVES, 2000).43
- Figura 5:** Esporocisto I, 549x. (OHLWEILER, 2001).44
- Figura 6:** Cercária Vo – ventosa oral; Po - poro oral; Dgp – ductos das glândulas de penetração; C – ceco; Gp – glândulas de penetração; Vv – ventosa ventral; Pg – primórdio genital (NEVES, 2000).....45
- Figura 7:** Esquistossômulo (HAAS E SCHMIDT, 1982).45
- Figura 8:** Casal de *S. mansoni* em cópula mostrando a extremidade anterior da fêmea alojada no canal ginecóforo do macho, cujo segmento anterior, exibe as ventosas oral e ventral (ENVIRONMENTAL BIOLOGY, 2006).....46

Figura 9 : Ciclo Biológico do <i>Schistosoma mansoni</i> (WIKIPÉDIA, 2006).....	48
Figura 10: Dermatite cercaria (DERMIS, 2006).	49
Figura 11: Estrutura Química do Niridazol e dos Derivados Imidazolidínicos.....	30
Figura 12: Estrutura Química do composto 3-(4-clorobenzil)-5-(4-nitrobenzilideno)-imidazolidina-2,4-diona - FZ-4.....	66
Figura 13: 3-(4-clorobenzil)-5-(4-flúorbenzilideno)-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona.....	66
Figura 14: Curva dose resposta do Praziquantel frente a cepa de <i>S. mansoni</i> , usando o software prisma (GRAPHPAD).	88
Figura 15 : Número de ovos por grama de fezes nos diferentes grupos – tratados (PZQ) e controle	89
Figura 16: Fotomicrografias de granulomas esquistossomóticos em camundongos tratados com PZQ. A) granuloma ativado observado no fígado, HE (100x), B) granuloma com restos de um ovo no centro, envolto por células epitelióides (setas) e infiltrado linfocitário (asterisco), TM (400x).....	90
Figura 17: Fotomicrografias da mucosa intestinal de camundongos tratados com PZQ e controles. A) tratados mostrando nódulos linfáticos (N) ativados em região de submucosa intestinal. (100x), B) controle com granulomas invadindo as camadas intestinais, especialmente a submucosa (M) e a serosa (S) (100x).....	91

Figura 18 : Média de ovos de *Schistosoma mansoni* nos diferentes estádios em fragmentos do jejuno de camundongos, sacrificados após 15 dias do término do tratamento com FZ-4 em diferentes doses durante 5 dias consecutivos. * $p < 0,05$93

Figura 19: Número de ovos por grama de fezes (método de Kato Katz) nos grupos controle e tratados com FZ-4.95

Figura 20: Fotomicrografias de granulomas hepático em camundongos tratados com FZ-4. A) dose de 100mg/kg, TM (200x). B) dose de 50mg/kg. (G) intensa reação granulomatosa em torno do resto de um ovo no parênquima hepático. TM (200x).96

Figura 21: Fotomicrografia da mucosa intestinal de camundongos tratados com FZ-4 (100 mg/kg). (N) nódulo linfático ativado em região de submucosa intestinal (100x).97

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BH	Belo Horizonte
ED ₅₀	Dose Efetiva 50 %
FZ-4	Derivado imidazolidínico 3-(4-clorobenzil)-5-(4-nitrobenzilideno)-imidazolidina-2,4-diona
GPIT	Grupo de Pesquisa e Inovação Terapêutica
HSCs	Células Satélites Hepáticas
IL-4	Interleucina 4
IL-5	Interleucina 5
IL-10	Interleucina 10
IL-13	Interleucina 13
IFN- γ	Interferon gama
LIKA	Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami
LPSF	Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármaco
OXA	Oxamniquine
PZQ	Praziquantel
pH	potencial hidrogeniônico
SEA	Antígeno Solúvel do Ovo
TGF- β	Fator beta transformação de crescimento
Th1	Linfócitos T auxiliar do tipo 1
Th2	Linfócitos T auxiliar do tipo 2
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral alfa
WHO	World Health Organization (Organização Mundial de Saúde)
μm	micrômetro

RESUMO

O insucesso surgido na terapia da esquistossomose com o praziquantel, vem acenando para uma necessidade de se buscar novas drogas para o tratamento desta doença bem como a de se monitorar sua atividade frente cepas de *Schistosoma*. O objetivo deste trabalho foi de avaliar a atividade esquistossomicida *in vivo* do Praziquantel (PZQ) e do derivado imidazolidínico 3-(4-clorobenzil)-5-(4-nitrobenzilideno)-imidazolidina-2,4-diona (FZ-4). Foram utilizados nove grupos de camundongos Swiss, com seis animais cada, que foram infectados experimentalmente com 80 cercárias de *S. mansoni* (cepa BH), e tratados por via oral durante cinco dias consecutivos com PZQ nas doses de 25, 50, 100 e 200 mg/Kg e com FZ-4 nas doses de 25, 50 e 100 mg/Kg, 50 dias após a infecção. Um grupo controle foi utilizado para o PZQ e outro para o FZ-4. O praziquantel mostrou-se eficaz em reduzir a carga parasitária dos animais infectados, com redução de 100 % nas doses de 100 e 200mg/Kg. A ED₅₀ calculada foi de 14,75mg/Kg demonstrando que a cepa BH de *S. mansoni* utilizada foi sensível ao Praziquantel. O FZ-4 nas doses utilizadas não mostrou ser capaz de reduzir o número de vermes nem alterar o oograma nos animais infectados, todavia na dose de 25mg/Kg apresentou significativo aumento no número de ovos inviáveis com $p < 0,05$. Também foi capaz de reduzir o número de ovos por grama de fezes quando analisados no sexto e décimo quarto dias após o término do tratamento. A análise histopatológica indicou que o FZ-4 promoveu redução das áreas de fibrose e proteção da mucosa intestinal da reação granulomatosa, ativando nódulos linfáticos locais. na dose de 100mg/Kg. Em conclusão a atividade esquistossomicida do praziquantel foi evidenciada, mas não foi com o FZ-4, contudo este tenha reduzido o número de ovos do parasito nas fezes.

Palavras-chaves: *Schistosoma mansoni*, Praziquantel, atividade *in vivo*, imidazolidinas

ABSTRACT

Failures, faced in schistosomiasis treatment with praziquantel, are signing to the necessity to search new drugs to the treatment of this disease as well as monitoring its activity against strains of *Schistosoma*. The objective of the present work is to evaluate the schistossomicide activity in vivo of the Praziquantel (PZQ) and the imidazolidine derived 3-(4-chlorobenzyl)-5-(4-nitrobenzylidene)-imidazolidin-2,4-dione (FZ-4). It was used nine groups of Swiss lab rats with six animals each group, infected experimentally with 80 *S. mansoni* parasites (BH strain), and treated orally during five days with 25, 50 e 100 mg/Kg, 50 days after the infection. A control group was used to the PZQ and another to the FZ-4. The praziquantel showed to be efficient in reducing the parasite load in infected animals, reducing in 100% on doses of 100 and 200mg/Kg. The calculated ED₅₀ was 14,75mg/Kg, demonstrating that the BH strain of *S. mansoni* was sensible to Praziquantel. The FZ-4, in doses used in the present study, did not show capable of reducing the number of verms nor either alter the oogram in infected animals, however, with the 25mg/Kg dose showed a significant raise in the number of eggs per fezes grams, when analyzed in the sixth and fourteenth day after the end of the treatment. The histopatologic analysis indicated that the FZ-4 reduced the areas of fibrosis and protection of the intestinal mucosa in the granulomatous reaction, activating local linfatic nodules with the 100mg/Kg dosis. Concluding the present study, the activity against *S. mansoni* was observed, but no activity was observed when FZ-4 was used, however parasite eggs reduction in fezes was observed.

Keywords: *Schistosoma mansoni*, Praziquantel, *in vivo* activity, imidazolidines.

1. INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

A esquistossomose é uma endemia, causada pelo helminto Trematoda do gênero *Schistosoma*. No Brasil, a doença é popularmente conhecida como “xistose”, “barriga d’água” ou “mal do caramujo”.

Cinco espécies do gênero *Schistosoma* são responsáveis por afetar o homem: *Schistosoma mansoni* ocorre na África, Antilhas e América Latina; *S. haematobium* é o único agente da esquistossomose vesical ou hematúria do Egito, encontrado em grande parte da África e Oriente Próximo e Médio; *S. japonicum*, abrange a China, Japão, Filipinas e sudeste asiático; *S. intercalatum* ocorre no interior da África Central e *S. mekongi* é encontrado no vale do rio Mekong, no Camboja.

Acredita-se que a chegada do *Schistosoma* nas Américas tenha ocorrido com o tráfico de escravos africanos e através dos imigrantes asiáticos, mas apenas o *S. mansoni* aqui se fixou, pois foi o único que encontrou o hospedeiro intermediário susceptível e condições ambientais semelhantes às da região de origem (NEVES et al., 2000).

Os hospedeiros intermediários do *Schistosoma mansoni* são moluscos pulmonados de água doce, hermafroditas, pertencentes à família *Planorbidae*, caracterizada por ter a concha enrolada em espiral plana e, por essa razão, conhecidos por planorbídeos. Das várias espécies de moluscos existentes em nosso meio e capazes de se infectarem com o *S. mansoni*, três são encontrados com maior frequência: *Biomphalaria glabrata*, *B. straminea* e *B. tenagophila* (MALAGUEÑO e SANTANA, 1994).

Dados da Organização Mundial de Saúde demonstram que 200 milhões de pessoas estão infectadas com *Schistosoma* no mundo, entre as quais 20 milhões desenvolvem a forma grave da doença, estando nas áreas endêmicas aproximadamente 600 milhões de

pessoas em situação de risco de infecção (WHO, 2002a). No Brasil a endemia é observada numa ampla faixa, que compreende desde a região Norte até a região Sul, sendo o Nordeste a região com prevalência mais elevada. Os Estados de Alagoas e Pernambuco representam os maiores índices da doença, 43,3% e 15,2% ,respectivamente (KANO, 1992).

Os indivíduos infectados podem apresentar desde manifestações benignas como urticária, podendo não apresentar o quadro agudo característico da doença, até formas graves, como hepatoesplenomegalia, varizes esofagianas, que podem romper-se e levar o indivíduo a morte (GAZZINELLI et al., 2002).

O tratamento quimioterápico recomendado pela Organização Mundial de Saúde (WHO, 2002a) está representado pelo praziquantel, droga de primeira escolha no tratamento da doença, quando provocada por todas as espécies de *Schistosoma*, e pelo oxamniquine, fármaco de segunda escolha, mas indicado apenas nas infecções provocadas pelo *S. mansoni*. A ausência de medidas eficazes de controle como saneamento básico e educação sanitária posiciona o praziquantel como ferramenta principal para amenizar a expansão da doença. Embora disponha deste fármaco considerado seguro e eficaz, os índices de prevalência da esquistossomose vêm sendo mantidos há décadas. A resposta a este efeito paradoxal é atribuída a dois fatores predominantes: primeiro, à migração de pessoas infectadas, as quais são responsabilizadas pela expansão geográfica da doença, favorecendo, não só a sua manutenção, mas também o aparecimento de focos urbanos, perfil que vem caracterizando a esquistossomose mansoni aguda no Brasil e segundo o surgimento de cepas de *Schistosoma* praziquantel-resistentes, fruto de uma constante pressão da droga em tratamentos clínicos e profiláticos.

Diante disso a esquistossomose cada vez mais, depara-se com a necessidade de se pesquisar novos fármacos além de se monitorar a resposta do parasito ao praziquantel.

2. OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

2.1. Geral

Identificar novos fármacos com atividade esquistossomicida.

2.2. Específicos

- Avaliar a susceptibilidade *in vivo* do *Schistosoma mansoni* (cepa BH) frente ao praziquantel.
- Determinar a susceptibilidade *in vivo* do *Schistosoma mansoni* frente ao derivado imidazolidínico: 3-(4-clorobenzil)-5-(4-nitrobenzilideno)-imidazolidina-2,4-diona (FZ-4).
- Analisar as alterações histopatológicas do fígado e intestino dos animais tratados como Praziquantel e FZ-4.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1. Esquistossomose mansoni

3.1.1. Distribuição Geográfica e Epidemiologia

Em termo socioeconômico e de importância para a Saúde Pública em áreas tropicais e subtropicais, a esquistossomose perde apenas para a malária, dentre todas as parasitoses humanas. A doença é endêmica em 74 países, acometendo mais de 200 milhões de pessoas em zona rural e periférica das cidades, onde 20 milhões de pessoas sofrem consequências severas da doença e 120 milhões são sintomáticos. Dentre as pessoas infectadas com esquistossomose 85 % vivem na África. A Organização Mundial de Saúde estima que aproximadamente 500-600 milhões de pessoas estejam em regiões endêmicas em situação de risco (WHO, 2002a).

Atualmente, o *S. japonicum* é encontrado apenas na China, Indonésia e Filipinas. *Schistosoma mekongi* aparece na região da bacia do rio Mekongi e em áreas do Laos e Camboja. O *Schistosoma haematobium* é endêmico em 52 países na África e Mediterrâneo. O *Schistosoma mansoni*, ocorre em 53 países na África e Leste do Mediterrâneo, Caribe, é a única espécie presente na América do Sul; o *S.mansoni* e *S. haematobium*, juntos acometem cerca de 40 países. O *Schistosoma intercalatum* está presente em 6 países da África Central; (WHO, 2006).

A distribuição geográfica da doença e distribuição dos caramujos transmissores mostra uma estreita relação entre a presença de média e alta endemicidade e a presença do caramujo do gênero *Biomphalaria* (REY, 2002).

O *Biomphalaria glabrata* é o vetor mais importante, encontrado nos Estados de Alagoas, Bahia, Distrito Federal, Espírito Santo, Goiás, Maranhão, Minas Gerais, Pará, Paraíba, Paraná, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Norte, Rio Grande do Sul, Rio de Janeiro, São Paulo e Sergipe. O *Biomphalaria tenagophila* é freqüente nos Estados de Alagoas, Bahia, Distrito Federal, Espírito Santo, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Paraná, Rio Grande do Sul, Rio de Janeiro, São Paulo, Santa Catarina e Sergipe. O *B. straminea* tem distribuição mais extensa, ocorre nos Estados do Acre, Alagoas, Amazonas, Bahia, Distrito Federal, Ceará, Espírito Santo, Goiás, Maranhão, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Pará, Paraíba, Paraná, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Norte, Rio Grande do Sul, Rio de Janeiro, São Paulo, Santa Catarina, Sergipe e Tocantins (FUNASA, 2002).

No Brasil, estima-se que haja de 8 a 10 milhões de pessoas infectadas, e cerca de 30 milhões expostos ao risco (FERRARI, 2003). Abrange 19 estados, ocorrendo de forma endêmica e focal desde o estado do Maranhão até Minas Gerais, com certa penetração no estado do Espírito Santo, apresentam-se como focos isolados nos Estados do Pará, Piauí, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Santa Catarina, Goiás, Distrito Federal e Rio Grande do Sul. As principais causas de óbito por esquistossomose estão relacionadas às formas clínicas graves. A letalidade é baixa. Apesar de subestimada, a mortalidade por *Schistosoma mansoni* no Brasil, em 1995, foi calculada em 0,35 por 100.000 habitantes. Tem sido observado um declínio nessas taxas, que passaram de 0,67, em 1977, para 0,35, em 1995. (FUNASA, 2003).

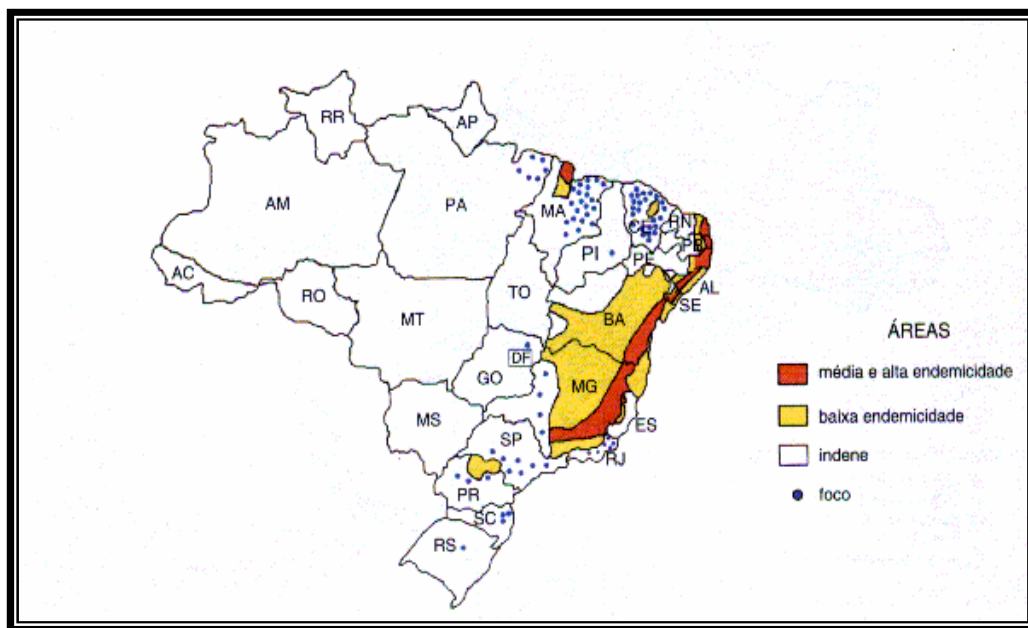


Figura 1: Distribuição geográfica da esquistossomose mansoni no Brasil (REY, 2001).

No Estado de Pernambuco, a esquistossomose é historicamente endêmica na região rural, porém a migração de trabalhadores rurais, aliada à gradual ocupação e modificação dos espaços urbanos, tem determinado a contínua expansão da esquistossomose, estabelecendo novos focos urbanos e sucessivos relatos de casos agudos da doença, provocando uma mudança no perfil epidemiológico. Em áreas rurais, a esquistossomose se apresenta predominantemente sob a forma crônica, incidindo na classe social de baixa renda e tendo como vetor o *Biomphalaria straminea*. No litoral, a doença é representada por casos agudos em pessoas de classes média e alta, sendo o vetor a *Biomphalaria glabrata* (BARBOSA et al., 2001).

A grave situação da esquistossomose mansoni nas áreas de maior endemicidade está associada a fatores sócio-demográficos e/ou comportamentais, os quais também estão implicados no fracasso do tratamento quimioterápico (MOZA et al., 1998; BARBOSA e GOUVEIA, 2000). Em Pernambuco, a área endêmica ocupa 79 dos 167 municípios do

estado, dos quais 55 estão na zona Litoral-Mata e 24 no Agreste (figura 2) (FAVRE et al., 2001).

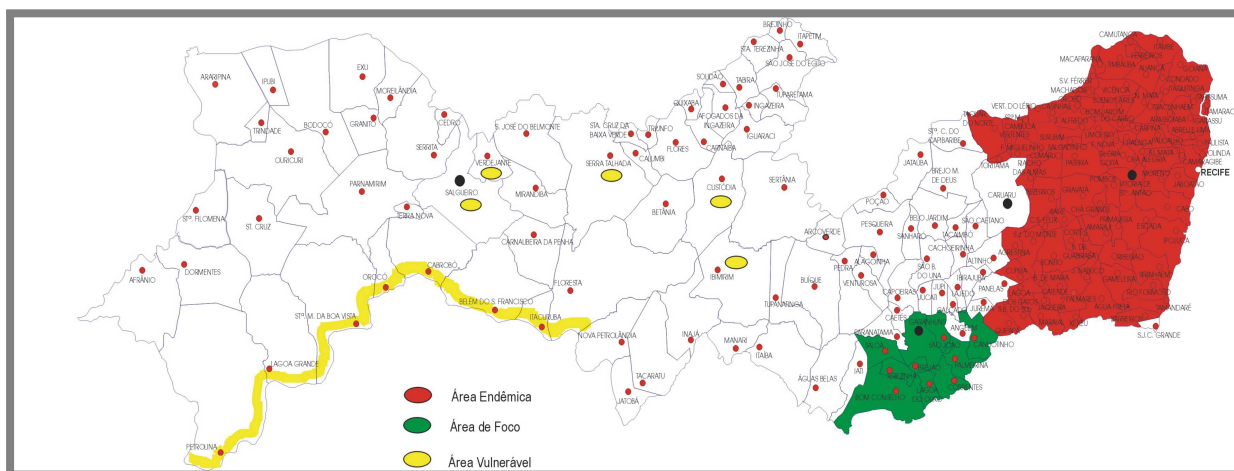


Figura 2: Distribuição da esquistossomose mansoni em Pernambuco (GGVS/LABEND/ESQ, 2001).

3.1.2. Morfologia do *Schistosoma mansoni*

Durante o ciclo biológico o *Schistosoma mansoni* assume formas distintas. De acordo com REY (2001) e NEVES (2005) as formas evolutivas são assim descritas:

1. **Verme Adulto Macho** (figura 3-A) possui cerca de 1 cm de comprimento, apresenta cor esbranquiçada e tegumento recoberto por tubérculos. A porção anterior é cilíndrica, mostrando duas ventosas, uma oral e outra ventral também denominada acetábulo. Logo abaixo a ventosa oral inicia-se o esôfago, este se bifurca na altura do acetábulo e, quando alcança o terço médio do corpo, uni-se formando um único ceco. A porção posterior é achatada, nela se encontra o canal ginecóforo, que consiste em dobras longitudinais, cuja função é albergar a fêmea para fecundá-la, não possui órgão copulador, o aparelho genital consiste em sete a nove massas testiculares, um único canal deferente e a vesícula seminal, que se abre diretamente no canal ginecóforo.

2. **Verme Adulto Fêmea** (figura 3-B) tem corpo cilíndrico, mede cerca de 1,5 cm, é mais escura que o macho devido a presença de sangue semi digerido no ceco e seu tegumento é liso. Na porção anterior também são encontradas as ventosas oral e ventral (acetábulo). Seguindo o acetábulo, encontra-se a vulva, útero (com 1 a 2 ovos) e o ovário, na porção posterior se encontra o ceco e as glândulas vitelinas ou vitelogênicas, compreendendo cerca de dois terços do corpo do parasito.

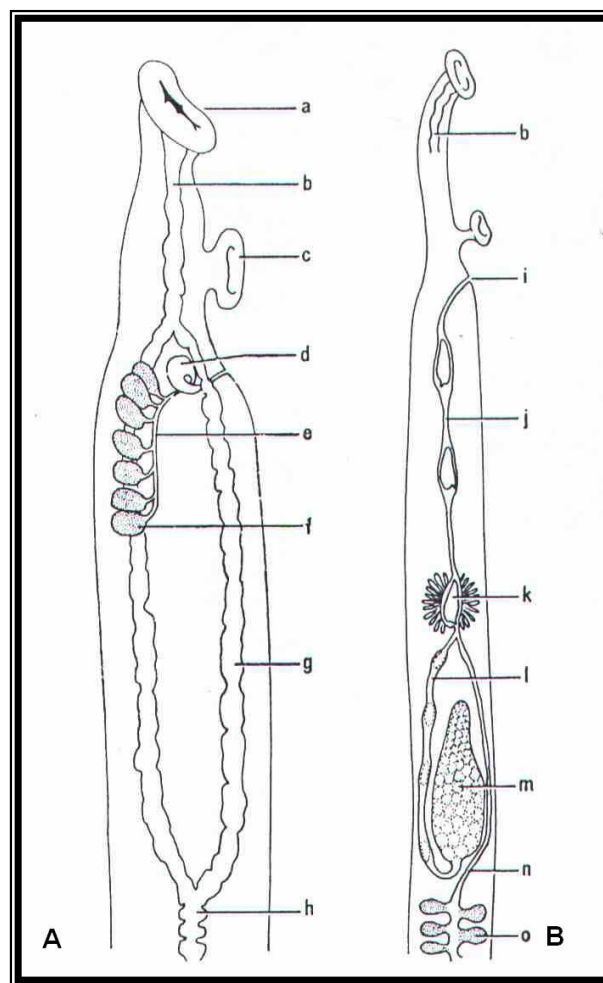


Figura 3: Segmento anterior do corpo do macho (A) e da Fêmea (B) de *Schistosoma mansoni*, mostrando os principais órgãos: a, ventosa ventral; b, porção anterior do intestino; c, ventosa ventral (acetábulo); d, vesícula seminal; e, canal deferente; f, testículos; g, porção média bifurcada; h, ceco; i, orifício genital feminino; j, útero contendo dois ovos; k, oótipo; m, ovário; n, viteloduto; o, glândulas vitelinas ou vitelogênicas (REY, 2001).

3. **Ovo** (Figura 4-A) mede cerca de 150 μm de comprimento e aproximadamente 60 μm de largura, possui formato oval e na parte mais larga apresenta um espículo voltado para trás. O ovo maduro (forma usualmente encontrada nas fezes) caracteriza-se por possuir no seu interior o miracídio formado.

4. **Miracídio** (Figura 4-B) é uma larva ciliada que apresenta em média 180 μm de comprimento e 64 μm de largura. Possui células epidérmicas, onde se implantam os cílios, os quais permitem o movimento na água. A extremidade anterior apresenta o terebratorium, onde são encontradas as terminações das glândulas adesivas e de penetração e também as terminações nervosas, um conjunto de cílios maiores e espículos anteriores. Possui células germinativas, em número de 50 a 100.

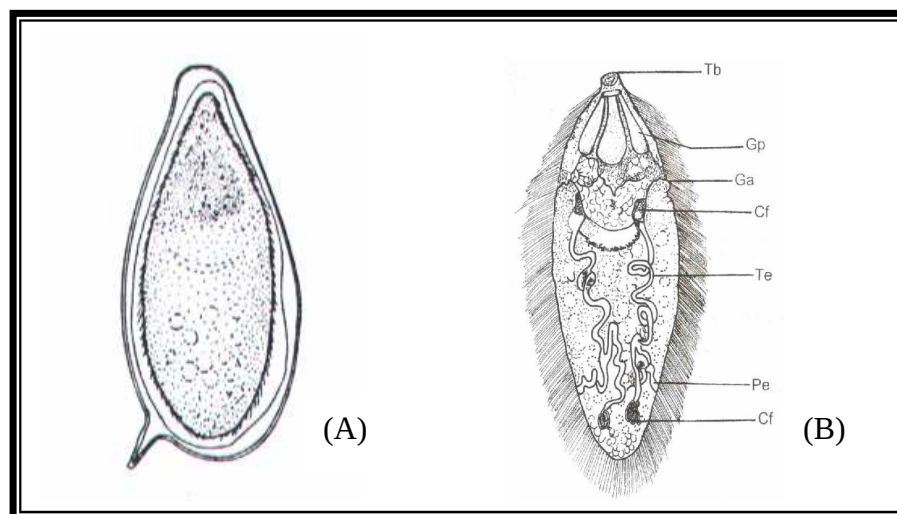


Figura 4: Representação esquemática do ovo (A) e Miracídio (B); Tb-terebratorium; Gp – Glândulas de penetração; Ga – Glândulas adesivas; Cf- células flamas; Te – túbulos excretores; Pe – poro excretor (REY, 2001; NEVES, 2000).

5. **Esporocistos** (figura 5) apresenta uma estrutura amorfa com paredes cuticulares, contendo a geração das células germinativas. Surgem como resultado da penetração do miracídio no caramujo.

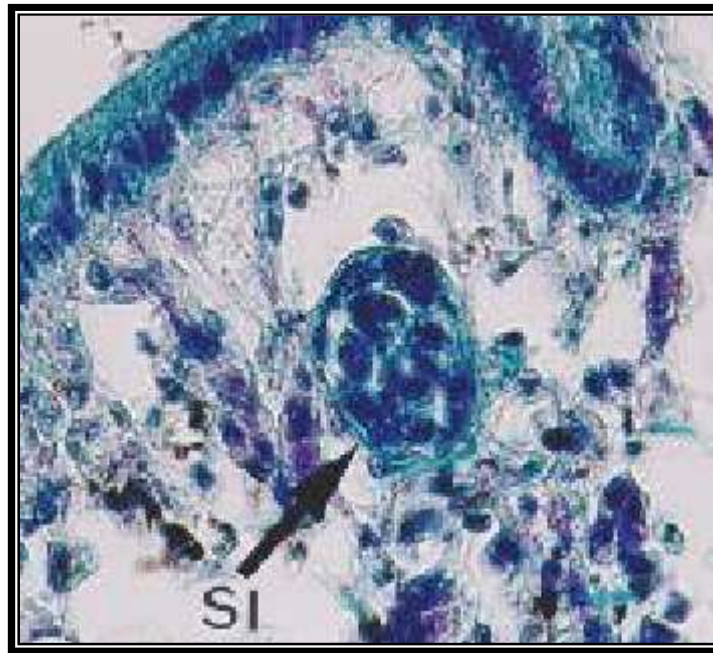


Figura 5: Esporocisto I, 549x. (OHLWEILER, 2001).

6. **Cercárias** (figura 6) é a forma evolutiva infectante para o hospedeiro definitivo.

As cercárias são compostas por um corpo cercariano e uma cauda bifurcada, o corpo cercariano encontra-se uma ventosa oral e outra ventral (ou acetábulo). A ventosa oral apresenta as terminações das glândulas de penetração e a ventosa ventral é maior e possui musculatura mais desenvolvida, através da mesma é que a cercária se fixa na pele do hospedeiro, no processo de penetração, há também no corpo cercariano, estruturas primordiais do ceco e aparelho reprodutor. A cauda bifurcada serve para a movimentação da larva no meio aquático.

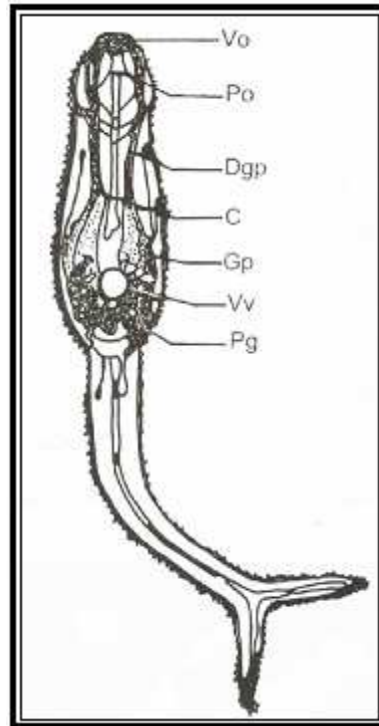


Figura 6: Cercaria Vo – ventosa oral; Po - poro oral; Dgp – ductos das glândulas de penetração; C – ceco; Gp – Glândulas de penetração; Vv – ventosa ventral; Pg – primórdio genital (NEVES, 2000).

7. **Esquistossômulos** (figura 7) são larvas resultante da penetração do corpo cercariano no tecido do hospedeiro definitivo, adaptam-se às condições fisiológicas do meio interno, entram na corrente sanguínea, posteriormente chegam ao sistema porta intra-hepático, desenvolvendo-se até chegar à fase de vermes adultos de ambos os sexos.

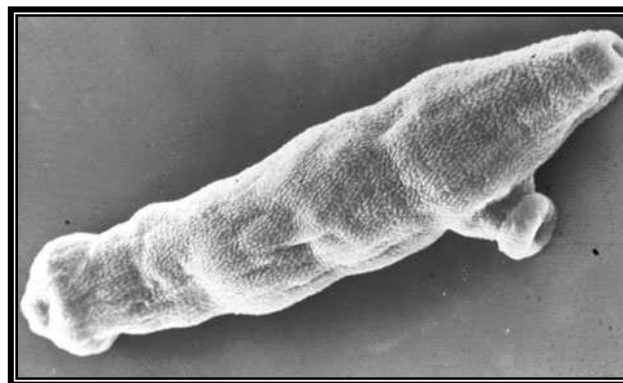


Figura 7: Esquistossômulo (HAAS e SCHMIDT, 1982).

3.1.3. Ciclo biológico do *Schistosoma mansoni*

O *S. mansoni* desenvolve um ciclo evolutivo do tipo heteroxênico, com passagem de formas evolutivas em dois hospedeiros: um definitivo, o homem ou alguns vertebrados, onde se processa a reprodução sexuada, e outro, o hospedeiro intermediário, molusco do gênero *Biomphalaria*, no qual se observa a reprodução assexuada. O meio aquático é um ambiente obrigatório na evolução do parasito e onde são encontradas as formas infectantes para ambos os hospedeiros (PESSÔA e MARTINS, 1977).

No hospedeiro definitivo, os vermes adultos de *S. mansoni* habitam o sistema porta-hepático. Os schistossomos adultos acasalam-se (figura 8) antes da maturação reprodutiva da fêmea, permanecendo nestas condições pelo resto da vida. O completo crescimento da fêmea, a morfogênese reprodutiva, e a manutenção da respectiva função reprodutiva, está na dependência desta associação. O pareamento é também um pré-requisito para migração dos vermes da veia porta-hepática para as veias mesentéricas (POPIEL, 1986).



Figura 8: Casal de *S. mansoni* em cópula mostrando a extremidade anterior da fêmea alojada no canal ginecóforo do macho, cujo segmento anterior, exhibe as ventosas oral e ventral (ENVIRONMENTAL BIOLOGY, 2006).

Ao acasalarem-se, os vermes migram contra a corrente sanguínea para as veias mesentéricas, principalmente a veia mesentérica inferior, onde as fêmeas fazem a postura dos ovos ao nível da submucosa intestinal. Cerca de 400 ovos são postos por dia, mas apenas cerca de 50 % desses atingem o meio externo. A migração dos ovos da submucosa até a luz intestinal é de no mínimo seis dias, tempo necessário para a maturação dos ovos (formação do miracídio). Após 20 dias, se os ovos não alcançarem a luz intestinal, os miracídios morrem (COELHO, 1970).

Os ovos em contato com o meio aquático liberam os miracídios, estes nadam durante horas até encontrar o molusco do gênero *Biomphalaria* (hospedeiro intermediário), o processo de liberação do miracídio é estimulado pelos seguintes fatores: temperaturas mais altas, luz intensa e oxigenação da água (STANDEN, 1952).

Dentre as espécies de moluscos existentes em nosso meio, existem três capazes de se infectarem com o *S. mansoni*, que são encontrados com maior frequência: *Biomphalaria glabrata*, *B. straminea* e *B. tenagophila* (MALAGUEÑO e SANTANA, 1994).

O miracídio entra em contato com o tegumento do molusco e penetra na porção cefálica e podal. O processo de penetração dura entre 10 e 15 minutos. Através da reprodução assexuada, cada miracídio será capaz de gerar de 100 a 300 mil cercárias. As cercárias quando liberadas nadam ativamente, podendo viver por 36 a 48 horas, mas sua maior atividade e capacidade de penetração ocorrem nas primeiras 8 horas (REY, 2001).

Ao alcançar a pele ou as mucosas do hospedeiro definitivo, as cercárias se fixam e com o auxílio das glândulas de penetração e movimentos vibratórios intensos, promovem a penetração do corpo cercariano com concomitantemente perda da cauda, processo que dura de 5 a 15 minutos. Neste instante passam a ser denominada de esquistossômulos, estes migram pelo tecido subcutâneo e, ao penetrarem em um vaso, são levados da pele para os

pulmões, pelo sistema vascular sanguíneo, via coração direito. Depois de uma semana, os esquistossômulos começam a ser localizáveis no sistema porta intra-hepático onde pela primeira vez apresentam pigmento hemático no intestino. Uma vez no sistema porta intra-hepático, os esquistossômulos se alimentam e se desenvolvem transformando-se em vermes adultos 25-28 dias após penetração. Estes migram, acasalados para a veia mesentérica inferior, onde as fêmeas fazem a oviposição. Os ovos começam a aparecer nas fezes após 45 dias da infecção do hospedeiro (figura 9) (NEVES et al., 2005; REY, 2001).

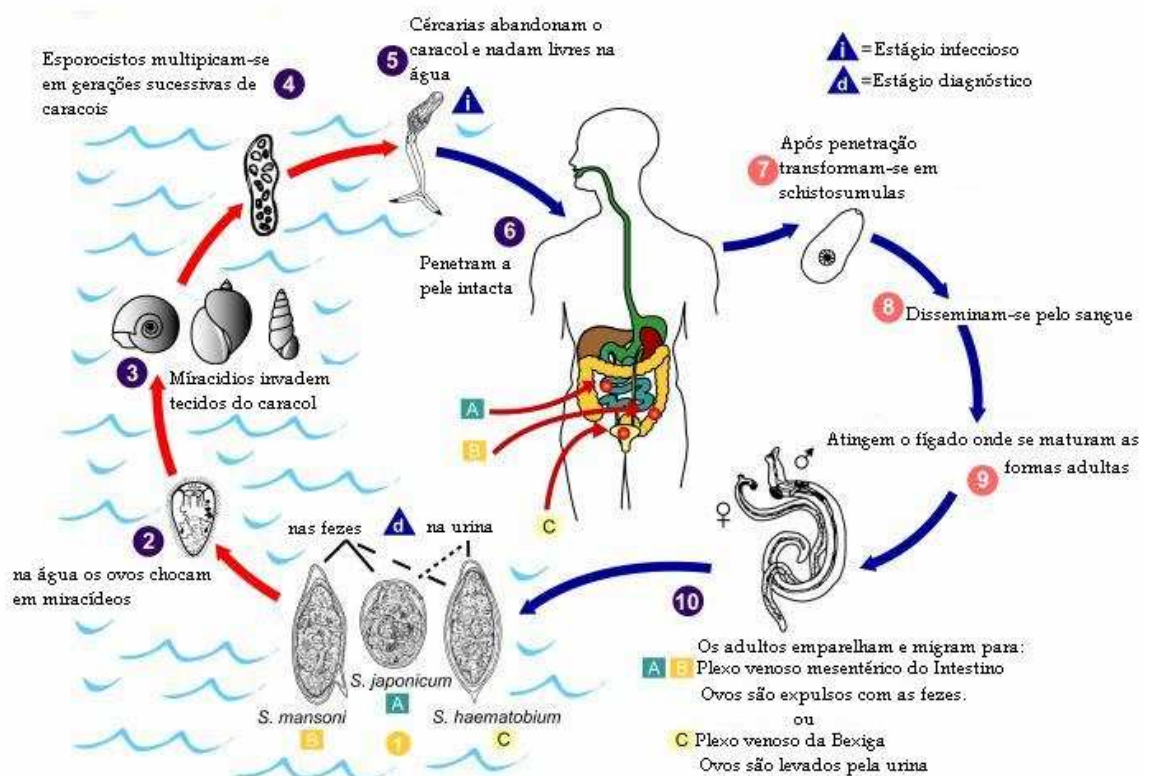


Figura 9 : Ciclo Biológico do *Schistosoma mansoni* (WIKIPÉDIA, 2006).

3.1.4. Patogenia da Esquistossomose mansoni

As lesões que ocorrem no organismo parasitado pelo *Schistosoma mansoni* são decorrentes, tanto da agressão direta do parasito ou de seus elementos, quanto da resposta do hospedeiro a tais agressões (PRATA, 1996).

A cepa do parasito, vitalidade das cercárias, a frequência com que ocorrem as infecções e sua duração, a idade e estado nutricional do hospedeiro, a carga parasitária acumulada ao longo dos anos e a resposta imune do paciente representam fatores importantes na determinação do quadro clínico e evolução do processo patológico provocado pelo *S. mansoni*. A sintomatologia clínica corresponde ao estágio de desenvolvimento do parasito no hospedeiro (REY, 2001; NEVES et al., 2000).

A dermatite cercariana (figura 10) é resultado do processo de penetração das cercárias através da pele do hospedeiro. Varia desde quadro assintomático até sensação de comichão, erupção urticariforme e é seguida de eritema, edema, pequenas pápulas e dor, podendo durar até cinco dias depois da infecção.



Figura 10: Dermatite cercaria (DERMIS, 2006).

Os esquistossômulos durante o processo de migração pela corrente sanguínea até o sistema porta intra-hepático podem provocar linfadenia generalizada, febre, aumento volumétrico do baço e sintomas pulmonares (NEVES, 2005; PEDROSO, 1989).

Os vermes permanecem durante anos na veia mesentérica principalmente e não produzem lesões, porém os vermes mortos podem provocar lesões extensas, principalmente no fígado, para onde os vermes são arrastados pela circulação porta. Devido o alto grau de metabolismo os vermes ainda são responsáveis por ocasionar espoliações no hospedeiro (REY, 2001; NEVES et al., 2000).

Os ovos são os principais responsáveis pela patogenia da esquistossomose. As lesões provocadas pelos ovos podem variar de acordo com a quantidade de ovos viáveis que conseguem atingir a luz intestinal, podendo causar hemorragias, edemas da submucosa, fenômenos degenerativos. Os ovos vivos excretam antígenos que provocam a reação inflamatória granulomatosa, uma resposta imune celular, estas lesões são as principais responsáveis pelas variações clínicas e pelas complicações digestivas e circulatórias (NEVES, 2000; STAVITSKY, 2004).

A fase aguda da Esquistossomose mansoni é caracterizada por sintomatologia variada, ocorre cerca de 10 a 35 dias após a exposição, podendo parecer assintomática ou apresentando quadro de mal-estar, febre, anorexia, dor abdominal e cefaléia.

Em torno de 50 até 120 dias aproximadamente, pode ocorrer uma disseminação dos ovos, principalmente no intestino, com áreas de necrose, provocando uma enterocolite aguda e o fígado apresenta-se, frequentemente, aumentado, com reação inflamatória intralobular e periportal, tanto inespecífica, sem o parasita, linfoplasmocitária com neutrófilos e eosinófilos, como granulomatosa (forma toxêmica), podendo apresentar-se

como doença aguda, febril, acompanhada de sudorese, calafrios, emagrecimento e outros sintomas.

Na maioria dos casos os pacientes evoluem para a forma crônica da doença, cujo desenvolvimento é lento e, na grande maioria benigno (NEVES et al., 2000).

Na fase crônica as manifestações clínicas variam, dependendo da localização e intensidade do parasitismo, da capacidade da resposta do indivíduo ou do tratamento instituído, inicia-se a partir dos 6 meses após a infecção, podendo durar vários anos. De acordo com a FUNASA (2002), a fase crônica pode apresentar-se sob três formas clínicas:

- Forma Intestinal: Caracteriza-se por diarréias repetidas que podem ser muco-sanguinolentas, devido à passagem simultânea de vários ovos para a luz intestinal, com dor abdominal, tenesmo, em casos mais graves pode apresentar fibrose da alça retossigmóide, diminuição do peristaltismo e constipação constante. Pode apresentar-se assintomática.

Forma Hepatointestinal: O quadro clínico depende muito do número de ovos que chegam ao fígado, como também o grau de reação granulomatosa que induzem. Essa fase caracteriza-se pela presença de diarréia e epigastralgia. Ao exame físico o paciente apresenta hepatomegalia, podendo notar, à palpação, nodulações que correspondem a áreas de fibrose decorrentes de granulomatose peri-portal ou fibrose de Symmers, nas fases mais avançadas dessa forma clínica.

A formação de granuloma associado à fibrose poderá conduzir a hipertensão portal, uma das maiores causas de mortalidade e morbidade da esquistossomose (JESUS et al., 2004).

- Forma Hepatoesplênica Compensada: Caracterizada pela presença de hepatoesplenomegalia. As lesões perivasculares intra-hepáticas são suficiente para gerar transtornos na circulação portal, provocando uma congestão passiva do ramo esplênico

(veia esplênica do sistema porta). Nessa fase inicia-se a formação de circulação colateral e de varizes do esôfago, com o comprometimento do estado geral do paciente.

- Forma Hepatoesplênica Descompensada: Inclui as formas mais graves da esquistossomose mansoni. Suas principais características são fígado volumoso ou já contraído devido à fibrose perivascular, esplenomegalia avantajada, ascite (decorrentes das alterações hemodinâmicas) circulação colateral anormal, anastomoses do plexo hemorroidário, umbigo, região inguinal e esôfago, formação de varizes esofagianas, hematêmese, anemia acentuada e desnutrição e quadro de hiperesplenismo.

- Formas Particulares: Em alguns casos podem-se observar as formas pulmonar e cárdio-pulmonar, os ovos chegam através das circulações colaterais anômalas uma outra forma importante a ser considerada é a neuroesquistossomose. Foram descritos também, granulomas em localizações ectópicas como na pele, pâncreas testículos, ovários, baço e apêndice cecal.

3.1.4.1. Granuloma

O elemento anatomopatológico básico do processo esquistossomótico crônico e sua lesão típica é o **granuloma** que se forma em torno do ovo do parasito (REY, 2001). Os antígenos secretados no interior do ovo maduro atravessam os tecidos e se disseminam nas circunvizinhanças destes. Estes antígenos, chamados *antígenos solúveis do ovo* (SEA), são os elementos fundamentais na formação da reação granulomatosa e, portanto da doença (NEVES, 2000).

Os granulomas são minúsculos nódulos brancacentos, isolados ou confluentes, localizados principalmente na superfície do fígado, serosa dos intestinos e nos pulmões.

O granuloma deve ser considerado nas fases aguda e crônica da doença. No início, são volumosos, com grande número de macrófagos, linfócitos, eosinófilos e alguns plasmócitos – sinais da reação imunológica, em torno do ovo, a reação granulomatosa é exacerbada e atinge dimensão considerável, apresentando volume 100 vezes o do ovo. Na fase crônica, o exsudato diminui e é substituído por tecido conjuntivo até se transformar em um nódulo fibrótico, estes granulomas atingem dimensões bem menores (BOGLIOLO, 2000).

A reação granulomatosa é uma lesão dinâmica que se modifica com o tempo, podendo ser classificadas nos tipos: a) Granuloma exsudativo: (primeiros dias após a oviposição) é caracterizado por intenso exsudato de células mononucleadas e eosinófilos em torno do ovo; b) Granuloma necrótico-exsudativo: (60 a 78 dias) além dos elementos anteriores, apresenta zona de necrose de extensão variada em torno do ovo, às vezes formam-se células epitelióides, que são macrófagos justapostos, com citoplasma abundante, em contato imediato com o parasito ou com os restos ovulares; c) Granuloma produtivo: (inicia-se cerca de 70-78 dias) fusão dos macrófagos resulta em uma ou mais células gigantes englobando total ou parcialmente os ovos mortos e empreendem a digestão lenta dos restos parasitários, a eosinofilia diminui e dão lugar a uma reação macrofágica e fibroblástica; Existe ainda uma *fase de transição* entre a fase aguda e a crônica, que no homem, corresponde ao período entre 90 a 120 dias após a infecção, os granulomas encontram-se na fase produtiva, com maior tendência para a fibrose, quase sempre, não se encontra a zona central de necrose, a neoformação conjuntiva é mais evidente e falta quase completamente a eosinofilia difusa nos sinusóides; d) Granuloma de cura por fibrose: (a partir de 150 dias) alguns macrófagos transformam-se em fibroblastos que se orientam igualmente em camadas concêntricas, em toda a espessura do granuloma,

e fabricam abundante quantidade de colágeno, até, que ao término de sua função, passam a fribrócitos, a medida que os fibroblastos aumentam , o granuloma esquistossomótico apresenta-se como uma cicatriz fibrosa de estrutura lamelar, cujos cortes transversais lembram um bulbo de cebola.

Os ovos que continuam sendo depositados formarão novos granulomas, porém estes apresentarão tamanhos reduzidos e menor número de células ao seu redor, ao contrário dos da primeira oviposição. Esse fenômeno é conhecido como imunomodulação (BOGLIOLO, 2000).

A formação dos granulomas em torno dos ovos é uma resposta imune mediada por células, que é dependente de células T $CD4^{+}$, e vários estudos recentes demonstram numerosas citocinas que controlam o desenvolvimento das lesões (CHIARAMONTE et al., 2001).

Mosmann e colaboradores (1986), estudando clones de células $CD4^{+}$ murinas, descreveram pela primeira vez a existência de subpopulações dessas células conhecidas por linfócitos auxiliares tipo 1 (Th1) e linfócitos auxiliares tipo 2 (Th2) as quais podiam ser diferenciadas em termos do padrão de citocinas que elas secretavam.

As células Th1 produtoras de $IFN-\gamma$, $TNF-\alpha$ e citocinas são ativadoras de macrófagos promovendo um efeito proinflamatório. Enquanto as células Th2 são produtoras de IL-4, IL-5, IL-13, as quais estimulam eosinófilos e IL-10 que possui ação supressora (ABBAS, LICHTMAN, POBER, 2000).

A formação do granuloma inicia durante o período Th1, quando os primeiros ovos embolizam no fígado, resultando na formação do granuloma agudo, e continua durante a emergência das citocinas Th2 (STADECKER, 1999).

A emergência de citocinas Th2, claramente dominante na sétima semana de infecção em camundongos, estimula células B e produção de anticorpos, facilita o recrutamento de eosinófilos e, promove mudanças significantes em células apresentadoras de antígenos. Essas células melhor representada por macrófagos nos granulomas, mas também por outras acessórias (como células denticiticas) em localizações extralesionais, adquirem um fenótipo consistente como “ativação alternativa” (GOERDT, ORFANOS, 1999), o que inclui a produção de IL-10, Fator- β transformação de crescimento (TGF- β) e arginase. A IL-4 e IL-13 são as maiores indutoras de arginase, fato que foi demonstrado em experimentos como modelo de granuloma pulmonar em camundongos infectados com *S. mansoni*. A arginase é uma enzima que hidroliza a L-arginina em uréia e L-ornitina. Este mecanismo pode resultar na formação de prolina e aumento da produção de colágeno (HESSE et al., 2001).

Na infecção experimental quanto na humana, a produção de IL-10 é elevada, e esta produção está relacionada com a progressão da doença. Nos camundongos, a IL-10 regula a polarização Th2 induzida pelos ovos do parasita. Por outro lado, esta citocina aparentemente protege os camundongos infectados do efeito letal de uma resposta polarizada, uma vez que experimentos realizados com animais deficientes nesta citocina mostram maior mortalidade e morbidade durante a fase aguda da infecção pelo *S. mansoni* (HOFFMAN, 2000; WYNN, 1997).

3.2. Diagnóstico

Em função da inespecificidade e da inconstância dos sinais e sintomas da esquistossomose mansoni, o uso de testes laboratoriais e ultra-sonografia podem fornecer

elementos seguros para justificar o diagnóstico (REY, 2001). No diagnóstico clínico é de fundamental importância a fase da doença e a anamnese detalhada do caso do paciente (origem, hábitos, contato com água de lagos, riachos, etc).

São disponíveis dois tipos de exames laboratoriais: demonstração da presença de ovos nas fezes ou nos tecidos do paciente e a realização de provas imunológicas.

Os métodos parasitológicos são eficientes em casos de carga parasitária média ou alta, sendo necessário repeti-los em caso de endemicidade baixa e resultado negativo. O diagnóstico da esquistossomose pode ser feito por técnicas de sedimentação espontânea, Método de Hoffman, Pons e Janer (1934); sedimentação por centrifugação ou utilizando o método de Kato-Katz o qual é uma técnica quantitativa, que determina o número de ovos por grama de fezes indicando a carga parasitária (KATZ et al., 1972).

Em 1968, a Secretaria da Saúde do Estado de São Paulo, indicou o método parasitológico de fezes, segundo a técnica de Kato-Katz (KATZ et al., 1972), como o método de escolha para selecionar os indivíduos a serem submetidos à quimioterapia. No entanto, nas áreas onde a doença é de pouca gravidade, com manifestações leves e pouco específicas, com a maioria dos portadores eliminando menos de 100 ovos do parasita por grama de fezes, como acontece em algumas áreas endêmicas, a prevalência real da doença fica subestimada, quando se emprega somente esse método para diagnosticar a esquistossomose. Isso ocorre por causa da baixa sensibilidade do método de Kato-Katz, que depende diretamente da quantidade de fezes examinadas e do número de ovos eliminados pelo portador (DE VLASS & GRYSSELS, 1992; DIAS et al., 1992; NOYA et al., 1999).

O método de Kato Katz é indicado também para estudos de levantamento epidemiológico, pois permite avaliar a intensidade da infecção, através da contagem de ovos nas fezes.

A biopsia retal ou raspagem da mucosa retal, por ser uma técnica invasiva e causar desconforto ao paciente, não é indicada para a rotina, pode ser útil em casos suspeitos, em que o parasitológico é negativo, nesse caso um pequeno fragmento poderia ser enviado para o exame parasitológico (FUNASA, 2003).

Os testes sorológicos ou indiretos baseia-se na resposta imunológica do paciente frente a antígenos do parasito. Existem diversas técnicas imunológicas utilizadas no diagnostico, como reação intradermicas ou intradermorreação, radioimunoensaio, reação de fixação do completo, hemoaglutinação indireta e ELISA. Os testes imunológicos não afirmam a existência da parasitose, podem ocorrer reações cruzadas, podendo resultar em falso-positivas ou reações falso-negativa (NEVES et al., 2000).

A ultra-sonografia tem sido uma grande ferramenta para avaliação das lesões hepáticas, fibrose de Symmers. É utilizada desde 1970, quando foi estabelecido que era um método seguro, rápido, não invasivo e relativamente barato para detectar as lesões em indivíduos infectados (HATZ, 2001). Essa técnica é capaz de diagnosticar lesões como hepatomegalia, esplenomegalia e fibrose peri-portal hepática, como também alargamento do diâmetro da veia porta (WIEST, 1996).

3.3. Controle da Esquistossomose

As condições inadequadas de saneamento básico é o principal fator responsável pela presença de focos de transmissão. A presença de caramujos transmissores da doença, em

uma vasta área do país ligadas às intensas migrações de populações de áreas endêmicas, em busca de melhoria de condições de vida, favorece fortemente a formação de novos focos de transmissão (NEVES et al., 2000).

O Controle da esquistossomose é um desafio para muitos países endêmicos, apesar dos esforços para controlar a doença ela continua sendo uma das infecções parasitárias mais prevalentes do mundo e um problema de saúde pública mundial, perdendo apenas para a malária nos países tropicais e subtropicais (SAVIOLI et al., 1997).

Como consequência, é necessário adotar um conjunto de medidas, como, tratamento da população infectada, educação sanitária, saneamento do meio, controle de moluscos que, no momento, apresentam melhor eficácia no controle da transmissão e da morbidade da esquistossomose (NEVES et al., 2000; REY, 2002).

3.3.1. Tratamento e Resistência

O tratamento quimioterápico representa hoje o único recurso imediato para minimizar a prevalência e incidência da esquistossomose (CIOLI, 1995).

De acordo com Modha e colaboradores (1990), as duas formas importantes de controle da esquistossomose são a quimioterapia e a redução da transmissão, até que se descubram vacinas viáveis.

A quimioterapia “moderna” contra esquistossomose iniciou-se em 1918, com o tártaro de antimônio e potássio, sendo utilizado durante cinquenta anos, porém a intensidade dos efeitos colaterais os tornaram obsoletos. Durante a segunda Guerra Mundial foi introduzido na clínica o lucantone. A década de 60, representou um período de progresso sobretudo

com a introdução do niridazol, hycantone, oxamniquine e metrifonato, pela forma de administração desses fármacos. Nos anos 70 com a descoberta do amoscanato, oltipraz, e o mais importante o praziquantel (CIOLI et al., 1995; OLIVEIRA, 2004). Neste período, o praziquantel foi descoberto por Bayer e Merck na Alemanha, sendo fabricado em 1978 na China (XIAO, 2005).

Existem duas drogas disponíveis para o tratamento da esquistossomose mansoni: Oxamniquine (OXA) e Praziquantel (PQZ). Os dois medicamentos se equivalem, quanto a eficácia e segurança. Atualmente o Praziquantel é a droga de escolha, em função do custo/tratamento que é menor (FUNASA, 2002).

Em programas de controle a cura parasitológica com esses fármacos é geralmente satisfatória (SABADINI et al., 2002).

O oxamniquine, é um derivado 2-aminometiltetrahydroquinolina, é produzido por síntese biológica e tem efeito anticolinérgico, o qual aumenta a motilidade do parasito e inibi a síntese de ácidos nucléicos. Esse efeito é observado mais contra vermes machos do que contra vermes fêmeas (FERRARI, et al., 2003).

É utilizado como fármaco de segunda escolha para tratamento *do S. mansoni*, apresentando baixos efeitos colaterais (HARDMAN et al., 2003). No Brasil o oxamniquine mostrou-se bem tolerado – uma dose única oral de 15mg/kg para adultos e duas doses diárias de 10mg/kg para crianças mostraram taxas de cura acima de 83%, quando esta eficácia foi avaliada por amostras de fezes. No entanto, quando a biopsia retal foi utilizada para avaliar a cura depois do tratamento com o oxamniquine, a taxa de cura foi somente de 38,3% (FERRARI, et al., 2003).

O praziquantel é considerado a droga de escolha para tratamento e controle da morbidade da esquistossomose no mundo, principalmente por apresentar atividade contra

todas as espécies de *Schistosoma* (WHO, 2002b; UTZINGER e KEISER, 2004) e suas formas imaturas (HARDER, 2002; XIAONONG et al., 2002), como também ausência de efeitos colaterais sérios, administração de dose oral única, custo competitivo e larga experiência clínica mostrando que ele é seguro, efetivo e fácil de administrar (CIOLI, et al., 1995; CIOLI, et al., 1998, DOENHOFF et al., 2000). É um derivado pirazinoisoquinolínico, 2-(ciclohexilcarbonil)-1,2,3,6,7,11b-hexahidro-4H-pirazino[2,1- α]isoquinolin-4-ona, apresenta baixa toxicidade e seus efeitos são principalmente contra a fêmea do parasito, causa mudança no tegumento e uma redução na concentração de glutatona no verme (FERRARI et al., 2003).

O Praziquantel exerce três efeitos farmacológicos no *S. japonicum* : estimula a atividade motora dos vermes; induz contrações espasmódicas na musculatura, os quais são Ca^{2+} dependente; e danifica o tegumento do verme com comprometimento de sincício, fibras musculares e estruturas sensoriais (XIAO, 2005).

Porém o sucesso da quimioterapia em áreas de alta prevalência não tem sido duradouro, havendo rápida reinfecção da população (COURA, 1995). Outro problema grave diz respeito à resistência de cepas de *S. mansoni* aos esquistossomicidas.

O primeiro caso bem documentado de resistência a uma droga esquistossomicida foi apresentado por Rogers e Bueding (1971). Especificamente, estes autores demonstraram que o hancantone quando administrado em baixas doses a camundongos produziram progenies altamente resistentes. A resistência foi associada a uma cepa isolada do parasito não tendo sido reproduzida em outras cepas. Em populações, cepas resistentes ao hancantone e ao oxamniquine foram pioneiramente evidenciadas no Brasil por Katz e colaboradores (1973) e posteriormente por Campos e colaboradores (1976). Coles e colaboradores (1987) verificaram, em estudos no Kenya, a necessidade de se usar doses

maiores de oxamniquine, levando a observação da presença de vermes resistentes, até mesmo antes da quimioterapia extensiva ter sido aplicada.

Estudos laboratoriais e investigações clínicas realizados no Senegal e Egito relataram a existência ou desenvolvimento da tolerância e/ou resistência do *Schistosoma mansoni* frente ao praziquantel (XIAO, 2005).

Liang e colaboradores (2001), confirmaram a resistência do *Shistosoma mansoni* ao Praziquantel em camundongos infectados com cinco isolados resistentes e cinco isolados susceptíveis, tratados com 3 x 200mg/Kg do Praziquantel micronizado . O Praziquantel micronizado teve maior eficácia do que outras duas formulações de praziquantel não micronizadas. Os cinco isolados resistentes foram menos responsivos ao praziquantel, 59-74% de redução da carga parasitária comparado aos isolados susceptíveis que obtiveram 92-100% de redução.

De acordo com Mourão e colaboradores (2005), o fracasso em tratamentos em massa contra o *S. mansoni* tem ocorrido e esta relacionado com cepas resistentes ao Praziquantel. Um fator a ser considerado é a biodisponibilidade do fármaco, que pode ser atribuído a seu rápido metabolismo e baixa hidrosolubilidade que pode diminuir sua taxa dissolução. Em seu trabalho foi utilizado o PZQ livre e em lipossoma. O lipossoma tem sido usado para prolongar os níveis da droga, reduzir os efeitos colaterais, direcionar a droga para sítios específicos e aumentar a biodisponibilidade após a administração. No experimento realizado in vivo com o lipossoma por via oral após 14 dias de infecção, causou uma diminuição dos ovos e dos parasitas, melhorando a atividade esquistossomicida do PZQ.

De acordo com Silva e colaboradores (2005), vários casos de falhas na terapêutica contra o *Schistosoma haematobium* com o Praziquantel tem sido relatados, sendo necessário a repetição do tratamento. Pacientes com esquistossomose vesical foram

tratados com Praziquantel e avaliados entre seis e vinte e quatro meses após o tratamento, as biopsias revelaram presença de granulomas em todos os pacientes e de ovos viáveis em pacientes que não liberavam ovos na urina.

Não há indicação de tolerância/resistência do *S. japonicum* frente ao PZQ no tratamento clínico em pacientes na China (SHI, et al., 2004; SONG et al., 2004), entretanto a droga tem sido amplamente utilizada. Em estudo em ratos infectados com vermes jovens ou adultos de *S. japonicum* e tratados com PZQ por diferentes sistemas, seguido por passagem do parasito no hospedeiro intermediário, os vermes das progênies F1 e F2 permaneceram susceptíveis ao praziquantel (YUE et al., 1990).

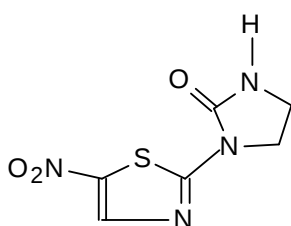
4. IMIDAZOLIDINAS

4. IMIDAZOLIDINAS

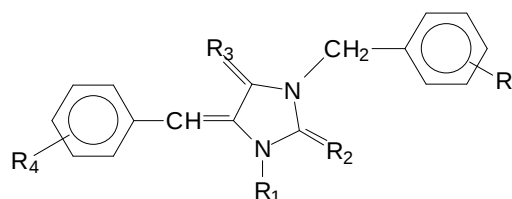
As imidazolidinas são análogos estruturais do imidazol, protótipo de uma série de heterociclos pentagonais aromáticos e apresentam em sua estrutura dois átomos de nitrogênio (BARREIRO e FRAGA, 2001).

As imidazolidinas e seus derivados são uma classe de substâncias que desperta grande interesse, por apresentarem importantes atividades farmacológicas, como anticonvulsivante, antiarrítmico e no tratamento de complicações diabéticas crônicas. Promovem também agregação plaquetária e inibição da aldose redutase. Este núcleo possui um grupo metilênico reativo no carbono-5, o que permite a síntese de inúmeros derivados a partir de condensação com aldeídos aromáticos (ROSSI e ZELNIK, 2000).

Na busca de novos fármacos ativos contra a esquistossomose, o niridazol, fármaco utilizado em vários países no tratamento da esquistossomose, serviu como protótipo pela presença do anel imidazolidinônico para o desenvolvimento de novos compostos derivados os quais foram sintetizados no Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos (LPSF/GPIT/UFPE) (Figura 11).



1-(5-nitro-2-tiazoli)-2-imidazolidinona
NIRIDAZOL



Estrutura Geral dos Derivados
Imidazolidínicos

Figura 11: Estrutura Química do Niridazol e dos Derivados Imidazolidínicos

O sistema imidazolidínico substituído nas posições 2, 3, 4 e 5 do anel revela diversas propriedades terapêuticas. Tais observações contribuem na pesquisa de novos agentes bioativos mais específicos e menos tóxicos. A imidadazolidina-2,4-diona reage com cloreto ou brometo de benzila ou fenacila, conduzindo ao intermediário imidazolidi-2,4-diona alquilados por grupamentos benzila ou fenacila substituídos. Este intermediário pode conduzir a derivados substituídos na posição 5 por duas vias, uma via na qual se utiliza o ácido acético/acetato de sódio e o benzaldeído aromático e uma outra se utilizando a piperidina e um derivado do éster cianocinâmico. Através da escolha de um das vias várias reações foram possíveis e permitiram a obtenção do derivado 5-benzilideno-3-benzil-imidazolidina-2,4-diona.

Assim, a avaliação da atividade esquistossomicida de novos heterociclos pentagonais imidazolidinônicos, como a 3-(4-cloro-benzil)-5-(4-nitro-benzilideno)-imidazolidina-2,4-diona na dose de 60 µg/mL apresentou uma taxa de mortalidade de 100 % no 9º dia de contato (ALBUQUERQUE, 2002).e a 3-benzil-5-(4-flúor-arilazo)-4-tioxo-imidazolidin-2-ona na dose 10 µg/mL apresentou uma taxa de mortalidade de 100 % após 24 horas de contato (SOARES, 2004), confirmando assim a contribuição significativa no desenvolvimento de novas substâncias contra esse parasito humano.

Albuquerque (2002), em estudos realizados sobre os efeitos do composto 3-(4-cloro-benzil)-5-(4-nitro-benzilideno)-imidazolidina-2,4-diona c em receptores colinérgicos de *S. mansoni* efetuados através da observação visual da atividade motora de vermes adultos machos mantidos *in vitro*. Concluiu que, o estímulo da motilidade provocado por este derivado foi bloqueado pelo colinomimético carbacol. Tais observações sugerem uma provável atividade ao nível de receptores colinérgicos, uma vez que o sistema nervoso singular do *S. mansoni*, com características farmacofisiológicas únicas, pode ser usado para

estudo de drogas destinadas a uso humano e animal e como efetivo ponto de ataque de quimioterápicos (Figura 12).

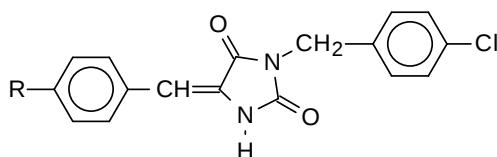


Figura 12: Estrutura Química do composto 3-(4-clorobenzil)-5-(4-nitrobenzilideno)-imidazolidina-2,4-diona - FZ4.

Oliveira e colaboradores (2004) constatarem através de ensaios *in vitro* realizado com o derivado 3-(4-clorobenzil)-5-(4-nitrobenzilideno)-imidazolidina-2,4-diona uma taxa de mortalidade de 100 % dos vermes adultos de *S. mansoni* na dose de 161 μ M. Já no tratamento *in vivo* foram utilizadas concentrações de 50 mg/Kg ou 10 mg/Kg administrada cinco vezes a cada 24 horas, pelas vias oral e intraperitoneal. Os resultados obtidos revelaram que o tratamento em cinco doses de 10 mg/Kg foi mais efetivo em inviabilizar os ovos de *S. mansoni*.

Outros compostos tioxo-imidazolidínicos foram estudados por Albuquerque e colaboradores (2005). Estes descreveram a síntese e avaliaram a atividade esquistossomicida frente a vermes adultos de *S. mansoni*. Constataram que o composto 3-(4-clorobenzil)-5-(4-flúorbenzilideno)-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-onas atingiu uma resposta máxima no nono dia de contato com os vermes na dose de 322 μ M (Figura 13).

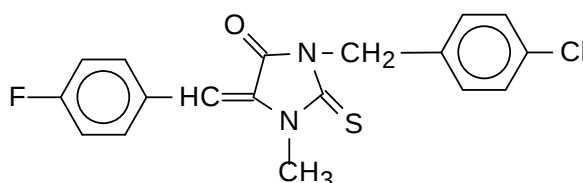


Figura 13: 3-(4-clorobenzil)-5-(4-flúorbenzilideno)-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona

Diante da comprovada atividade biológica *in vitro* dos derivados imidazolidínicos frente ao *Schistosoma mansoni* este trabalho visou avaliar o efeito *in vivo* após administração oral com ênfase na eficácia terapêutica e análise histopatológica.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBAS, A.K.; LICHTMAN, A. H.; POBER, J.S. **Cellular and Molecular Immunology**.

4 Ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 2000.

ALBUQUERQUE, M. C. P. A. **Novas imidazolidinas potencialmente ativas no combate à esquistossomose: síntese e avaliação da atividade no *Schistosoma mansoni* (cepa BH)**. Tese de Doutorado-Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas. Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco. Recife. Brasil. 2002.

ALBUQUERQUE, M.C.P.A.; SILVA, T.G.; PITTA, M.G.R.; SILVA, A.C.A.; SILVA, P.G.; MALAGUEÑO, E.; SANTANA, J.V.; WANDERLEY, A.G.; LIMA, M.C.A.; GALDINO, S.L.; BARBE, J.; PITTA, I.R. Synthesis and schistosomicidal activity of new substituted thioxo-imidazolidine compounds. **Die Pharmazie**, v.60, p13-17, 2005.

BARBOSA, C.S., DOMINGUES, A.L.C., ABATH, F., MONTENEGRO, S.M.L., GUIDA, U., CANEIRO, J., TABOSA, B., MORAES, C.N.L., SPINELLI, V. An outbreak of acute schistosomiasis at Porto de Galinhas beach, Pernambuco, Brazil. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, 17(3):725-728, 2001.

BARBOSA, C.S.; GOUVEIA, G.C. La Schistosomose intestinale et son controle dans le Nord-Es du Brésil. **Cahiers Santé**, v.10, p.137-9, 2000.

BARREIRO, E.J., FRAGA, C.A.M. **Química Medicinal: As bases Moleculares da Ação dos Fármacos**. Artmed Editota, Porto Alegre, p.243, 2001.

BOGLIOLO, G. Patologia. 6ª Edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000.

CAMPOS, R., MOREIRA, A.A.B., SETTE JR., H., CHAMONE, D.A.F., SILVA, L.C. Hycantone resistance in a human strain of *Schistosoma mansoni*. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v.70, p.261-262, 1976.

CHIARAMONTE, M.G., A.W. CHEEVER, J.D. MALLEY, D.D.DONALDSON, and T.A. WYNN. Studies of murine schistosomiasis reveal interleukin-13 blockade as a treatment for established and progressive liver fibrosis. **Hepatology**, Philadelphia, v.34, n.2, p.273-282, 2001.

CIOLI, D. Chemotherapy of schistosomiasis: an update. **Parasitol Today**, v.14, p. 418-422, 1998.

CIOLI, D.; PICA-MATTOCCIA, L.; ARCHER, S. Antischistosomal drugs: past, present ... and future? **Pharmacology & Therapeutics**, v. 68. p. 35-85, 1995.

COELHO, M.V. *Schistosoma mansoni*. O parasito. In: **Sales da Cunha, A.** Esquistossomose mansoni. São Paulo: Editora Sarvier, Universidade de São Paulo, 1970.

COURA, JR. Control Schistomiasis in Brazil: perspectives and proposals. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 90, p.257-260, 1995.

COLES, G.C., MUTAHI, W.T., KINOTI, G.K., BRUCE, J.I., KATZ, N. Tolerance of Kenyan *Schistosoma mansoni* to oxamniquine. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v.81, p. 782-785, 1987.

DE VLAS, S. J. & GRYSSELS, B. Underestimation of *Schistosoma mansoni* prevalences. **Parasitology Today**, v.8, p.274-277, 1992.

DERMIS.

Cercaria

Dermatitis.

<<http://dermis.multimedica.de/pedoia/en/50137/image.htm>>. Acesso em: Maio/2006.

DIAS, L. C. S.; MARÇAL Jr., O.; GLASSER, C. M.; KANAMURA, H. Y. & HOTTA, L. K. Control of schistosomiasis mansoni in a low transmission área. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.87, p.233-239, 1992.

DOENHOFF, M.; KIMANI, G.; CIOLI, D. Praziquantel and the control of schistosomiasis. **Parasitol Today**, v.16, p.364-366, 2000.

ENVIRONMENTAL BIOLOGY. *Schistosoma*. Disponível em: http://www.bergen.edu/Faculty/rdill/environmental_biology/eb_lab/Images/eb_lab_images.html Acesso em: Maio/2006.

FAVRE, T.C. et al. Avaliação das ações de controle da esquistossomose implementadas entre 1977 e 1996 na área endêmica de Pernambuco, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Brasília, DF, v.34, n.6, p. 569-576, 2001.

FERRARI, M.L.A.; COELHO, P.M.Z. Efficacy of oxamniquine and praziquantel in the treatment of *Schistosoma mansoni* infection: a controlled trial. **Bulletin of the World Health Organization**. v.81, n.3, 2003.

FUNASA. **Net**, 2003. Disponível em: <<http://www.funasa.gov.br/pub/gve/gve0510b.htm>>. Acesso em: Outubro de 2003.

FUNASA. Esquistossomose mansônica. in: **GUIA DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA** / Fundação Nacional de Saúde. 5ª ed. vol.I, Brasília. p.282-286, 2002.

GAZZINELLI, M.F.; GAZZINELLI, A.; SANTOS, R.V.; GONÇALVES, L.A.O. The interdiction of disease: a cultural construction of schistosomiasis in an endemic area in Minas Gerais, Brazil. **Cad Saude Publica**, Nov-Dec;18(6):1629-38, 2002.

GGVS/LABEND/ESQ. Gerência Geral de Vigilância à Saúde – Esquistossomose – Coordenação Estadual do Programa de Controle da Esquistossomose. (PCE) Esquistossomose. Recife-PE, 2001.

GOERDT, S.; ORFANOS, C.E. Other functions, other genes: Alternative actiation of antigen-presenting cells. **Immunity**, Cambridge, v.10, p.137, 1999.

HAAS, W and SCHMIDT, R Characterization of chemical stimuli for the penetration of *Schistosoma mansoni* cercaria. 1. Effective substances, host specificity. **Zeitschrift fur Parasitenkunde** 66, pp 293 – 307, 1982

HARDER, A. Chemotherapeutical approaches to schistosomes: current knowledge and outlook. **Parasitol. Res.** 88,395-397, 2002.

HARDMAN, J.G.; LIMBIRD, L.E>; GILMAN, A.G. Eds. **Goodman & Gilman, As bases farmacológicas da terapêutica**. 10 ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 2003.

HATZ, C.F. The use of ultrasound in schistosomiasis. **Adv Parasitol**, v.48, p.225-84, 2001.

HESSE, M. et al. Differential regulation of oxide nitric synttase-2 and arginase-1 by type 1/type 2 cytokines in vivo: granulomatous pathology is shspe by the pattern of l-arginine metabolism. **Journal of Immunology**, Baltimore, v. 167, p. 6533-6544, 2001.

HOFFMAN, W.A.; PONS, J.A.; JANER, J.L. Sedimentation concentration method in schistosomiasis mansonii. **PR J. Public. Health. Trop. Med.**, v.9, p.283-298, 1934.

HOFFMANN, K.F., A.W. Cheever, and T.A. Wynn, IL-10 and the dangers of immune polarization: excessive type 1 and type 2 cytokine responses induce distinct forms of lethal immunopathology in murine schistosomiasis. **J Immunol**, 164(12): p. 6406-16, 2000.

JESUS, A.R., MAGALHÃES, A.; MIRANDA, D.G.; Association for type 2 with hepatic fibrosis in human *Schistosoma mansoni* infection. **Infection and Immunity**, vol. 72; nº 6; p. 3391-3397, 2004.

KANO, P.H. Measures for control of schistosomiasis adopted by the Fundação Nacional de Saúde. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 87 (Sup. IV) p. 315-318, 1992.

KATZ N.; DIAS E.P.; ARAÚJO N.; SOUZA C.P. Estudo de uma cepa humana de *Schistosoma mansoni* resistentes a agentes esquistossomicidas. **Ver. Soc. Bras. Med. Trop.**, v.7, p.381-387, 1973.

KATZ, N.; CHAVES, A. & PELLEGRINO, J. A simple device for quantitative stool thrick smear technique in schistosomiasis mansoni. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v.14, p.397-400, 1972.

LIANG, Y-S.; COLES, G.C.; DOENHOFF, M.J.; SOUTHGATE, V.R. In vitro of praziquantel-resistant and – susceptible *Shistosoma mansoni* to praziquantel. **International Journal for Parasitology**, 31,1227-1235, 2001.

MALAGUEÑO, E.; SANTANA, J.V. Etiologia da esquistossomose. In: **Malta J.** Esquistossomose mansônica. Recife. Editora Universitária, 1994.

MODHA J.; LAMBERTUCCI J.R.; DOENHOFF M.J.; MCLAREN D.J. Immune dependence of schistosomicidal chemotherapy: na ultrastructural study of *Schistosoma mansoni* adult worms exposed to praziquantel immune serum *in vivo*. **Parasite Immunol**, v.12, p. 112-131, 1990.

MOSMANN, T.R. et al. Two types of murine helper T cell clone. **Journal of Immunology**, Baltimore, v. 136, p.2348-2357, 1986.

MOURÃO, S.C.; COSTA, P.I.; SALGADO, H.R.N.; GREMIÃO, M.P.D. Improvement of antischistosomal activity of praziquantel by incorporation into phosphatidylcholine-containing liposomes. **International Journal of Pharmaceutics**. 295, 157-162, 2005.

MOZA P.G.; PIERI O.S.; BARBOSA C.S. Fatores sócio-demográficos e comportamentais relacionados à esquistossomose em uma agrovila da zona canavieira de Pernambuco, Brasil. **Cad. Saúde Públ.**, Rio de Janeiro. v.14, n 1, p.107-115,1998.

NEVES, D.P. **Parasitologia Humana**. 11^a ed. São Paulo-SP, ed. Atheneu, p. 494, 2005.

NEVES D.P.; MELO, A.L.; GENARO, O.; LINARDI, P.M. **Parasitologia Humana**, 10^a Edição. Atheneu. Capítulo 22, p.174-193, 2000.

NOYA, B. A.; BALZAN, C.; ARTEAGA, C.; CESARI, I. & NOYA, O. The last fifteen years of schistosomiasis in Venezuela: Features and evolution. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 94, p.139-146, 1999.

OHLWEILER, F.P.; KAWANO, T. Effects of the Desiccation on Biomphalaria tenagophila Orbigny, 1835) (Mollusca) Infected by Schistosoma mansoni Sambon, 1907. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, Vol. 96(5): 737-749, 2001.

OLIVEIRA, S.M; ALBUQUERQUE, M.C.P.A. A resposta do Schistosoma mansoni in vitro frente a derivados imidazolidínicos. **Acta Farm. Bonaerense**, vol.23; n.3; p. 343-8; 2004.

PEDROSO, E.R.P. Alterações pulmonares associadas à esquistossomose mansoni. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 84, supl. 1 p. 46-57, 1989.

PESSÔA, S.B.; MARTINS, A.V. PESSÔA. **Parasitologia Médica**, 10^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 1977.

POPIEL, I. The reproductive biology of schistosomes. **Parasitology Today**, v: 2, p: 10-15, 1986.

PRATA, A. Esquistossomose mansonii. In: Veronesi. **Tratado de Infectologia**, São Paulo: Editora Atheneu, 1996.

REY, L. **Bases da Parasitologia Médica**. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan S.A., p. 379, 2002.

REY, L. **Parasitologia**, 3ªed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A. 2001.

ROGERS, S.H., BUEDING, E. Hycanthone resistance: development in *S. mansonii*. **Science**, v. 172, p.1057-1058, 1971.

ROSSI, M.H.; ZELNIK, R. Contribuição à química das imidazolidinadionas-Síntese de ciclanilideno-hidantoínas. São Paulo: **Arquivos Instituto Biológico**, v.67, n.1, 2000.

SABADINI, P.I.P.B. & DIAS, L.C.S. Altered Response os Strain os *Schistosoma mansonii* of Oxamniquine and Praziquantel. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v.97, n. 3, p.381-385, April, 2002.

SAVIOLI, L. RENGANATHAN, E. MONTRESOR, A. DAVIS, A., BEHBEHANI, K. Control os schistosomiasis-A global picture. **Parasitology Today**. v.13, p.444-448, 1997.

SHI, M.Z.; YU, D.B.; WEI, W.Y.; ZHANG, C.S.; HE, H.B.; YANG, G.F.; LI, G.P.; REN, M.Y. Experimental study on susceptibility of praziquantel against *Schistosoma japonicum* in repeated chemotherapy areas in Dongting Lake region. **Chin. J. Shisto. Contr.** 16, 171-173, 2004.

SOARES, A.L.M. **Síntese e Avaliação da Atividade Biológica de Novos Derivados Arilazo-imidazolidínicos e Arilideno-tiazolidínicos Frente a Vermes Adultos de *Schistosoma mansoni* (cepa BH)** 2004. (Dissertação de Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia em Produtos Biotivos) Departamento de Antibióticos, Universidade Federal de Pernambuco. Recife. Brasil.

SILVA, I.M., THIENGO, R., CONCEIÇÃO, M.J., REY, L., LENZI, H.L., FILHO, E.P., RIBEIRO, P.C. Therapeutic failure of praziquantel in the treatment of *Schistosoma haematobium* infection in Brazilians returning from Africa. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, Vol. 100(4): 445-449, 2005.

SONG, H.T.; LIANG, Y.S.; DAÍ, J.R.; LI, L.G.; SHEN, X.H.; TIAN, Q.A.; JI, Z.S.; YIN, F. Studies on sensitivity of *Schistosoma japonicum* to praziquantel-situation in low endemic areas. **Chin. J. Shisto. Contr.** 16, 58-59, 2004.

STADECKER, M.J., The Regularory role of the antigen-presenting Cell in the development of hepatic immunopathology during infection with *Schistosoma mansoni*. **Pathobiology**, Basel, v.67, p.269-272, 1999.

STANDEN, O.D., Experimental infection of *Australorbis* with *Schistoma mansoni*.I. Individual and mass infection of snails, and the relationship of infection to temperature and season. **Ann Trop Med Parasitol**, v. 46, p. 48-53, 1952.

STAVITSKY, A.B. Regulation of granulomatous inflammation in experimental models of schistosomiasis. **Infection and Immunity**, p. 1-12, 2004.

UTZINGER, J., KEISER, J. Schistosomiasis and soil-transmitted helminthiasis: common drugs for treatment and control. **Expert Opin. Pharmacother.** V.5, p.263-285. 2004.

WHO – Geneva. Prevention and control of schistosomiasis and soil-transmitted helminthiasis: report of a WHO expert committee. WHO Tech. Rep. Ser. N° 912, 2002a.

WHO. World Health Organization. Disponível em: <http://www.who.int/en/> Acesso em: Junho/2006.

WHO, 2002b. TDR Strategic direction for research. Disease TDR TDR Strategic direction for research. Disease burden and epidemiological trends. <http://www.who.int/tdr/diseases/schisto/direction.htm>.

WIEST, P.M. The epidemiology os morbidity of schistosomiasis. **Parasitology Today**, v.12, n. 6, 1996.

WIKIPÉDIA < <http://pt.wikipedia.org/wiki/Schistosoma>>. Acesso: Maio/2006

WYNN, T.A., et al., Analysis of granuloma formation in double cytokine-deficient mice reveals a central role for IL-10 in polarizing both T helper cell 1- and T helper cell 2-type cytokine responses in vivo. **J Immunol**, 159(10): p. 5014-23, 1997.

XIAO, S.H. Development of antischistosomal drugs in China, with particular consideration to praziquantel and the artemisinins. **Acta Tropica**. V. 96. p. 153-167. 2005.

XIAONONG, Z., MINGGAG, C.; MCMANUS, D.; BERGQUIST, R. Schistosomiasis control in the 21st century. Proceedings of the International Symposium on Schistosomiasis, Shagai, July 4-6, 2001. **Acta Trop**. 82, 95-114, 2002

YUE, W.J.; YU, S.H.; XU, X.J. Failure to induce resistance of *Shistosoma japonicum* to praziquantel. **Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health**, 21, 85-89, 1990.

6. ARTIGO

6. ARTIGO

Avaliação da Atividade Esquistossomocida do 3-(4-clorobenzil)-5-(4-nitrobenzilideno)-imidazolidina-2,4-diona (FZ-4) e do Praziquantel frente ao *Schistosoma mansoni* (cepa BH)

Poliana G. SILVA¹, Mônica C.P.A. ALBUQUERQUE², Paloma L. MEDEIROS³, Eliete C. SILVA³, Elisabeth MALAGUEÑO¹, Maria do Carmo A. LIMA⁴, João I.⁵, Ivan R. PITTA⁴ & Suely L. GALDINO⁴

¹Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami, ²Departamento de Medicina Tropical, ³Departamento de Histologia e Embriologia, ⁴Departamento de Antibióticos, ⁵Departamento de Parasitologia. Universidade Federal de Pernambuco. 50670-910. Recife, PE

RESUMO

Para avaliar a atividade esquistossomocida *in vivo* do Praziquantel (PZQ) e do 3-(4-clorobenzil)-5-(4-nitrobenzilideno)-imidazolidina-2,4-diona (FZ-4), um derivado imidazolidínico, foram utilizados camundongos Swiss fêmeas infectados experimentalmente com 80 cercárias de *S. mansoni* (cepa BH), e tratados por cinco dias consecutivos com PZQ nas doses de 25, 50, 100 e 200 mg/Kg e o grupo tratado com o FZ-4 nas doses de 25, 50 e 100 mg/Kg, 50 dias após a infecção. O praziquantel mostrou-se eficaz em reduzir a carga parasitaria dos animais infectados, com redução de 100% nas doses de 100 e 200mg/Kg. A ED₅₀ calculada foi de 14,75mg/Kg demonstrando que a cepa BH de *S. mansoni* utilizada foi sensível ao Praziquantel. O FZ-4 nas doses utilizadas não mostrou ser capaz de reduzir o número de vermes nem alterar o oograma nos animais infectados, todavia na dose de 25mg/kg apresentou significativo aumento no número de

ovos inviáveis com $p < 0,05$. Também foi capaz de reduzir o número de ovos por grama de fezes quando analisados no sexto e décimo quarto dias após o término do tratamento. A análise histopatológica indicou que o FZ-4 promoveu redução das áreas de fibrose e proteção da mucosa intestinal da reação granulomatosa, ativando nódulos linfáticos locais na dose de 100mg/Kg. Em conclusão a atividade esquistossomicida do praziquantel foi evidenciada, mas não foi com o FZ-4, contudo este tenha reduzido o número de ovos do parasito nas fezes.

Palavras-chaves: *Schistosoma mansoni*, Praziquantel, atividade *in vivo*, imidazolidinas

1. INTRODUÇÃO

A esquistossomose é um grave problema de saúde pública em países tropicais e subtropicais. Mais de 600 milhões de pessoas vivem em áreas de risco e cerca de 200 milhões encontram-se infectadas em 74 países (CHITSULO, 2000). No Brasil, a estimativa é de 8 a 10 milhões de indivíduos infectados e aproximadamente 30 milhões sob risco de adquirir esquistossomose mansoni. A patologia da esquistossomose é uma consequência da formação dos granulomas que é uma resposta inflamatória dos ovos no fígado e em outros tecidos (SANTOS, 2006). O tratamento quimioterápico representa hoje o único recurso imediato para minimizar a prevalência e incidência da esquistossomose (CIOLI, 1995). Existem duas drogas disponíveis para o tratamento da esquistossomose mansoni: Oxamniquine (OXA) e Praziquantel (PQZ). Os dois medicamentos se equivalem, quanto à eficácia e segurança. Atualmente o Praziquantel é a droga de escolha, em função do custo/tratamento que é menor (FUNASA, 2002).

Tendo em vista o possível desenvolvimento da tolerância ou da resistência ao praziquantel, têm-se justificado a pesquisa e a produção de novas drogas para a prevenção e cura do *Schistosoma mansoni* (LESCANO et al., 2004).

O niridazol, por apresentar o anel imidazolidinônico em sua estrutura, proporcionando atividade anti-helmíntica, representa o protótipo na busca de novos fármacos ativos na esquistossomose. A preparação e avaliação da atividade esquistossomicida de novos heterociclos pentagonais imidazolidinônicos certamente contribuirá no desenvolvimento de novas drogas contra o *S. mansoni* (OLIVEIRA, 2004).

No presente estudo procurou-se avaliar a atividade esquistossomicida do derivado imidazolidínico FZ-4 em camundongos infectados experimentalmente com a cepa BH de *S. mansoni* comparando-o com os resultados obtidos do tratamento realizado com o Praziquantel.

2. MATERIAS E MÉTODOS

2.1. Substâncias Avaliadas

2.1.1. Praziquantel (Sigma)

2.1.2. Composto imidazolidínico FZ-4 3-(4-clorobenzil)-5-(4-nitrobenzilideno)-imidazolidina-2,4-diona sintetizado no Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos – LPSF.

2.2. Animais

2.2.1. Camundongos

Camundongos Swiss (*Mus musculus*) fêmeas, com 45 dias de idade, mantidos no Biotério do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA), UFPE. Os animais foram locados em gaiolas, permanecendo em macroambiente controlado (fotoperíodo de 12h claro/escuro, temperatura $23\pm 2^{\circ}\text{C}$) com fornecimento de água e ração. Todos os procedimentos foram realizados de acordo com as normas preconizadas pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal – COBEA e o protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética Animal da Universidade Federal de Pernambuco.

2.2.2. Moluscos

Foram utilizados moluscos da espécie *Biomphalaria glabrata*, procedentes do moluscário da disciplina de Parasitologia do Departamento de Medicina Tropical da UFPE.

2.2.3. *Schistosoma mansoni*

Foi utilizada a cepa BH (Belo Horizonte), mantida no Setor de Esquistossomose Experimental do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA), UFPE, em modelo camundongo – *Biomphalaria glabrata*. Foi utilizado 80 cercárias de *S. mansoni* por camundongo.

2.3. Avaliação da susceptibilidade *in vivo* do *Schistosoma mansoni* frente ao praziquantel (PZQ) e FZ-4

2.3.1. Tratamento dos camundongos

Nove grupos de seis camundongos cada foram utilizados neste estudo. Sete grupos foram expostos as cercárias do parasito utilizando-se a técnica da imersão caudal, com aproximadamente 80 cercárias. O tratamento iniciou no 50º dia de infecção, quatro grupos foram tratados com Praziquantel nas doses de 200, 100, 50 e 25mg/Kg por via oral, durante cinco dias consecutivos.

Um grupo controle foi mantido recebendo apenas o veículo utilizado na solubilização durante o mesmo período. No tratamento com FZ-4 foram utilizados três grupos os quais receberam doses de 100, 50 e 25mg/Kg e um grupo controle também foi estabelecido.

2.3.2. Contagem dos ovos nas fezes

Com 49 dias de infecção os camundongos foram analisados quanto à eliminação de ovos nas fezes, utilizando o método de Kato-Katz (KATZ et al., 1972) após o tratamento esta análise se deu a cada dois dias, até o final de 15 dias, quando os camundongos foram sacrificados.

2.3.3. Perfusão do Sistema Porta para contagem de vermes adultos

Foi realizada a eutanásia dos grupos controles e tratados (PZQ e FZ-4), 15 dias após o término do tratamento. Os animais foram mortos por deslocamento cervical e submetidos à perfusão do sistema porta hepático, para retirada dos vermes, estes foram contados e classificados, de acordo com o sexo e vitalidade. Ao término da perfusão foram coletados fragmentos do fígado e intestino para análise histopatológica, e três fragmentos da porção distal do intestino delgado, para análise do oograma.

2.4. Oograma

Para realização do oograma foram utilizados três fragmentos da porção distal do intestino, que foram lavados em solução salina e ligeiramente secados em papel absorvente. Posteriormente foram comprimidos entre lâmina e lamínula para realização da leitura (PELLEGRINO e FARIA, 1965). Os fragmentos foram microscopicamente analisados e 300 ovos, por camundongos, contados e classificados de acordo com os seus estádios de desenvolvimento. É considerado alterado o oograma que apresentar ausência de uma das fases evolutivas do ovo do parasito (PELLEGRINO e KATZ, 1969).

2.5. Análise Histopatológica

Imediatamente após o sacrifício dos camundongos dos grupos tratados e controle para perfusão do sistema porta intra-hepático, foram coletados os fígados e intestinos para o processamento histopatológico.

Os órgãos (fígados e intestinos) dos animais foram fixados com Carnoy por 45 minutos e em seguida colocados em álcool a 70%. Após a fixação, foram desidratados em uma bateria crescente de álcoois (80 a 100%), diafanizados em Xilol e incluídos em parafina. Posteriormente foram realizados os cortes histológicos com espessura de 5µm. Os cortes foram corados pela técnica de rotina com Hematoxilina & Eosina (HE) e Tricrômico de Masson (TM), sendo em seguida montados entre lâmina e lamínula com resina sintética (Entellan®, Merck).

Após a montagem, as preparações foram avaliadas com relação à escolha dos cortes representativos para captura das imagens através de microscópio óptico (LEICA), com câmara digital acoplada a um computador com programa específico para análise de imagem.

2.6. Avaliação da eficácia do tratamento e Determinação da ED₅₀.

A avaliação da eficácia do Praziquantel e do FZ-4 foi determinada através da redução da percentagem da carga parasitária em cada grupo tratado utilizando a seguinte equação:

$$\text{Redução de vermes (\%)} = \frac{\text{Nº de vermes no grupo controle} - \text{Nº de vermes no grupo tratado}}{\text{Nº de vermes no grupo controle}} \times 100$$

Para determinar a ED₅₀ de cada substância a curva dose resposta foi gerada usando software Prisma (Graphpad). A resposta foi plotada como % de eficácia no eixo Y contra logaritmo das doses no eixo X. Os valores de ED₅₀ foram obtidos através da observação da dose que intercepta a curva resposta em 50% de eficácia.

2.7. Análise estatística

Os resultados obtidos foram expressos como média $\pm$ desvio padrão ou % . As médias de grupos diferentes foram comparadas por análise de variância (ANOVA). O teste de Tukey foi considerado um nível de significância de $p < 0,05$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Camundongos infectados foram tratados com diferentes doses de PZQ iniciando o tratamento no 50º dia após infecção. A perfusão foi executada 15 dias após o término da terapêutica e os resultados são mostrados na tabela 1.

Todos os camundongos do grupo controle que sobreviveram ao período experimental desenvolveram sinais típicos de esquistossomose experimental. A média de números de vermes recuperados dos animais do grupo controle variou de 25 até 44 vermes por camundongo.

A eficácia do Praziquantel em diminuir o número de vermes seguiu uma relação dose dependente. Com as doses de 100 e 200mg/Kg nenhum verme foi recuperado, apresentando uma eficácia de 100%. A maior quantidade de vermes recuperados ocorreu com a dose de 25mg/Kg, cuja eficácia foi de 86,6%.

Tabela 1: Atividade esquistossomocida de diferentes doses do Praziquantel contra *Schistosoma mansoni* cepa BH em camundongos após 15 dias do término do tratamento.

Grupo Experimental	Dose	Número de vermes recuperados						Eficácia
		Machos	Fêmeas	Total	Variação	Média	DP	(%)
Controle	--	17,25	18	35,25	25 - 44	17,63	0,53	-
Praziquantel	25 x 5	1,99	2,71	4,7	2 - 13	2,35	0,50	86,6
	50 x 5	0,42	0,42	0,84	2 - 4	0,42	0	97,45
	100 x 5	0	0	0	0	0	0	100
	200 x 5	0	0	0	0	0	0	100

A curva dose resposta gerada a partir desses valores mostrou que a dose efetiva capaz de reduzir a carga parasitaria em 50 % foi de 14,75mg/Kg (Figura 14).

Estes resultados estão de acordo com os de Drescher et al (1993), cuja sensibilidade da cepa BH de *S. mansoni* frente ao praziquantel apresentou eficácia de 99,4 % com a dose de 100mg/Kg x 5 dias mas discordam quanto a eficácia diante das doses de 50 e 25mg/Kg x 5 dias as quais foram 62,1 % e 46,7 % respectivamente, esta diferença provavelmente foi devido a carga parasitária utilizada.

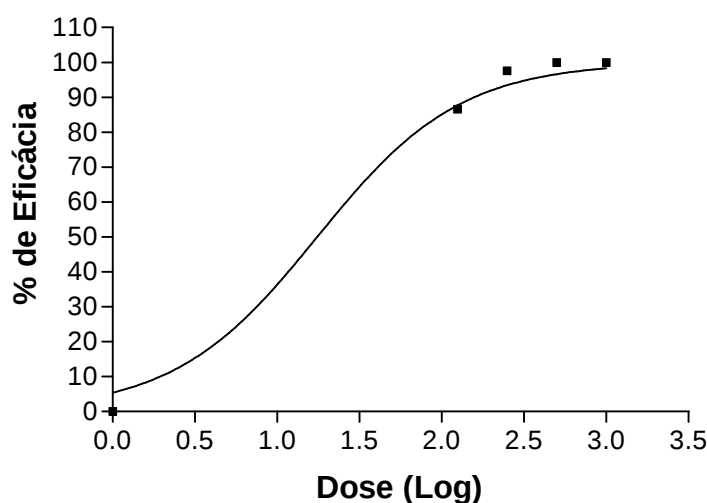


Figura 14: Curva dose resposta do Praziquantel frente a cepa de *S. mansoni* , usando o software Prisma (Graphpad).

O Praziquantel também foi capaz de alterar o oograma e o número de ovos expressos em um grama de fezes. A tabela 2 mostra que houve alterações dos oogramas em todos os grupos tratados, com inviabilidade em 100% dos ovos encontrados nos fragmentos intestinais. No grupo controle não foi observada alteração, tendo sido encontrado ovos em todas as fases evolutivas. Este resultado aponta para uma atividade ovicida do praziquantel. A cinética de eliminação de ovos nas fezes dos animais infectados e tratados com o Praziquantel foi observada num período de 15 dias compreendido entre o dia anterior ao início do tratamento, o qual corresponde ao 49º dia após a infecção e o dia anterior ao término do referido tratamento.

A Figura 15 mostra o número de ovos por grama de fezes obtido nos diferentes grupos tratados com o Praziquantel e no grupo controle. Nas doses de 25, 50, 100 e 200mg/kg os ovos foram detectados até o 10º dia após o tratamento, no grupo controle permaneceu liberando ovos nas fezes até o fim do experimento.

Tabela 2: Média de ovos de *Schistosoma mansoni* nos diferentes estágios em fragmentos do jejuno de camundongos, sacrificados após 15 dias do término do tratamento com Praziquantel em diferentes doses durante 5 dias consecutivos.

Grupo Experimental	Dose	Média de ovos nos diferentes estágios de desenvolvimento no jejuno (%)					
		1°	2°	3°	4°	Maduro	Inviáveis
Controle	-	13,83 ± 3,16	17,55 ± 2,63	15,63 ± 2,94	15,38 ± 2,7	32,63 ± 4,97	7,95 ± 1,109
Praziquantel	25 x 5	-	-	-	-	-	100
	50 x 5	-	-	-	-	-	100
	100 x 5	-	-	-	-	-	100
	200 x 5	-	-	-	-	-	100

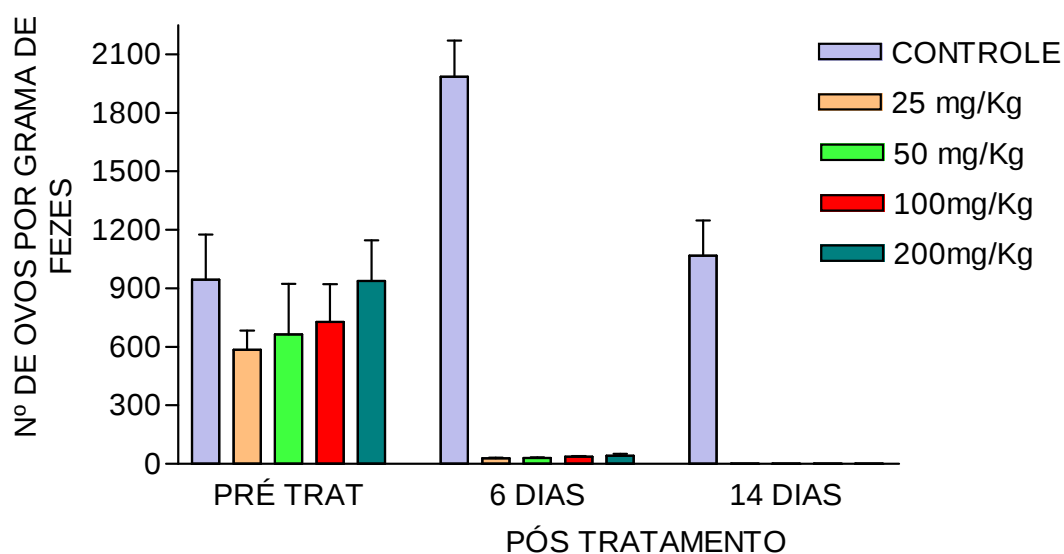


Figura 15 : Número de ovos por grama de fezes nos diferentes grupos – tratados (PZQ) e controle

A análise histopatológica dos fígados de camundongos infectados com *S. mansoni* sob ação do o PZQ, independentes das doses utilizadas, revelaram presença de granulomas

ativados e esparsos na periferia do órgão, envoltos por células epitelióides e intenso infiltrado linfocitário (Figura 16 A e B).

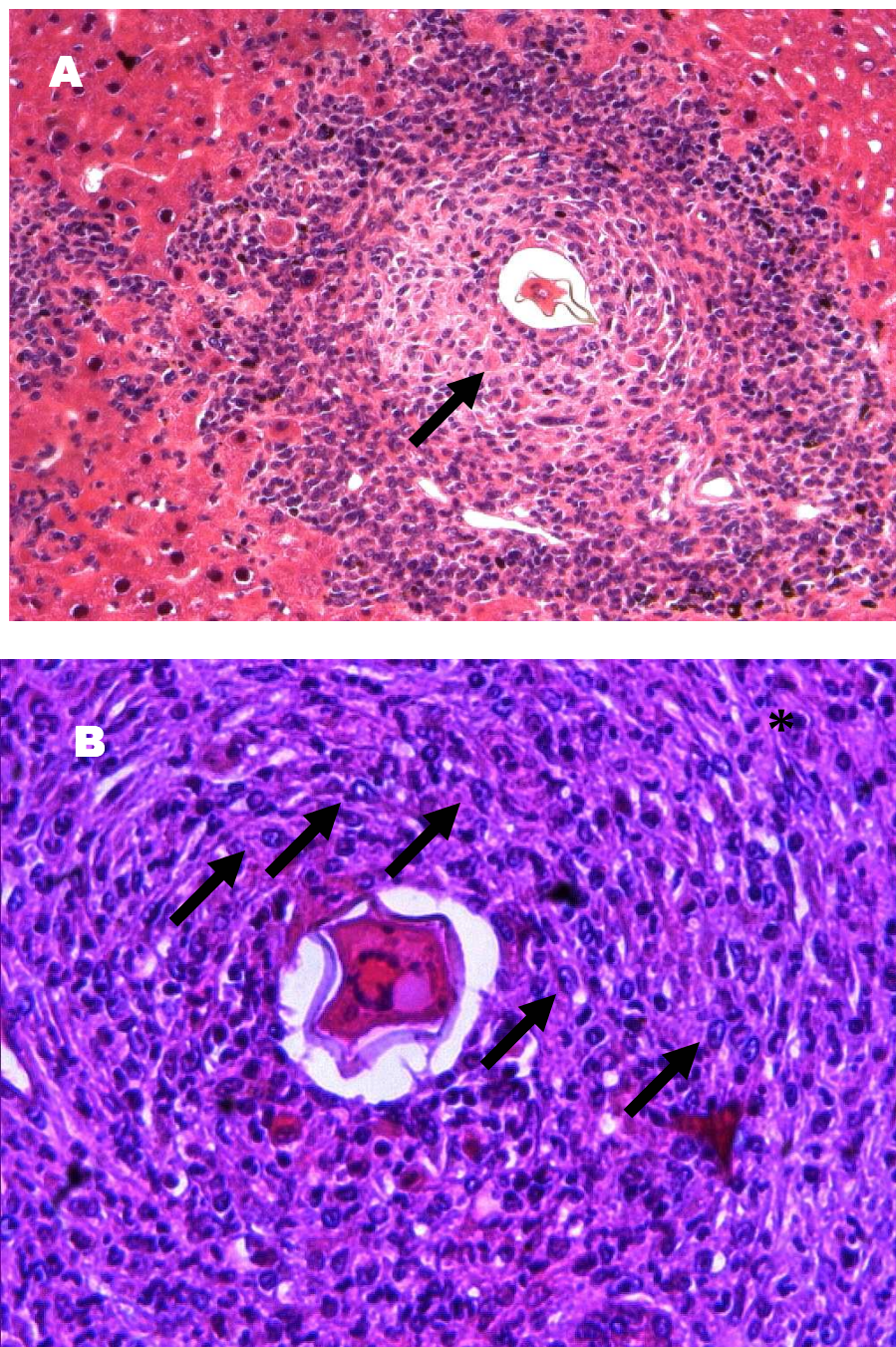


Figura 16: Fotomicrografias de granulomas esquistossomóticos em camundongos tratados com PZQ. **A)** Granuloma ativado observado no fígado, HE (100X), **B)** Granuloma com restos de um ovo no centro, envolto por células epitelióides (setas) e infiltrado linfocitário (asterisco), TM (400X).

Não observamos presença de granulomas esquistossomóticos na região de submucosa intestinal de animais tratados com PZQ na dose de 50 mg/Kg; ao contrário do grupo controle onde foram encontrados granulomas na submucosa e serosa intestinal (Figura 17 A e B, respectivamente). Esses resultados corroboram com os achados de Weiner (2001), que enfatiza uma potente resposta imunomodulatória na parede intestinal e ativação de nódulos linfáticos regionais sob ação do Praziquantel.

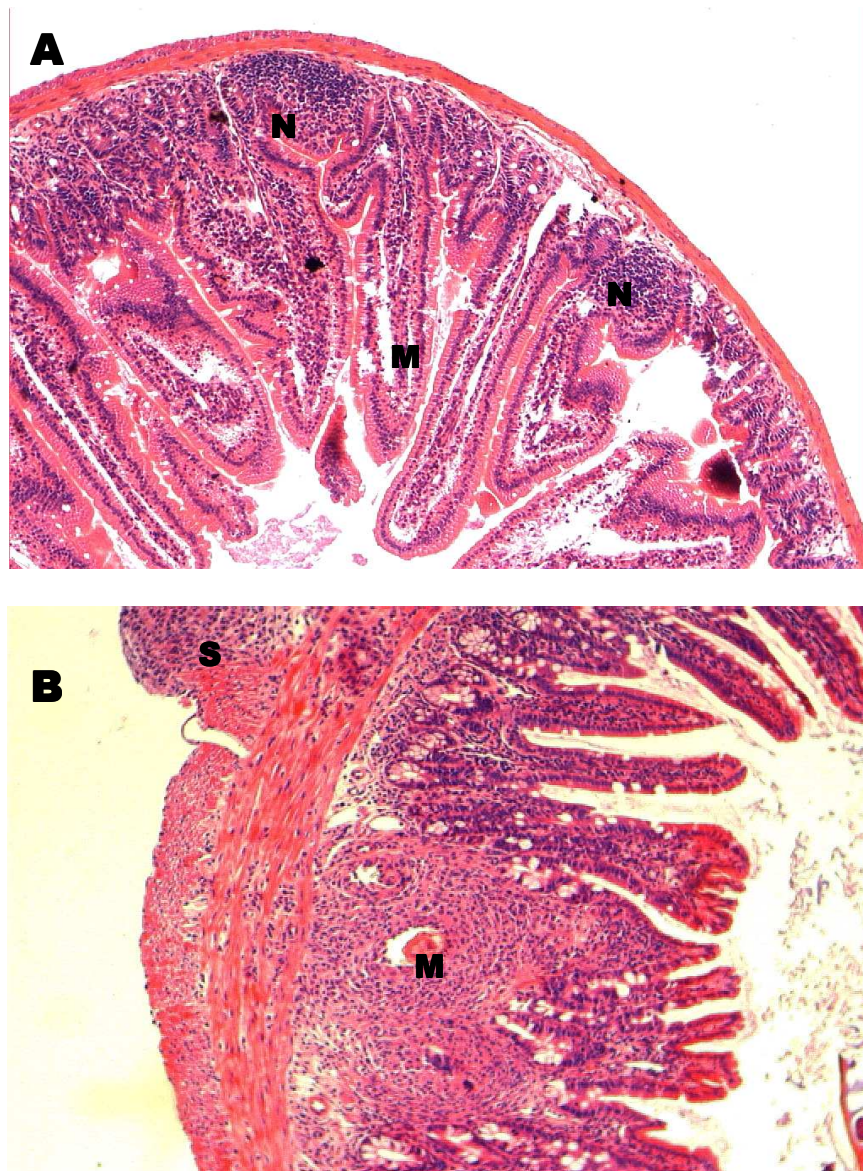


Figura 17: Fotomicrografias da mucosa intestinal de camundongos tratados com PZQ e controles. **A)** Tratados mostrando nódulos linfáticos (**N**) ativados em região de submucosa intestinal. (100X), **B)** Controle com granulomas invadindo as camadas intestinais, especialmente a submucosa (**M**) e a serosa (**S**) (100X).

Para avaliação da atividade do FZ-4 foram infectados grupos de camundongos para tratamento por via oral, nas doses de 25, 50 e 100mg/Kg durante cinco dias consecutivos.

A tabela 3 mostra os resultados da atividade esquistossomicida dos camundongos tratados com FZ-4 realizada 15 dias após o término do tratamento.

Tabela 3: Atividade esquistossomicida de diferentes dose do FZ-4 contra *Schistosoma mansoni* cepa BH em camundongos após 15 dias do término do tratamento.

Grupo Experimental	Dose	Número de vermes recuperados						Eficácia
		Machos	Fêmeas	Total	Variação	Média	Desvio Padrão	(%)
Controle	-	5,2	1	6,2	4-11	3,1	2,96	-
FZ-4	25 x 5	6,8	1,2	8	1-16	4	3,95	Não houve
	50 x 5	10,3	2,5	12,8	7-26	6,4	5,51	
	100 x 5	10,1	2,5	12,6	6-27	6,3	5,37	

Observa-se que o número de vermes recuperados no grupo controle foi aproximadamente seis vezes menor do que o grupo controle do Praziquantel, e menor também em relação aos grupos tratados com FZ-4 havendo predomínio de vermes machos; este insucesso na infecção inviabilizou a determinação da eficácia deste derivado imidazolidínico em reduzir a carga parasitária.

Os animais tratados com FZ-4 não apresentaram alteração do oograma quando avaliados após 15 dias do término do tratamento, o que não indica que o FZ-4 não seja capaz de interferir na oviposição, esta pode ter ocorrido no intervalo de 15 dias e já ter sido restabelecida no período em que foi analisado. Todavia, a droga na dose de 25mg/kg apresentou significativo aumento no número de ovos inviáveis com $p < 0,05$ quando comparado ao controle e quando comparado às doses de 50 e 100mg/kg. Observa-se na

figura 18 que o aumento no número de ovos inviáveis no grupo de animais tratados com a dose de 25mg/Kg é compensado por uma diminuição no número de ovos maduros, mas esta não se mostrou significativa, tal observação sugere atividade ovicida sobretudo em ovos maduros.

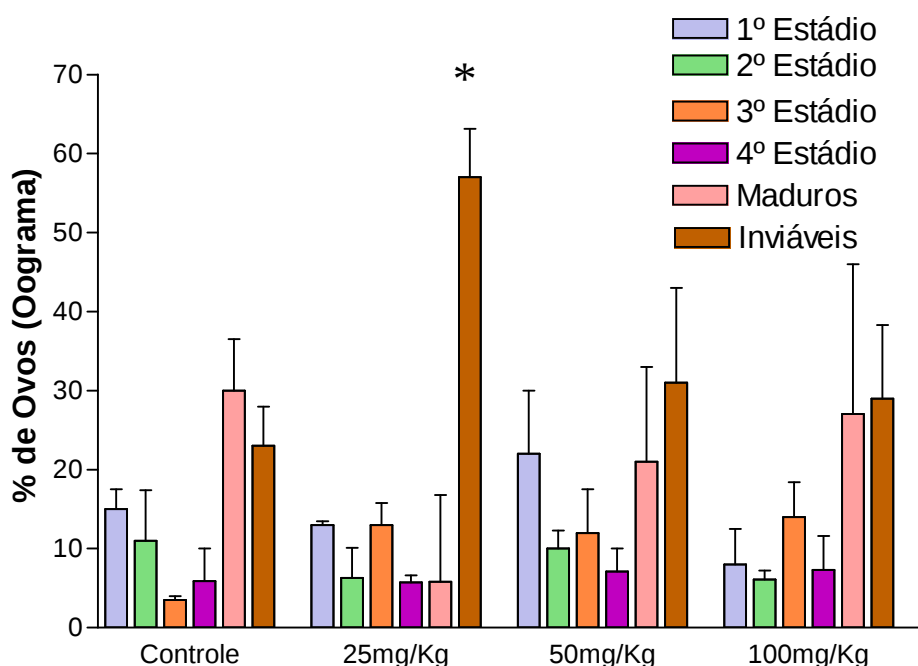


Figura 18 : Média de ovos de *Schistosoma mansoni* nos diferentes estádios em fragmentos do jejuno de camundongos, sacrificados após 15 dias do término do tratamento com FZ-4 em diferentes doses durante 5 dias consecutivos. * $p < 0,05$.

A figura 19 mostra a quantidade de ovos por grama de fezes, nos grupos controle e tratados com FZ-4 (nas doses de 25, 50 e 100mg/Kg) no 49º dia após a infecção (pré-tratamento) e no 2º, 6º e 14º dias após o término do tratamento. Quarenta e nove dias após a infecção todos os animais apresentaram uma média de 36 ovos por grama de fezes, apenas aqueles do grupo que foram posteriormente tratados com 100mg/Kg de FZ-4

apresentaram uma média de 43 ovos. Quando a análise foi realizada no segundo dia após o término do tratamento, em todos os grupos houve aumento no número de ovos o que é de se esperar, pois neste período os ovos que já estavam postos na submucosa intestinal naquele momento estavam alcançando a luz do intestino e se misturando as fezes. Há uma tendência com o passar dos dias, a se manter a média de ovos que alcançam a luz intestinal como ocorre com os animais do grupo controle, a média considerada baixa foi devido ao fato da carga de vermes ter sido reduzida. Os grupos tratados com FZ-4 apresentaram redução no número de ovos quando analisados no sexto e décimo quarto dias após o término do tratamento. Com o grupo de 100mg/Kg observou-se uma diminuição do número de ovos até o 6º dia permanecendo constante até o 14º dia.

Quando administrado por via intraperitoneal o FZ-4 reduziu a carga parasitária em 48% e em 24 % nas doses de 25mg/Kg e 10mg/Kg respectivamente, administradas durante cinco dias, com 100 % de alteração no oograma. No entanto, doses mais elevadas (125mg/Kg) não foram totalmente absorvidas pelo organismo, onde foram detectados pellets do composto no local da administração, confirmado pelo estudo de solubilidade em pH fisiológico realizado no referido trabalho (BATISTA, 2006).

A análise da susceptibilidade de *Schistosoma mansoni* frente ao FZ-4 sugeriu que este derivado imidazolidínico foi capaz de interferir com a viabilidade dos ovos e com o número destes eliminados por grama de fezes, mas não foi possível avaliar a sua eficácia em reduzir a carga parasitária em virtude da falha registrada na infecção dos animais quanto ao número de vermes obtidos.

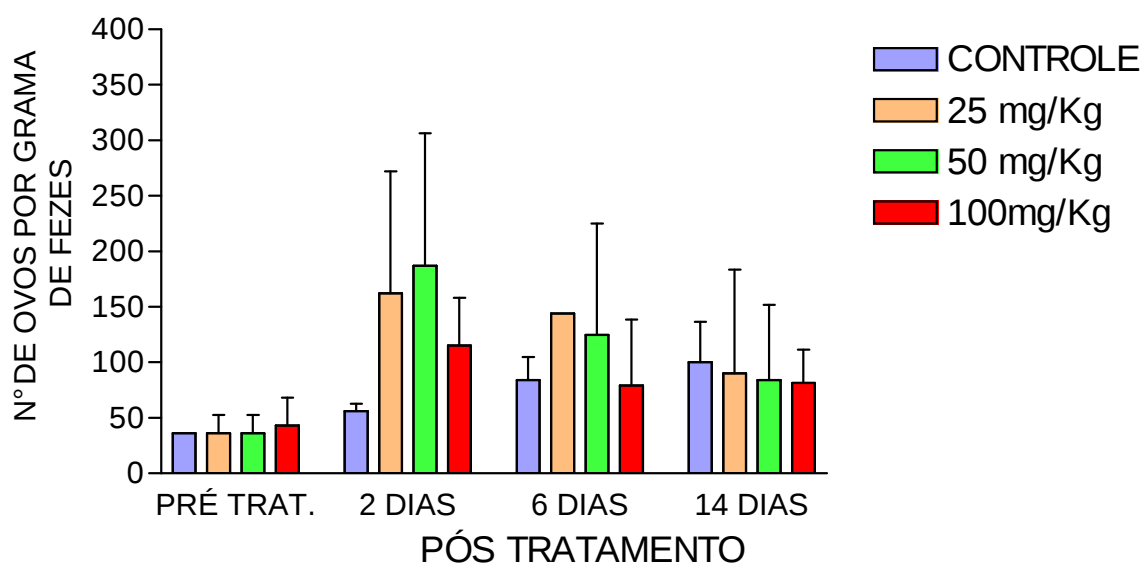


Figura 19: Número de ovos por grama de fezes (Método de Kato Katz) nos grupos controle e tratados com FZ-4.

Evidente redução da área de fibrose foi observada com o uso do FZ-4 na dose de 100 mg/Kg (Figura 20A), ao contrário do que observamos com as doses de 25 ou 50 mg/Kg (Figura 20B).

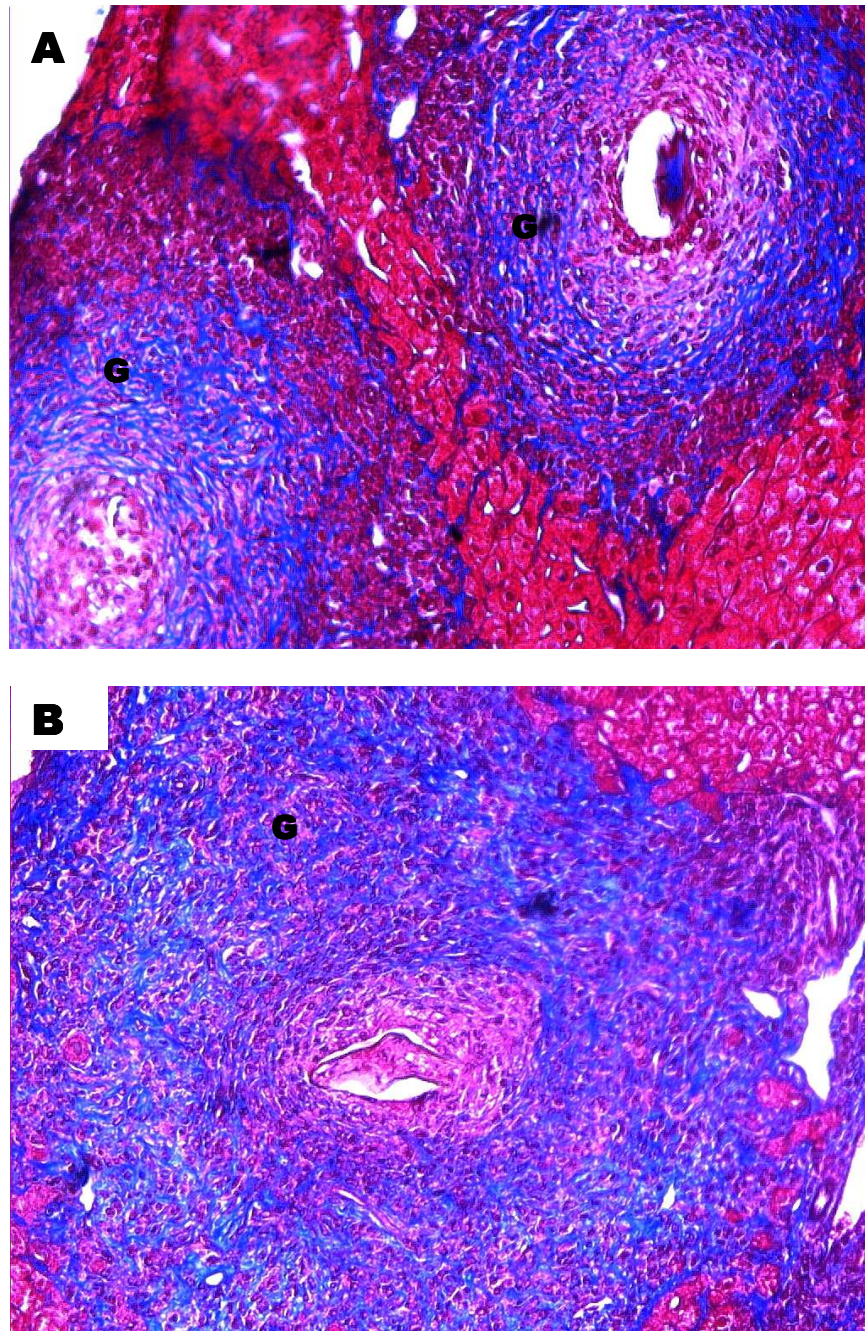


Figura 20: Fotomicrografias de granulomas hepático em camundongos tratados com FZ-4. **A)** Dose de 100mg/Kg, TM (200X). **B)** Dose de 50mg/Kg. **(G)** Intensa reação granulomatosa em torno do resto de um ovo no parênquima hepático. TM (200X).

Achados da literatura enfatizam a ação das células satélites hepáticas (HSCs) no processo de fibrose granulomatosa induzida por ovos de *Schistosoma mansoni* e a

importância dessas células como moduladores na progressão da doença (RAMM et al., 1997; GEERTS, 2001; CASSIMAN et al., 2002; IREDALE, 2003; BARTLEY et al., 2006). A ação moduladora do FZ-4 possivelmente pode está relacionada à inibição da ativação dessas células.

Durante o curso de tratamento com o FZ-4, observamos também na dose de 100 mg/Kg, que boa parte dos animais ao receberem essa dose não apresentaram infiltração granulomatosa e sim ativação de nódulos linfáticos presentes na região de submucosa intestinal do sistema digestório (Figura 21). Alguns autores referem o espalhamento dos granulomas em algumas camadas intestinais (LOPES DE FARIA et al., 1999) e conseqüentemente quando ocorre uma grande liberação de ovos, esses são geralmente depositados em todas as camadas do trato digestório (LAMYMAN et al., 2006).

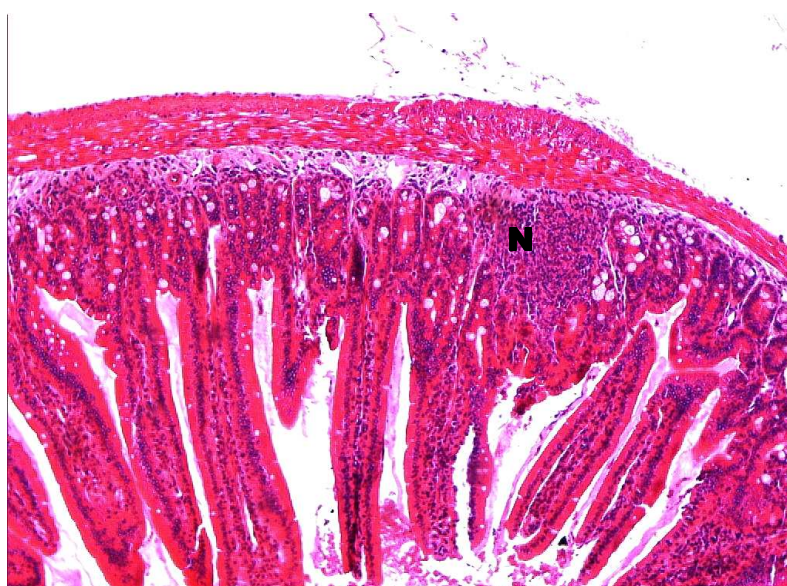


Figura 21: Fotomicrografia da mucosa intestinal de camundongos tratados com FZ-4 (100 mg/Kg). (N) Nódulo linfático ativado em região de submucosa intestinal (100X).

7. CONCLUSÕES

7. CONCLUSÕES

O tratamento com praziquantel de animais infectados com *S. mansoni* cepa BH, mostrou cura parasitológica comprovada através de perfusão do sistema porta-hepático e mesentérico, pelo método de Kato-Katz e oograma.

O derivado imidazolidínico FZ-4 não foi efetivo em reduzir a carga parasitária de camundongos infectados com *S. mansoni* cepa BH, nem alterar o oograma; apesar de revelar um maior número de ovos inviáveis nos grupos tratados em relação ao controle.

A ação moduladora do FZ-4 (100 mg/Kg) em reduzir as áreas de fibrose dos granulomas esquistossomóticos pode estar relacionada à inibição da ativação das células satélites hepáticas (HSCs).

A análise histopatológica demonstrou que a dose de 100 mg/Kg do FZ-4 foi eficaz em proteger a mucosa intestinal da reação granulomatosa, ativando nódulos linfáticos locais.

Devido à insolubilidade do FZ-4 devem ser efetuados estudos para otimizar sua administração para garantir uma passagem mais efetiva do composto através das barreiras biológicas, podendo desta forma alcançar o alvo desejado em concentrações adequadas.

Diante da capacidade do FZ-4 em reduzir áreas de fibrose dos granulomas, surge a necessidade de se estudar o efeito do derivado sobre o processo inflamatório granulomatoso.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARTLEY, P.B.; RAMM, G.A.; JONES, M.K.; RUDDALL, R.G.; LI, Y.; McMANUS, D.P. A contributory role for activated hepatic stellate cells in the dynamics of schistosoma japonicum egg-induced fibrosis. **International Journal for Parasitology**, v. 36, p. 993-1001, 2006.

BATISTA, C.M. **Avaliação da atividade esquistossomicida do FZ-4 encapsulado em lipossomas**, Dissertação de mestrado – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco. Recife. Brasil. 2006.

CASSIMAN, D.; LIBBRECHT, L.; DESMET, V.; DENEFF, C.; ROSKAMS, T. Hepatic stellate cell/myofibroblast subpopulations in fibrotic human and rat livers. **J. Hepatol.**, v. 36, p. 200-209, 2002.

CHITSULO, L.; ENGELS, D.; MONTRESOR, A.; SAVIOLI, L. The global status of schistosomiasis and its control. **Acta Tropica**, v.77, p.41-51, 2000.

CIOLI, D.; PICA-MATTOCCIA, L.; ARCHER, S. Antischistosomal drugs: past, present ... and future? **Pharmacology & Therapeutics**, v. 68. p. 35-85, 1995.

DRESCHER, K.M.; ROGERS, E.J.; BRUCE, J.I.; KATZ, N.; DIAS, L.C.S.; COLES, G. Response of drug resistant isolates of Schistosoma mansoni to antischistosomal agents. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v.88, p. 89-95, 1993.

FUNASA. Esquistossomose mansônica. in: **Guia de Vigilância Epidemiológica** / Fundação Nacional de Saúde. 5ª ed. vol.I, Brasília. p.282-286, 2002.

GEERTS, A. History, heterogeneity, developmental biology, and functions of quiescent hepatic stellate cells. **Semin. Liver. Dis.**, v. 21, p. 311-335, 2001.

IREDALE, J. Cirrhosis: new research provides a basis for rational and targeted treatments. **Br. Med. J.**, v. 327, p. 143-147, 2003.

KATZ, N.; CHAVES, A. & PELLEGRINO, J. A simple device for quantitative stool thrick smear technique in schistosomiasis mansoni. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v.14, p.397-400, 1972.

LAMYMAN, M.J.; NOBLE, D.J.; NARANG, S.; DEHALVI. N. Small bowel obstruction secondary to intestinal schistosomiasis. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 100, p. 885-887, 2006.

LESCANO, S. Z.; CHIEFFI, P.P.; CANHASSI, R. R.; BOULOS, M.; NETO, V.A. Antischistosomal activity of artemether in experimental Schistosomiasis mansoni. **Rev Saúde Pública** 38(1), 2004.

LOPES DE FARIAS et al. **Patologia Especial com Aplicações Clínicas**. 2^a Ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan. P. 362-381, 1999.

OLIVEIRA, S.M; ALBUQUERQUE, M.C.P.A. A resposta do Schistosoma mansoni in vitro frente a derivados imidazolidínicos. **Acta Farm. Bonaerense**, vol.23; n.3; p. 343-8; 2004.

PELLEGRINO, J., FARIA, J. The oogram method for the screening of drugs in schistosomiasis. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**. V.14, n.3, p. 363-369, 1965.

PELLEGRINO, J., KATZ, N. Experimental chemotherapy of schistosomiasis IV-oogram studies with nicarbazin, an egg-suppressive agent. **Rev. Inst. Med. Trop.** São Paulo, v.11, n. 3, p. 215-221, 1969.

RAMM, G.A.; CRAWFORD, D.H.; POWELL, L.W.; WALKER, N.I.; FLETCHER, L.M.; HALLIDAY, J.W. Hepatic stellate cell activation in genetic haemochromatosis. Lobular distribution, effect of increased hepatic iron and response to phlebotomy. **J. Hepatol.**, v.26, p. 584-592, 1997.

SANTOS, G.R.; ALMEIDA, S.V.; LEITE, L.C.C. Schistosomiasis- a century searching for chemotherapeutic drugs. **Parasitol Res.** 2006.