

ANÁLISE DO EFEITO POTENCIALIZADOR DA OXIGENAÇÃO HIPERBÁRICA (HBO) EM ANIMAIS INFECTADOS POR *Plasmodium spp.* E TRATADOS COM ANTIMALÁRICOS CONVENCIONAIS

Marcele Fontenelle^{1,2}, Stefanie C.P. Lopes^{1,2}, Yara C. Blanco^{1,2}, Selma Giorgio², Fabio T. M. Costa^{1,2}

¹ Departamento de Microbiologia e Imunologia, Universidade Estadual de Campinas- UNICAMP

¹ Campinas, SP. C.P. 6109. 13083-862. Brasil.

² Departamento de Parasitologia, UNICAMP.

Agência Financiadora: PIBIC - CNPq

Introdução

A malária infecta 300-500 milhões de pessoas e leva ao óbito de 1-2 milhões de indivíduos anualmente, sendo a principal doença parasitária do mundo. Durante décadas, a malária vem sendo alvo de intensas campanhas com o objetivo de erradicar a transmissão do parasita por meio de inseticidas e quimioterapia. As estratégias que estão sendo utilizadas no combate à malária não têm sido muito eficazes, devido principalmente ao surgimento de cepas de parasitas resistentes às drogas convencionalmente utilizadas; em particular a cloroquina (CQ). Além disso, estudos mostram que espécies reativas de oxigênio são fundamentais para a eliminação de eritrócitos infectados por *Plasmodium sp.* tanto em humanos quanto em modelo experimental. Estas observações abrem perspectivas para o desenvolvimento de terapias capazes de causar uma alteração neste estado redox induzido pelo parasita, principalmente durante a degradação da hemoglobina. Nesse sentido, vários antimaláricos clinicamente utilizados atuam, em parte, aumentando o estresse oxidativo no parasita; e vários antibióticos, fungicidas e outras drogas antiparasitárias têm atividade aumentada em ambiente de oxigenação hiperbárica (HBO). Neste estudo analisamos o uso da HBO como potencializador de antimaláricos convencionalmente utilizados em animais infectados com *Plasmodium chabaudi chabaudi* (Pcc); modelo experimental para malária humana.

Material e Métodos

Camundongos C57BL/6 (6-8 semanas) foram injetados i.p. com 10^6 hemácias murinas infectadas pelo Pcc e tratados com diferentes doses de antimaláricos convencionais, artesunato (ART) e cloroquina (CQ), para a determinação do ED₅₀, dose necessária para reduzir em 50% a parasitemia dos animais infectados. Em seguida, animais infectados com Pcc foram tratados durante 8 dias consecutivos (0-7 pós-infecção) com dose ED₅₀ do artesunato ou cloroquina sendo expostos, ou não, a HBO, (100% O₂, 3 ATA) por 1 hora, diariamente. Como controle, os animais foram injetados apenas com salina ou foram apenas expostos a oxigenação hiperbárica (HBO). Em todos os ensaios, as parasitemias expressas correspondem a porcentagem de eritrócitos infectados (EI) em pelo menos 1.000 hemácias no dia 07 de infecção, já a inibição de parasitemia foi determinada em relação aos animais controle injetados apenas com salina.

Resultados e Discussão

De acordo com as Figuras 1A-B é possível observar que o tratamento com diferentes doses de ART ou CQ resultou numa diminuição dose dependente da parasitemia. Estes resultados confirmam a atividade antimalárica de ambas as drogas e demonstram a especificidade antiparasitária em decorrência do efeito dose dependente constatado, validando o modelo experimental adotado. Os valores de ED₅₀ determinados nas Figuras 2A-B indicam uma maior eficiência do artesunato (0,9 mg/Kg) em relação a cloroquina (2,1 mg/Kg). Conforme é mostrado, houve uma redução significativa ($P < 0,05$) de parasitemia nos animais tratados somente com o artesunato ou com a cloroquina (Figuras 3A-B) em relação aos grupos não tratados com as drogas e nem expostos à HBO (controles das Figuras 3A-B). Além disso, os tratamentos combinados de HBO e ambas as drogas (HBO+ART e HBO+CQ) resultaram numa parasitemia significativamente ($P < 0,05$) inferior àquela observada nos grupos controles do artesunato e cloroquina. Nossos resultados mostram que a HBO diminui significativamente ($P < 0,05$) o desenvolvimento parasitário dos animais infectados, tratados com CQ e expostos à HBO, em relação aos animais infectados, tratados com CQ e não expostos à HBO (Figura 4B). Estes resultados abrem perspectivas para a utilização e para estudo dos mecanismos de ação da HBO como potencializador da ação antimalárica da CQ. Finalmente, o efeito potencializador da HBO em camundongos tratados com artesunato, outro antimalárico, não foi observado (Figura 4A). A razão da discrepância na capacidade da HBO em potencializar o efeito antimalárico da CQ e não do ART ainda permanece por ser elucidado. No entanto, podemos especular que diferenças nos mecanismos de ação desta drogas possam estar associados a tal efeito.

Figuras

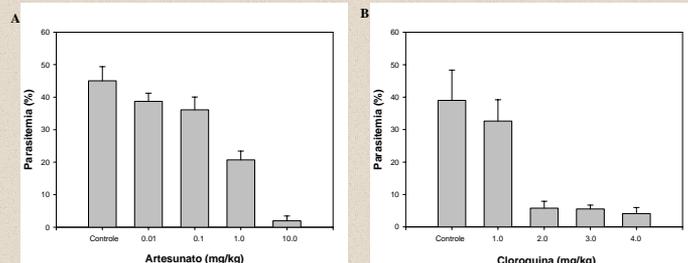


Figura 1: Porcentagem de parasitemia do dia 07 após a infecção com Pcc em animais tratados com diferentes concentrações de artesunato (A) ou cloroquina (B). Grupos de 5-8 camundongos C57BL/6 foram inoculados i.p. com 10^6 EI de Pcc, e tratados, ou não, com diferentes doses de artesunato (A) ou cloroquina (B) administrado i.p. durante os dias 0-7 pós-infecção. A parasitemia expressa corresponde a porcentagem de EI em pelo menos 1.000 hemácias no dia 07 de infecção \pm o desvio padrão.

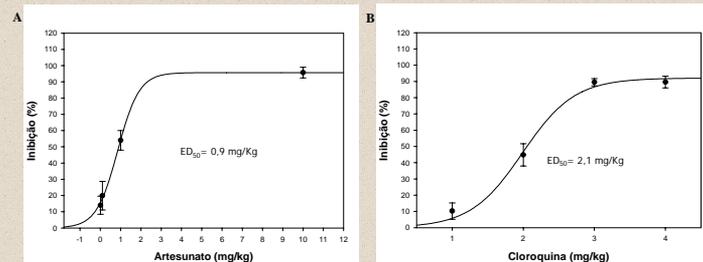


Figura 2: Atividade antimalárica *in vivo* do artesunato (A) e cloroquina (B). Os animais foram inoculados i.p. com 10^6 EI de Pcc e tratados, ou não, com diferentes doses de artesunato (A) ou cloroquina (B) administrados i.p. durante 8 dias consecutivos. A parasitemia foi determinada no último dia do tratamento (dia 7 pós-infecção), e o ED₅₀ foi calculado baseado na dose vs atividade. Os resultados são expressos em porcentagem em relação ao controle (não tratados) \pm o desvio padrão.

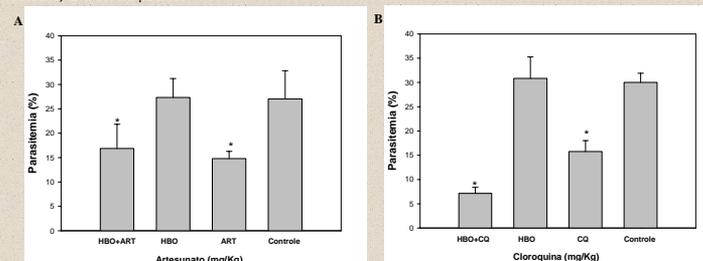


Figura 3: Porcentagens de parasitemia determinadas de animais expostos ou não à HBO e tratados ou não com artesunato (ART; A) ou cloroquina (CQ; B). Grupos de 6-8 animais foram inoculados i.p. com 10^6 EI de Pcc, e tratados nos dias 0-7 pós-infecção com ART (A) ou CQ (B) na presença ou ausência de HBO. Como controle os animais foram injetados apenas com salina na ausência (controle) ou presença de oxigenação hiperbárica (HBO). A parasitemia expressa corresponde a porcentagem de EI em pelo menos 1.000 hemácias no dia 07 de infecção \pm o desvio padrão. * $P < 0,05$; HBO+ART vs. Controle; ART vs. Controle; HBO+CQ vs. Controle; CQ vs. Controle.

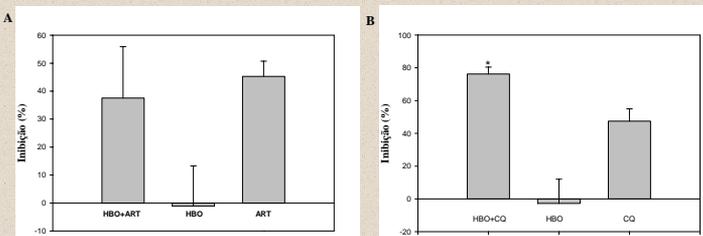


Figura 4: Porcentagens de inibição da parasitemia de camundongos infectados com Pcc, tratados com ED₅₀ do artesunato (ART; A) ou cloroquina (CQ; B) e expostos ou não à HBO. Grupos de 6-8 animais foram inoculados i.p. com 10^6 EI de Pcc e tratados dos dias 0-7 pós-infecção i.p. com a dose equivalente ao ED₅₀ do ART (A) ou CQ (B). Grupos de animais tratados com ART ou CQ foram submetidos à HBO, respectivamente HBO+ART e HBO+CQ. Como controle os animais foram tratados apenas com a droga (ART ou CQ) ou foram apenas expostos à HBO. A inibição de parasitemia foi determinada em relação aos animais injetados apenas com salina e não expostos a HBO \pm desvio padrão. * $P < 0,05$; HBO+CQ vs. CQ.