



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz

Centro de Pesquisas René Rachou
Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde

Terapêutica Experimental e Clínica
na Esquistossomose mansoni

Naftale Katz

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em
Ciências da Saúde para obtenção do título de
Doutor em Ciências da Saúde

Área de concentração: Doenças Infecciosas e Parasitárias

AGOSTO/2005



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz

Centro de Pesquisas René Rachou
Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde

Naftale Katz

Terapêutica Experimental e Clínica
na Esquistossomose mansoni

Aprovada em: 11/08/2005

Examinadores: Alúzio Prata
Giovanni Gazzinelli
Zilton Araújo Andrade
Nívea Nohmi
Paulo Marcos Zech Coelho
Pedro Raso

*Dedico
esta Tese aos meus saudosos pais,
David Katz e Chana Katz,
e ao meu pai científico José Pellegrino,
pelo muito que me deram*

Agradecimentos

Esta é uma tese pouco convencional. Em primeiro lugar, porque não é comum que um pesquisador já aposentado resolva candidatar-se ao título de doutor; em segundo, porque a tese ora apresentada realiza uma revisão de dois temas ainda muito importantes referentes á terapêutica da esquistossomose mansoni, uma das mais importantes endemias parasitárias no Brasil e também no mundo; em terceiro porque ao invés de 3 a 5 trabalhos já publicados que passam a ter um corpo único e são apresentados como tese, como é comum se fazer, nesta é citada uma grande parte das dezenas de trabalhos realizados pelo pretendente ao doutoramento nestes temas.

De fato, publiquei até o momento 248 trabalhos científicos, em periódicos nacionais e estrangeiros sendo que destes 76 são relacionados aos temas da terapêutica experimental e/ou clínica da esquistossomose mansoni.

No anexo I encontram-se cópias de cada um destes trabalhos, bem como a classificação por palavras-chaves. Foram 40 os trabalhos em terapêutica experimental, e 36 em terapêutica clínica; na parte experimental foram avaliados 21 drogas e escritos 8 trabalhos referentes a técnicas e metodologias de avaliação. Na parte clínica, está incluído o estudo de drogas, sendo que os ensaios clínicos com hycanhone, oxamniquina e praziquantel (todas essas drogas foram introduzidos no mercado brasileiro) tiveram desde o início de seu desenvolvimento, a participação do autor, destacando-se o praziquantel cujo primeiro ensaio clínico no mundo, em esquistossomose mansoni, foi realizado em Belo Horizonte pelo proponente.

No que se refere aos exames para avaliação das drogas e para o diagnóstico, deve-se citar o método quantitativo para o exame das fezes, internacionalmente conhecido como método de Kato-Katz (amplamente utilizado em muitos países e recomendado oficialmente pela Organização Mundial de Saúde). Foram ainda incluídas as revisões sobre os temas acima mencionados.

Os colaboradores foram muitos e com importantes contribuições para a formação e para a minha carreira de pesquisador. Mesmo ocorrendo na falta de não mencionar alguns que deveriam ser destacados, aos quais peço antecipadamente desculpas por não fazê-lo aqui, visando não encompridar muito esta lista, devo salientar e agradecer muitos.

O meu primeiro agradecimento não é na área da orientação científica (ou talvez seja), mas é um reconhecimento público e pessoal, de como foram importantes na minha formação meus pais David Katz e Chana Katz. Meu pai nunca negou qualquer pedido que fosse referente à compra de livros ou gastos com cursos, embora o fizesse com grandes dificuldades, por sempre ter sido pertencente à classe média baixa. Por outro lado, pelo exemplo dos dois, no que se refere ao trato e respeito às pessoas, o conceito de vida, de honestidade, de valores e muito mais. Dedico esta tese a eles.

Quero dedicar esta tese também àquele que, como orientador, amigo, professor, abriria todas as portas para mim, embora não tivéssemos nenhuma relação familiar ou história comum anterior: meu “pai científico” José Pellegrino.

José Pellegrino, foi seguramente uma das pessoas mais competentes e inteligentes que já conheci e com quem tive a honra e o privilégio de conviver. A sua obra ainda haverá de ser reconhecida, após análise dos quase 400 trabalhos científicos publicados, em mais de três décadas, com contribuições originais, principalmente no campo da Doença de Chagas e esquistossomose.

Como estudante de medicina, tive o privilegio de ser monitor de duas cadeiras: a de Anatomia Patológica e de Clínica Médica. Na cadeira de Anatomia Patológica não me esqueço da figura maior de Luigi Bogliolo, que foi pra mim importante orientador de como escrever um trabalho científico, mas também pelo exemplo de liderança e conhecimento na área de esquistossomose. Na mesma Cadeira, tive ainda a sorte de conhecer Pedro Raso, excelente ser humano, além de profundo conhecedor da matéria, amigo e mestre. Menciono ainda os professores Washington Tafuri, Edmundo Chapadeiro, Persio Godoy, Celso Tafuri,

Alberto Raick, que se não abrandaram os sábados e domingos que passei fazendo necrópsias, pelo menos tornaram-os mais instrutivos.

Agradeço também a Caio Benjamin Dias, que dirigiu com competência a Clínica Médica I, defendeu duas brilhantes teses sobre esquistossomose e permitiu que criássemos junto com outros colegas mais velhos e mais experientes (Dário Bittencourt, Emílio Grimbaum, Celso Affonso de Oliveira, Cid Velloso, Hélio Ferreira,) um ambulatório dedicado ao estudo da esquistossomose.

Volto agora às lembranças e agradecimentos aos que conheci e com quem convivi no Centro de Pesquisas René Rachou, aliás, no Instituto Nacional de Endemias Rurais (INERU), que comecei a freqüentar, a convite de José Pellegrino, a partir de dezembro de 1964, uma semana antes da festa de formatura na Faculdade

de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais. A experiência e amizade de Zigman Brener e de Marcelo Vasconcelos Coelho foram muito importantes na minha carreira.

Tive muitos colaboradores, mais ou menos experientes que eu, nas quatro décadas de atividade científica e que foram muito importantes no convívio científico e pessoal. Os 300 colaboradores encontram-se citados nos trabalhos publicados e os amigos e amigas inscritos na memória e no coração. Quero escolher quatro deles, mesmo sabendo que é possível que esteja sendo injusto com os outros. Como, exemplo de colegas de competência científica e de companheirismo que sempre estiveram próximos, cito Emilio Grimbaum (infelizmente já falecido), Roberto Sena Rocha, Paulo Marcos Zech Coelho, Ana Lúcia Rabello e Maria Fernanda Furtado de Lima e Costa.

Ainda no René Rachou não devo deixar de mencionar dois outros importantes colaboradores e amigos, José Pedro Pereira e Omar dos Santos Carvalho e entre as amigas queridas não podem também faltar Alda Lima Falcão e Liléia Diotaiuti.

Embora não tenham sido formalmente co-autores dos meus trabalhos publicados, vários técnicos e secretárias tiveram papel essencial e seguramente foram indispensáveis na minha trajetória. Cito, Gercy de Souza Morais, Antonio Emídio Ferreira, Vanda da Conceição Botelho de Oliveira, José Ribeiro, Áureo de Almeida Oliveira, Marilena Gomes dos Santos, Bernadete Patrícia dos Santos e Vanessa Lopes Pinto Mendes, seja pela competência técnica demonstrada, seja pela dedicação e honestidade profissional.

No Laboratório de Esquistossomose estivemos, durante anos, trabalhando juntos, discutindo e fazendo esquemas de trabalho, Emmanuel Pinto Dias (infelizmente também falecido), Neusa Araújo e Cecília Pereira de Souza. A esses excelentes pesquisadores e amigos o meu afeto e reconhecimento pelo muito que fizeram e fazem.

Novamente, peço desculpas por não poder citar nominalmente todas as pessoas que tiveram influencia sobre a minha vida científica e pessoal, como por exemplo, os colegas da Fundação Oswaldo Cruz e Universidade Federal de Minas Gerais, os sócios da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical e Sociedade Brasileira de Parasitologia e membros da Organização Mundial da Saúde.

Por fim, mas não por último, quero homenagear e agradecer o apoio que sempre tive, mesmo com prejuízo da vida familiar, das ex-companheiras Ruth Necha Myssior e Maria Auxiliadora Bahia, mães de meus filhos e, muito especialmente a

Márcia de Oliveira Roxo, companheira fiel e dedicada que mesmo reclamando, compreende que além dela, são parte integrante da minha felicidade as atividades científicas que desenvolvo.

A meus filhos, Samy, Sheila, Daniel e Cristina, as desculpas pelas ausências e carências que involuntariamente causei. Espero a compreensão de vocês se não me comportei como desejavam, mas só posso invocar a meu favor, o amor à vida e ao próximo, que espero ter transmitido a vocês.

Queridas netas Júlia e Ana espero que o gene da pesquisa científica tenha sido retransmitido a vocês.

Aos milhares de pacientes que tratei e às populações rurais que tanto colaboraram nos muitos estudos realizados, os meus agradecimentos sinceros e profundos.

Não posso deixar de mencionar a comunidade de Baldim como exemplo de área onde iniciei meus estudos de campo e da qual fui agraciado para minha honra e satisfação com o título de “filho da terra”.

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Esquistossomose do Centro de Pesquisas René Rachou/FIOCRUZ, Belo Horizonte, MG-Brasil de 1964 a 2004.

Sumário

Agradecimentos.....	V
Sumário.....	X
Lista de figuras e gráficos.....	XI
Resumo.....	XVI
Abstract.....	XVII
I Terapêutica Experimental na Esquistossomose mansoni.....	18
1 INTRODUÇÃO.....	19
2 MANUTENÇÃO DO CICLO DO S. mansoni NO LABORATÓRIO.....	22
2.1 CRIAÇÃO DE B. glabrata.....	22
2.2 INFECÇÃO DA B. glabrata.....	23
2.3 INFECÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO.....	24
2.3.1 CAMUNDONGO.....	24
2.3.2 HAMSTER.....	25
3 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE TERAPÊUTICA.....	25
3.1 TRIAGEM DE DROGAS in vivo	26
3.2 ENSAIOS NÃO CLÍNICOS	29
3.3 AVALIAÇÃO QUANTITATIVA DA ATIVIDADE ANTI-ESQUISTOSSOMÓTICA	31
3.4 TRIAGEM DE DROGAS in vitro.....	32
4 DROGAS CURATIVAS.....	32
4.1 OXAMNIQUINA.....	33
4.2 PRAZIQUANTEL	35
4.3 ASSOCIAÇÃO DE DROGAS.....	38
5 DROGAS PROFILÁTICAS	39
5.1 DERIVADOS DA ARTEMISININA.....	39
6 DROGAS SUPRESSORAS.....	41
7 RESISTÊNCIA A DROGAS ESQUISTOSSOMICIDAS	42
II Terapêutica Clínica na Esquistossomose mansoni.....	45
1 INTRODUÇÃO.....	46
2 OXAMNIQUINA.....	48
3 PRAZIQUANTEL.....	51
4 DERIVADOS DA ARTEMISININA.....	56
5 RESISTÊNCIA ÀS DROGAS ESQUISTOSSOMICIDAS.....	57
6 ASSOCIAÇÃO DE DROGAS.....	61
7 TRATAMENTO COMO MEDIDA DE CONTROLE.....	63
III Comentários finais	66
IV Referências Bibliográficas.....	68

Lista de figuras e gráficos

FIGURA 1 – Estrutura Química da Oxamniquina.....	XII
FIGURA 2 – Estrutura Química do Prazinquantel.....	XIII
GRÁFICO 1 – Atividade da Oxamniquina (dose de 50mg/kg) contra a infecção imatura do <i>S. mansoni</i> (cepa Puerto Rico) em camundongos (adaptado de Foster, 1973).....	XIV
GRÁFICO 2 – Efeito anti-esquistossomótico da oxamniquina e prazinquantel administrados sozinhos e em associação.....	XV

FIGURA 1 – Estrutura química da oxamniquina.

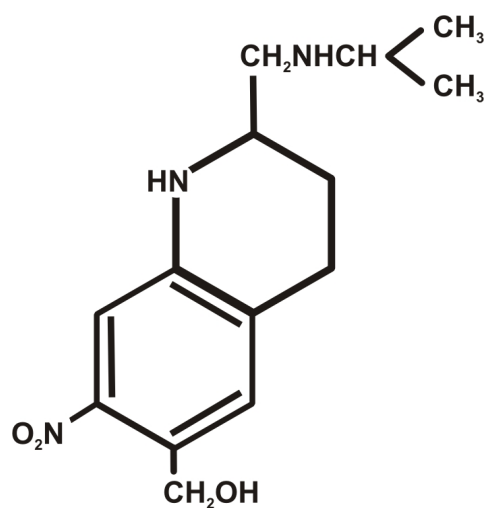


FIGURA 2 – Estrutura química do praziquantel

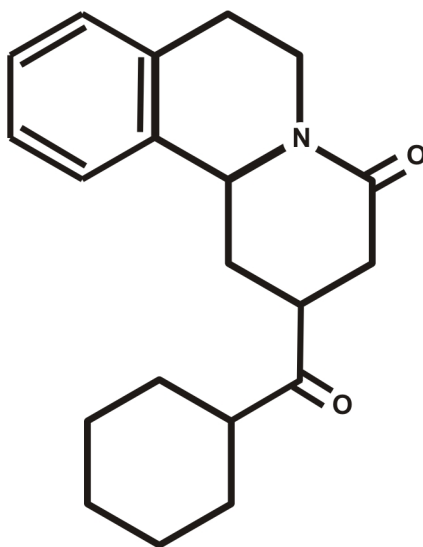


GRÁFICO I - Atividade da oxamniquina (dose única oral de 50 mg/kg) contra a infecção imatura do *S.mansoni* (cepa Puerto Rico) em camundongos (adaptado de Foster, 1973)

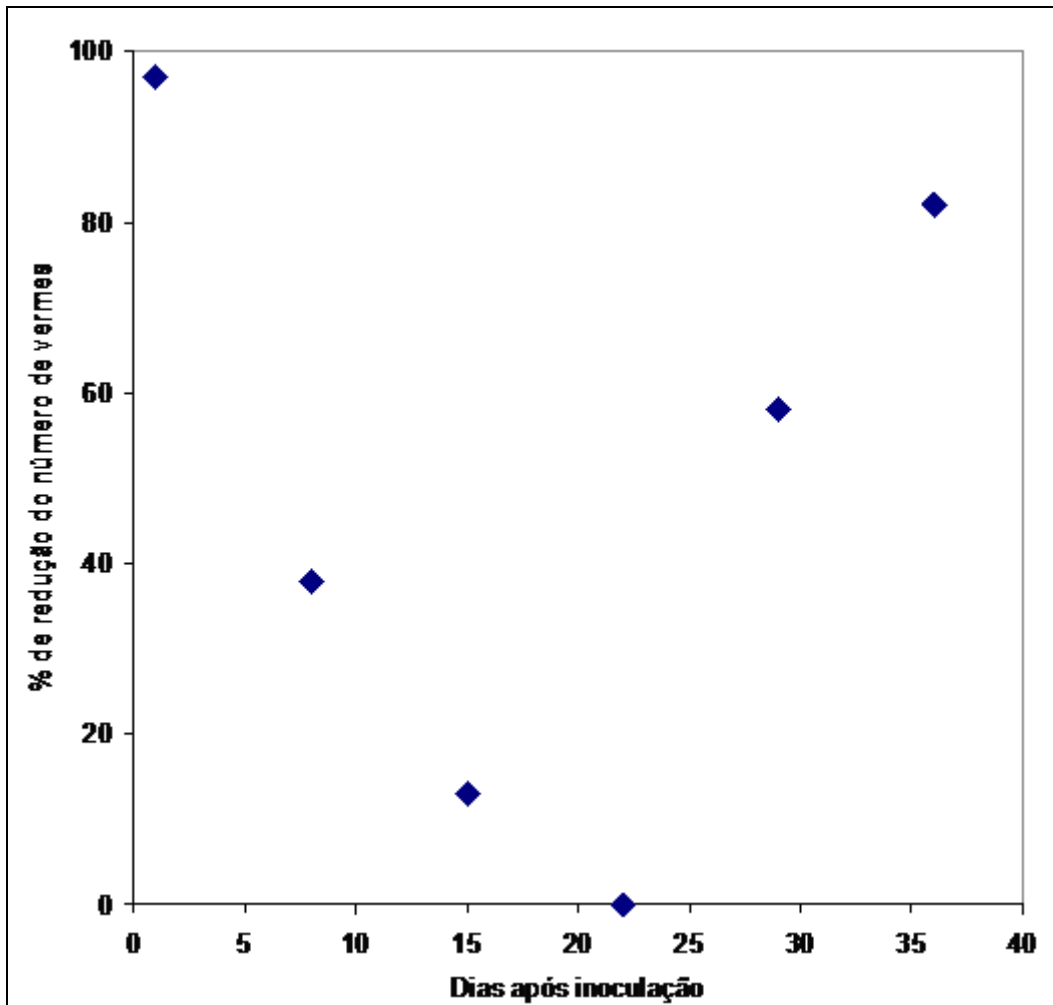
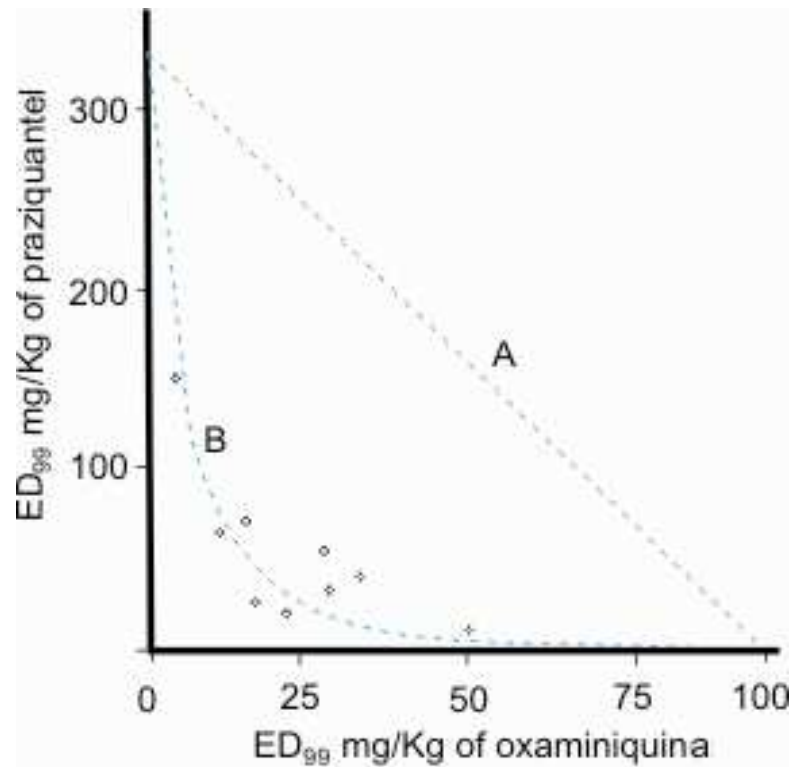


GRÁFICO 2 – Efeito anti-esquistossomótico da oxamniquina e praziquantel administrados sozinhos e em associação.



Os pontos (o) indicam o valor de ED₉₉ da oxamniquina (abscissa) e praziquantel (ordenada) ou em várias combinações das duas. Para revelar efeito aditivo, espera-se que os pontos estejam na linha A (Shaw & Brammer, 1983).

Resumo

Este trabalho sobre quimioterapia da esquistossomose mansoni foi dividido em dois capítulos. No primeiro é feita uma revisão sobre as principais contribuições, no que se refere a manutenção do ciclo do *Schistosoma mansoni* no laboratório, técnicas e metodologia de avaliação de possíveis agentes com atividade anti-esquistossomótica e foi dado ênfase as drogas curativas (especialmente oxamniquina e praziquantel), mas também drogas com ação profilática ou supressora (isto é, que interrompem a postura do *S. mansoni*).

No segundo, sobre terapêutica clínica na esquistossomose mansoni foram considerados os estudos clínicos com oxamniquine, praziquantel e derivados da artemisinina, isto é, drogas que estão sendo usadas atualmente em diversos países.

Foram ainda discutidos importantes problemas que surgiram após o uso destas drogas, como aqueles relacionados à resistência às drogas esquistossomicidas, a associação das mesmas e o papel importante que tem a quimioterapia específica no controle da endemia esquistossomótica.

Como conclusão, embora seja reconhecida que tanto a oxamniquina como o praziquantel sejam bem tolerados e apresentam atividade terapêutica boa, os problemas relacionados a resistência ou baixa susceptibilidade de cepas de *S. mansoni* encontradas em muitos pacientes em diferentes regiões, indicam a necessidade urgente de investimentos para descobrimento de novos agentes esquistossomicidas. Neste sentido deve-se destacar os pesquisadores, brasileiros que junto com órgãos internacionais especialmente a Organização Mundial de Saúde, associados às indústrias farmacêuticas, poderiam em conjunto proporcionar o encontro desses novos esquistossomicidas. Por outro lado, a intensificação do uso da quimioterapia em larga escala nas populações residentes em áreas endêmicas, que ajuda na prevenção das formas hepatoesplênica da esquistossomose mansoni e na diminuição da prevalência nessas áreas, associadas às medidas de saneamento básico, modificações do meio e com o auxílio da educação para a saúde das populações, podem controlar esta endemia, descoberta há 100 anos no nosso país e que ainda acomete milhões de brasileiros.

Abstract

This work on chemotherapy of schistosomiasis mansoni was divided into two chapters. The first chapter is a review on the major contributions related to the maintenance of the life cycle of *Schistosoma mansoni* under laboratory conditions, techniques and methodology for evaluation of possible agents with antischistosomal activity. The author underlines the curative drugs (especially oxamniquina and praziquantel), as well as drugs with prophylactic or surpressor activity (i.e., drugs that interrupt *S. mansoni* egg-laying).

In the second chapter, on clinical therapy in schistosomiasis mansoni, clinical studies with oxamniquina, praziquantel and artemisinine derivatives, i.e., drugs that are currently being used in different countries are reported.

Further, important problems that arose after the use of those drugs are discussed, such as problems related to resistance to antischistosomal drugs, association of these drugs, and the problem of utmost importance connected with the specific chemotherapy in the control of schistosomiasis in endemic areas.

It was concluded that, although it is already recognized that oxamniquina, as well as praziquantel, are well tolerated and show good therapeutic activity, the problems related to resistance or low susceptibility of *S. mansoni* strains detected in many patients in different regions, indicate the urgent need of new antischistosomal agents. In this sense, it must be highlighted that Brazilian researchers together with international organs, as the World Health Organization, that associated to pharmaceutical industries could proportionate the search for new antischistosomal agents.

On the other hand, the intensification of the use of chemotherapy, which helps in the prevention of the hepatosplenic forms of schistosomiasis mansoni, and in the decrease of prevalence in endemic areas associated to basic sanitation measures, environmental changes and with help of health education for the populations, could promote the control of this endemic disease, which was discovered in our country 100 years ago, but it is still affecting millions of Brazilian individuals.

I Terapêutica Experimental na Esquistossomose mansoni

1 INTRODUÇÃO

Nas últimas três décadas houve um significativo avanço da terapêutica da esquistossomose mansoni, com a introdução de duas drogas (oxamniquina e praziquantel), que, administradas em dose única, por via oral, apresentam atividade terapêutica elevada baixos efeitos colaterais, o que permitiu o tratamento de milhões de pessoas infectadas.

É possível que o advento dessas drogas, associado à ocorrência da esquistossomose somente em países em desenvolvimento ou subdesenvolvidos, portanto com baixa capacidade de compra, tenha feito com que as indústrias farmacêuticas não se interessem em investimentos vultosos para descobrirem novos fármacos contra essa, ainda, importante parasitose.

Embora considerando especialmente o praziquantel, como uma droga com muitas das propriedades que se deseja para uma droga ideal, ou seja, com: 1) ausência ou frequência baixa de efeitos colaterais e tóxicos para o homem; 2) alta atividade curativa nas três principais espécies que parasitam o homem (*Schistosoma mansoni*, *S. hematobium* e *S. japonicum*); 3) eficácia em dose única; 4) administração oral; 5) atividade contra todos os estágios do parasita; 6) estabilidade química em comprimidos ou suspensão, com vida longa “na prateleira”, sem necessidade de armazenamento especial, e por último, mas não por fim, 7) baixo custo, continua existindo a necessidade de descobrimento de novos agentes contra a esquistossomose. É claro que poderiam ainda ser acrescentadas outras qualidades, tais como ação sobre todas as cepas do parasita, nas diferentes regiões do mundo, compatibilidade farmacológica com outras drogas, etc. Todavia, as sete qualidades acima referidas bastam para servir como orientação na busca de novos fármacos, pois a droga ideal para a esquistossomose ainda não existe. Não só não existe, como não vem sendo procurada.

Considerada como uma doença negligenciada pela Organização Mundial de Saúde, a esquistossomose tem recebido pouco investimento em pesquisa visando a encontrar nova droga nas últimas décadas. De fato, progressos significativos não têm sido alcançados também no desenvolvimento de novas técnicas para o estudo experimental de novos fármacos na esquistossomose. Portanto, para revisões mais detalhadas sobre técnicas de manutenção do ciclo e dos testes de avaliação de drogas, continuam válidas as revisões feitas por Standen 1963, Pellegrino & Katz,

1968 e Katz & Pellegrino, 1974. Para uma visão atualizada sobre drogas em uso hoje em dia e ou em desenvolvimento, sugere-se a revisão de Cioli *et al.* 1995.

Na busca de novos fármacos para a terapêutica experimental deve-se considerar os objetivos a se alcançarem e assim se pode ter drogas com atividades diferentes, que, portanto, terão abordagens diversas para serem encontradas como: drogas profiláticas, que irão prevenir a infecção, pois agiriam nas formas jovens do verme; drogas supressoras, que acabem com a postura das fêmeas e, portanto, eliminem o principal agente patogênico, o ovo, além de interromper a transmissão da parasitose; e drogas curativas, que matam todos (ou quase) os vermes maduros, interrompendo a infecção.

Uma quarta abordagem poderia ser a da droga anti-patologia, isto é, que produziria a reversão das lesões já ocasionadas pelo *S. mansoni*, especialmente a reversão da fibrose e das alterações hemodinâmicas. Hoje sabemos que, para as drogas esquistossomicidas que têm sido utilizadas na rotina clínica, essa involução acontece após um ou dois anos da cura especialmente nos casos da forma hepatoesplênica recente, mas esse assunto não será tratado neste texto.

Para o encontro de novos agentes esquistossomicidas, três abordagens têm sido utilizadas, a saber: a empírica, a seletiva e a bioquímica. Nos últimos anos foi acrescentada uma quarta abordagem, que é a genômica.

A abordagem empírica é aquela segundo a qual se usa um grande número de fármacos sem nenhuma seleção prévia, visando encontrar uma substância líder ou guia. Essa abordagem exige uma procura da agulha no palheiro (Standen 1979). Como essa metodologia é muito dispendiosa, pois são milhares as substâncias a serem triadas, tentativas foram feitas para se utilizar o teste *in vitro*, no qual a droga é adicionada ao meio de cultura, onde os vermes de *S. mansoni* sobrevivem por várias semanas. Todavia, não foi encontrada correlação entre a atividade esquistossomicida *in vitro* (*S. mansoni*) e *in vivo* (camundongos) de vários fármacos, a saber, diaminodifenoxialcanos, alta atividade *in vivo* (Raison & Standen 1955) e baixa *in vitro* (Bueding & Penedo 1957); glucosamina, que demonstrou alta atividade *in vitro*, sem atividade *in vivo* (Brener 1960). Vale a pena citar os compostos Miracil D e UK 3883, que não apresentam atividade *in vitro* contra os vermes de *S. mansoni*, mas após serem administrados nos animais (e no homem) dão origem a metabólitos hidroximetilados, que são respectivamente: o hycantone e a oxamniquina, e que passam a apresentar ação contra os vermes *in vitro* (Cioli *et al.* 1995).

A abordagem seletiva pede a investigação biológica de compostos quimicamente derivados daquele guia que anteriormente demonstrou ter alguma atividade esquistossomicida.

Os conhecimentos hoje permitem várias modificações químicas estruturais em compostos promissores para que, através de ensaios, chegue-se a melhor estrutura/atividade de uma droga.

Seguramente, todas as drogas utilizadas na clínica como esquistossomicidas passaram por essa fase (por exemplo: Miracil D, que deu origem ao hycantone, e o mirasan para a oxamniquina), (Foster & Cheetham 1973).

A abordagem bioquímica é aquela que através do conhecimento interno dos processos metabólicos do parasita, sejam químicos ou fisiológicos, visa encontrar agentes que possam interferir sobre as mesmas. Apenas para exemplificar, recentemente, com base na incapacidade dos vermes de *S. mansoni* de produzir ácidos graxos foi demonstrada a possível utilidade da lovastatina, potente inibidor da síntese endógena do colesterol, em uso clínico corrente como anticolesterolêmico (Araújo *et al.* 2002).

A mais recente abordagem, a genômica, surge como uma grande promessa. De fato, através do conhecimento da seqüência genética no parasito, e em comparação com os genes existentes em outros seres vivos, seria possível encontrar alvos farmacológicos para compostos, que já estejam inclusive em uso clínico para outras doenças.

No presente texto, serão abordados aspectos fundamentais como a manutenção do ciclo do *S. mansoni* em condições de laboratório, animais utilizados no laboratório, os métodos para triagem de drogas e para os ensaios não clínicos e os resultados experimentais de alguns compostos que vêm sendo utilizados na clínica para tratamento da esquistossomose ou que ainda se encontram em fase de desenvolvimento.

2 MANUTENÇÃO DO CICLO DO *S. mansoni* NO LABORATÓRIO

A manutenção do ciclo do *S. mansoni* no laboratório é fundamental para a obtenção de resultados confiáveis. É requisito para todos os laboratórios, inclusive aqueles localizados em zonas endêmicas. É necessário que sejam utilizadas metodologias e amostras padronizadas, tanto do parasita como dos hospedeiros vertebrados e invertebrados, e mantidas as boas práticas de laboratório.

A manutenção do ciclo do *S. mansoni* é geralmente feita com camundongos albinos e caramujos *Biomphalaria glabrata*.

2.1 CRIAÇÃO DE *B. glabrata*

Para manutenção do caramujo em laboratório devem ser utilizados aquários (de vidro ou de plástico), com água corrente e boa oxigenação. A água utilizada deve ter pH entre 7,2 a 7,8 e ser isenta de cloro, cobre ou zinco, que mesmo em quantidades mínimas dificultam a sobrevivência dos caramujos. Para tanto, a água será filtrada e tratada ou deverá ser proveniente de poço, analisada e testada previamente.

As desovas são obtidas facilmente colocando-se os caramujos adultos finais e estendendo-se na superfície da água do aquário, folhas de polietileno ou placas de isopor, preferencialmente nas quais os caramujos depositam, suas desovas. Mantida a temperatura constante em torno de 24°C, os caramujos eclodem após seis dias. Esses caramujos recém-eclodidos devem ser mantidos por duas semanas com uma dieta constituída de uma mistura de ração balanceada para roedores acrescida 10% carbonato de cálcio, em forma de pasta. Em seguida, são transferidos para aquários de vidro ou caixas plásticas tendo ao fundo uma camada de areia, recoberta por uma camada de terra finamente pulverizada e autoclavada previamente e com adição de carbonato de cálcio. A oxigenação, muito importante, pode ser feita através de borbulhamento de ar comprimido. A alimentação é constituída de alface fresca, lavada em solução de ácido acético a 10% e ração para roedores, em pequenas quantidades. Nessas condições, os caramujos vivem por vários meses, sem necessidade de limpeza dos recipientes e continuam a oviposição (Pellegrino & Katz 1968).

2.2 INFECÇÃO DA *B. glabrata*

É importante que a linhagem de *B. glabrata* seja altamente susceptível às linhagens de *S. mansoni* mantidos no laboratório.

Os miracídios de *S. mansoni* são obtidos dos tecidos do fígado de camundongos ou hamsters experimentalmente infectados. A suspensão dos tecidos homogeneizados em liquidificador, em solução salina a 0,85%, é deixada para sedimentação, em temperatura ambiente no escuro. Após várias lavagens, por decantações sucessivas, o sedimento é suspenso em água desclorada com temperatura entre 28-30°C e exposto à luz. A maioria dos miracídios eclode após alguns minutos devido ao estímulo da tensão osmótica baixa da água, da temperatura e da luz. Obtidos os miracídios, a infecção dos caramujos pode ser individual ou em massa. Para esta última, basta transferir os miracídios para o recipiente contendo os caramujos com água desclorada; e, para a primeira, coloca-se o caramujo de mais ou menos 6 a 8 mm de diâmetro de concha em vidro de boca larga de 12 ml de capacidade, com pouca água, o suficiente para que o animal possa se movimentar. A infecção, como rotina, é feita com 10 miracídios por caramujo, deixando-os juntos por algumas horas. Os caramujos são transferidos para uma estufa ou sala para serem mantidos a 28°C. Após 30 dias, examinam-se os caramujos, colocando-os individualmente em pequenos vidros com água e expondo-os à luz, quando 60 a 80% dos caramujos deverão estar eliminando cercárias e os não infectados deverão ser eliminados. Os caramujos infectados vivem em torno de 40 dias, podendo alguns sobreviver meses (Pellegrino & Katz 1968).

2.3 INFECÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO

Para a manutenção do ciclo são comumente utilizados camundongos albinos e/ou hamsters.

2.3.1 CAMUNDONGO

O Camundongo (*Mus musculus*) é considerado o animal de escolha, seja pela facilidade de criação e manuseio, por ser um bom hospedeiro ou por se comportar perante a infecção esquistossomótica semelhante ao homem. Esse animal pode ser infectado facilmente pela via intraperitoneal, transcutânea ou subcutânea. Prefere-se, em nosso laboratório, a via sub-cutânea por facilidades técnicas e bons resultados na recuperação dos vermes.

Animais de 20 g (de preferência de um único sexo) são inoculados por injeção no dorso, abaixo da cabeça, com 100-120 cercárias, sem necessidade de anestesia. Praticamente todos os animais infectam-se, e a taxa de recuperação gira em torno de 20-30 vermes adultos, 45 dias após a infecção.

Para que não haja desproporção entre os esquistossomos machos e fêmeas recuperados, devem-se utilizar cercárias provenientes de 30 ou mais caramujos infectados.

A taxa de mortalidade gira em torno de 10-20% até o 50º dia. Após esta data, haverá grande aumento na mortalidade, devido a alterações teciduais ocasionadas pelos ovos (Pellegrino & Katz 1968).

2.3.2 HAMSTER

Esse roedor (*Mesocricetus auratus*) é também um bom hospedeiro, facilmente infectado por cercárias de *S. mansoni* quando inoculado pelas vias transcutânea, intraperitoneal, subcutânea e pela bolsa alimentar (Pellegrino *et al.* 1965), Berberian & Freele 1964.

Para Pellegrino *et al.* (1965), esta última via deve ser a preferida, devido a simplicidade, rapidez e eficiência, mas é a via subcutânea a usada preferencialmente em nosso laboratório.

A recuperação de esquistossomos é muito elevada (30 a 50%), e a mortalidade dos animais infectados é baixa até o 50º dia, quando expostos a 60-80 cercárias (Pellegrino *et al.* 1965).

3 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE TERAPÊUTICA

Duas fases distintas e sucessivas devem ser consideradas na avaliação da atividade terapêutica de novos esquistossomicidas: triagem e ensaios não clínicos. Na fase de triagem se pretende ensaiar um número grande de produtos na busca do guia. A metodologia a ser usada deve ser sensível, simples e de custo baixo, por ser muito trabalhosa e apresentar poucos resultados. De fato, são necessárias a triagem de mais de vinte mil compostos para o encontro de um que apresente atividade esquistossomicida, quando se utiliza a abordagem empírica. O mais comum nessa fase é usar o modelo "*S. mansoni* – camundongo". Uma vez encontrado o composto ativo, procura-se saber o máximo sobre o mesmo e inicia-se a fase seguinte dos ensaios não clínicos. Nessa fase são utilizados diferentes animais, entre os quais podem ser citados: camundongo (*Mus musculus*), hamsters (*Mesocricetus auratus*); ratos silvestres (*Nectomys squamipes*, *Mastomys natalensis*) e macacos (*Macaca mulata*, *Cercopithecus sp*, *Cebus appela macrocephalus*).

Com base na nossa experiência, serão considerados apenas o camundongo, o hamster e o macaco *Cebus*.

Na fase dos ensaios não clínicos interessa também conhecer a menor dose eficaz, os possíveis efeitos colaterais e tóxicos, a melhor via de administração, a ação sobre as diferentes fases evolutivas do verme, enfim, a obtenção do maior

número possível de informações antes de se passar para o objetivo final que é o ensaio clínico. Estima-se que de cada 2 a 3 mil compostos ativos encontrados na fase de triagem, apenas um vai se transformar num agente terapêutico a ser utilizado na clínica. Se por um lado, durante a triagem, deve-se utilizar de preferência um, no máximo dois, indicadores que revele atividade sobre os parasitos, na fase seguinte, o maior número de indicadores deve ser avaliado para que se possa demonstrar a atividade terapêutica, bem como estudo do mecanismo e o modo de ação da droga.

Assim, em nosso laboratório, utiliza-se como método de escolha na triagem de drogas o oograma. Já na fase de ensaio não clínico são acrescentadas outras informações, como: distribuição de vermes no sistema porta, presença de vermes mortos no fígado, além do oograma. Posteriormente, para o estudo do mecanismo de ação das drogas sobre o *S. mansoni*, a microscopia ótica e eletrônica, bem como a histoquímica e os ensaios *in vitro* podem fornecer informações adicionais importantes.

As metodologias de avaliação de compostos com atividades profiláticas ou supressivas são diferentes e serão discutidas mais adiante.

3.1 TRIAGEM DE DROGAS *in vivo*

O camundongo é o animal de escolha para triagem de drogas, sendo que apenas Berberian & Freele (1964) sugeriram o hamster. Entre os diversos métodos e critérios propostos para a triagem de drogas em camundongos pode-se citar: contagem de ovos nos tecidos (geralmente fígado e/ou intestino e nas fezes), contagem de granulomas no fígado e aumento da sobrevivência dos animais tratados (Pellegrino & Katz 1968).

Atualmente, para a triagem de drogas usa-se o oograma, ao qual se podem ser acrescentados a distribuição dos vermes, redução do número de vermes e presença de vermes mortos no fígado (Pellegrino & Katz 1968).

A distribuição dos vermes no sistema porta de camundongos experimentalmente infectados pelo *S. mansoni*, aos 45 dias, quando a quase totalidade de vermes já atingiram a maturidade sexual e iniciaram a postura de ovos, é de 60-70% nos vasos mesentéricos, 20-30% na veia porta e 0-20% nas veias intra-hepáticas. A administração das drogas ativas contra o *S. mansoni* em camundongos infectados produz um deslocamento parcial ou total dos vermes para

o fígado (Pellegrino & Katz 1968). É importante lembrar que os anestésicos (por exemplo, éter etílico ou clorofórmio) também produzem esse deslocamento, e, assim sendo, o sacrifício dos animais a serem examinados deve ser feito por fratura cervical (Khayyal 1965).

Redução do número de vermes é medida após a perfusão do sistema porta dos camundongos para a retirada dos vermes, faz-se a contagem dos mesmos, considerando-se separadamente machos, fêmeas e acasalados. Faz-se também o esmagamento do fígado para encontro dos vermes imobilizados por tecido inflamatório. O somatório de todos estes representará o número total de vermes. Este é comparado então com aquele encontrado no grupo de camundongos não tratados, (Pellegrino & Katz 1968).

Por comparação com os vermes do grupo controle (não tratado) observa-se também o tamanho dos vermes e a pigmentação dos vermes fêmeas.

O estudo do oograma (método de Pellegrino *et al.* 1962) deve ser o preferido para avaliação de triagem de drogas e também constar sempre nos ensaios não clínicos de agentes ativos contra o *S. mansoni* (Pellegrino *et al.* 1962).

O método do oograma tem o seguinte embasamento teórico e metodológico: nas infecções experimentais balanceadas, a partir do 30º dia de inoculação, os vermes fêmeas iniciam a postura de ovos ainda imaturos, que levam em torno de seis dias para o amadurecimento completo, isto é, para que o embrião de 1º estágio atinja a forma de miracídio (Gönnert 1955, Prata 1957, Pellegrino *et al.* 1962).

Para demonstração clara do fenômeno de interrupção da postura, camundongos foram tratados com uma droga ativa (derivado tioxantônico – Ciba 17,581) que provoca um deslocamento rápido dos vermes para o fígado (Pellegrino & Katz 1968). Os camundongos foram sacrificados a cada 12 horas após o tratamento, e examinando-se ao microscópio fragmentos do intestino delgado foi possível determinar o tempo necessário para maturação (e desaparecimento) dos mesmos. De fato, ovos de 1º estágio desaparecem já no 2º dia após o tratamento; ovos do 2º estágio no 4º dia; do 3º estágio no 5º dia, do 4º estágio no 7º dia e os ovos maduros levam 7 dias para serem formados, podem persistir até mais de 12 dias na parede intestinal.

O oograma, portanto, é o método que, examinando fragmentos de tecidos ao microscópio, permite, através da análise morfológica, identificar os diferentes tipos de ovos do *S. mansoni*, que são classificados como viáveis e mortos. Dentre os ovos viáveis, temos os imaturos (1º estágio: o embrião ocupa menos de 1/3 do diâmetro

do ovo; 2º estágio: $\frac{1}{2}$ do diâmetro; 3º estágio: $\frac{2}{3}$ do comprimento do ovo; 4º estágio: ocupa praticamente todo o ovo) e o maduro (miracídio totalmente desenvolvido). Esses ovos podem morrer quando imaturos e darão origem aos ovos hemi transparentes, granulosos ou com embrião retraído. Se morrerem após a maturidade, os ovos maduros podem dar origem aos ovos com miracídios retraídos, granulações grosseiras e calcificados. Também podem ser encontradas somente as cascas, sem sinal do miracídio ou das células vitelinas (Pellegrino & Katz 1968).

Em 200 camundongos experimentalmente infectados pelo *S. mansoni*, onde de cada animal foram contados e classificados 100 ovos nos fragmentos intestinais, foi observada a seguinte proporção entre os mesmos: 1º estágio – 15%; 2º estágio – 14%; 3º estágio – 25,3%; 4º estágio – 11,6%; ovos maduros – 29,2% e ovos mortos e cascas - 4,9% (Pellegrino & Katz 1968).

Após o tratamento, a ausência de qualquer um dos estádios dos ovos viáveis é indicação de que houve parada de postura e que, portanto, a droga tem atividade sobre o *S. mansoni*. Embora na maioria das vezes a interrupção da postura possa indicar que a droga é esquistossomicida, nem sempre isso é verdade, pois são vários os compostos que produzem apenas paradas (temporária ou definitiva) da postura sem matar os vermes (drogas supressoras).

Para a triagem de drogas, após ensaios preliminares do teste de toxicidade, as drogas são administradas em grupos de 5 camundongos albinos (Swiss) na dose diária correspondente a $\frac{1}{5}$ da LD₅₀ (dose letal para metade dos animais), por 5 dias consecutivos, de segunda a sexta-feira), 45-50 dias após a infecção dos animais com 100-120 cercárias de *S. mansoni* por via subcutânea, no dorso para cada um. São utilizados camundongos de ambos os sexos, pesando em torno de 20g. A droga é administrada por via oral (gavagem com agulha apropriada) e/ou intramuscular, com preferência para primeira. Droga com solubilidade acima de 10% é administrada por via intraperitoneal, e aquelas com solubilidade baixa são administradas, por via oral, em suspensão de gelatina a 5%.

Três dias após a última dose, os animais são sacrificados por esmagamento cervical. Rompe-se a pele do abdômen e abre-se a cavidade peritoneal. Retira-se, com auxílio de tesoura, 2-3 fragmentos de 1 cm cada, da parte distal do intestino delgado. Abre-se longitudinalmente o intestino, que é então lavado em água corrente e colocado para secar sobre papel absorvente. Comprime-se o fragmento do intestino entre duas lâminas de vidro. São contados e classificados 100 a 200 ovos, utilizando-se o microscópio ótico. Todavia, se o exame de uma dezena de campos já

revelar ovos viáveis de todos os estádios, não é necessário fazer contagem, e a droga é considerada inativa.

Uma droga é considerada ativa, e, portanto merecedora de ensaios posteriores, quando um dos estádios dos ovos viáveis imaturos está ausente.

3.2 ENSAIOS NÃO CLÍNICOS

Para os ensaios não-clínicos, todas as drogas que se mostraram ativas no método do oograma são, no nosso laboratório, ensaiadas em camundongos, hamsters e macacos *Cebus* experimentalmente infectados pelo *S. mansoni*. São observados especialmente o número total de vermes recuperados por perfusão e os retidos no fígado, a distribuição na veia porta, veias mesentéricas e intra-hepática, presença de vermes mortos no fígado e oograma. Observa-se ainda a pigmentação das fêmeas e o tamanho dos vermes e mesmo alguma alteração morfológica dos mesmos.

Para o encontro de drogas curativas e/ou supressoras, camundongos (albinos Swiss) em grupos de 10-12 animais, após 45-50 dias infectados com 100-120 cercárias de *S. mansoni*, por injeção subcutânea no dorso, são tratados, normalmente, por via oral, com doses múltiplas (5 dias) ou única dos compostos. As doses utilizadas são baseadas nos resultados encontrados na fase de triagem anteriormente realizada. O período do sacrifício dos animais pode ser de 3 ou 7 dias após o tratamento. Após perfusão, são observados principalmente o oograma, número total de vermes encontrados, considerando-se machos e fêmeas acasalados, distribuição dos mesmos no sistema porta-hepático (fígado, veia porta e mesentéricas), porcentagem de vermes mortos no fígado, além dos aspectos morfológicos dos vermes.

Grupo de 5-7 hamsters adultos (*Mesocricetus auratus*), 7-8 semanas após a infecção com 60-80 cercárias de *S. mansoni*, pela bolsa alimentar, é tratado com doses decrescentes do composto a ser ensaiado, por até 5 dias ou em dose única, usualmente por via oral.

Os parâmetros a serem observados são os mesmos citados acima para o exame dos camundongos.

Os macacos utilizados nestes ensaios são, em nosso laboratório, os *Cebus appela macrocephalus* (macaco prego), que, embora de difícil manuseio,

apresentam resultados muito parecidos com aqueles encontrados no homem, mas também outras espécies de *Cebus*, como *C. appela appela* e *C. libidinosus*.

Os animais, após imobilização, são infectados por via transcutânea, com 150-200 cercárias de *S. mansoni*. O tratamento inicia-se quatro meses após a infecção, após confirmação do sucesso da infecção através de curetagem retal. Doses múltiplas, por até 5 dias, ou única, por via oral, são utilizadas, baseando-se na definição da dose nos resultados previamente obtidos nos camundongos e hamsters.

A avaliação da atividade da droga é feita através de sucessivas curetagens retais, realizadas antes e em diferentes períodos após o tratamento, até o 4º mês. O método de curetagem é rápido, simples e fornece informações preciosas através do oograma. Em geral, são retirados 4 fragmentos, com cureta, da mucosa retal pesados em balança analítica, comprimidos entre lâmina e lamínula e examinados ao microscópio (Katz *et al.* 1966). Os elementos esquistossomóticos são contados e classificados (ovos imaturos de 1º a 4º estágio, maduros, mortos e cascas). A avaliação da atividade terapêutica baseia-se nas alterações encontradas no oograma, representada pelo desaparecimento gradativo dos ovos viáveis.

Pesando-se os fragmentos obtidos por curetagem retal e contando-se os ovos encontrados, pode-se calcular o número de ovos por grama de tecido retal. Essa abordagem quantitativa (Katz *et al.* 1966), é de grande valia na avaliação da atividade de droga contra esquistossomose (Katz & Pellegrino 1974) e semelhante à sugerida para ensaios clínicos humanos (Cançado *et al.* 1965).

Os macacos *Cebus*, nos quais a persistência da parada da postura, evidenciada pelo oograma (desaparecimento dos ovos viáveis imaturos e maduros) mantém-se por 4 meses ou mais, após a ingestão da droga que está sendo ensaiada, são sacrificados e perfundidos na tentativa do encontro dos vermes, no fígado ou no sistema porta, e os órgãos dos mesmos são também utilizados para estudos anatomo patológicos (Pellegrino & Katz 1968).

As vantagens do uso do macaco *Cebus* em ensaios não clínicos na esquistossomose mansoni são: a) custo relativamente baixo; b) manutenção adequada em condições de laboratório; c) porcentagem alta de cercárias que se transformam em vermes adultos (30 a 50%); d) elevado número de ovos nas fezes e na mucosa retal; e) infecção persistente por vários anos; e f) boa correlação com os resultados obtidos na clínica humana, no que se refere à resposta terapêutica a drogas (Pellegrino & Katz 1968, Katz & Pellegrino 1974).

3.3 AVALIAÇÃO QUANTITATIVA DA ATIVIDADE ANTI-ESQUISTOSSOMÓTICA

É muito importante essa avaliação quantitativa, pois ela vai orientar na escolha do melhor composto de uma série, antes do início dos ensaios clínicos em voluntários.

Por outro lado, permite também fazer comparações de atividade entre drogas e doses diferentes, possibilitando estudos mais exatos e comparações mais precisas.

Os critérios de avaliação anteriormente mencionados devem ser sempre que possível analisados quantitativamente. Assim a porcentagem da redução da carga parasitária nos animais tratados bem como o percentual do número de vermes, no fígado, veia-porta e vasos mesentéricos são comparados com os do grupo controle.

A dose efetiva (DE), isto é, aquela que mata 50% (DE₅₀) ou 90% (DE₉₀) dos vermes, colocada em relação à LD₅₀ (dose letal para 50% dos animais tratados) indica o índice terapêutico (IT). Também para o oograma pode-se medir o DO₅₀ (dose diária em mg/kg, administrada por 1 ou 5 dias consecutivos e que produz alteração do oograma em 50% dos animais tratados) e depois relacionados à LD₅₀.

Para macacos *Cebus*, foi adaptada a técnica do oograma quantitativo utilizado em ensaios clínicos (Cançado *et al.* 1965), e que mostrou ser um ótimo método, quando se usa a curetagem retal nestes animais (Katz *et al.* 1966, Katz & Pellegrino 1974).

É necessário salientar que embora todos os métodos de avaliação realizados em animais de laboratório sejam muito importantes e mesmo indispensáveis, a definição de atividade de determinado composto no homem depende da realização dos ensaios clínicos.

3.4 TRIAGEM DE DROGAS *in vitro*

Desde a década de 50, técnicas foram descritas para testar a atividade *in vitro* de compostos sobre vermes de *S. mansoni* (Standen 1979).

Aqui, vamos considerar apenas resumidamente este assunto, pois os resultados dos testes de drogas *in vitro* não correspondem, com muitas drogas, ao que se observa *in vivo*, como anteriormente citado. O uso da cultura do verme *in vitro* para ensaios de drogas tem sua aplicação quando se quer observar alguns fenômenos morfológicos e fisiológicos, que podem ser importantes na interpretação do mecanismo de ação de drogas.

A seguir é apresentada a técnica utilizada por Pica-Mattoccia & Cioli (2004). Dez a doze vermes adultos são distribuídos em duplicatas, em tubos de cultura de tecido (3,5 cm) contendo o meio de Eagle modificado por *Dalbecco*, tamponado com bicarbonato, e suplementado com 20% de soro bovino fetal, ao qual se acrescenta penicilina, estreptomicina e anfotericina B. As culturas são mantidas a 37°C, em atmosfera de CO₂ a 5% e são observadas diariamente por 8 a 10 dias, com auxílio de um microscópio. Diferentes concentrações das drogas são adicionadas às culturas e os vermes ficam expostos por uma noite. No dia seguinte, os vermes são lavados por três vezes e transferidos para frascos contendo o mesmo meio de cultura sem droga. A droga pode ser dissolvida em DMSO (dimetilsulfóxido, no máximo a 0,1%), e nos frascos, que servirão de controle, é adicionado DMSO na mesma concentração (Pica-Mattoccia & Cioli 2004).

No fim do período de observação, os vermes são considerados mortos se permanecem imobilizados por horas ou adquirem uma aparência opaca. Como medida auxiliar de avaliação, os vermes podem ser medidos.

4 DROGAS CURATIVAS

Resultados dos estudos experimentais de duas drogas esquistossomicidas de uso corrente na terapêutica clínica no Brasil, oxamniquina e praziquantel, são apresentados a seguir e ilustram as fases do desenvolvimento de medicamentos esquistossomicidas, desde a identificação de compostos promissores até a aprovação para uso clínico em humanos.

4.1 OXAMNIQUINA

Richards e Foster (1969) e Baxter e Richards (1971), trabalhando na Pfizer (Sandwich, Inglaterra), descreveram uma nova série de derivados 2-amino-metil-tetrahydroquinolínicos que apresentaram ação marcante esquistossomicida. Dos mais de 50 derivados ensaiados, foi escolhido como dos mais promissores o UK3883. Esse composto além da ação curativa em dose oral única apresentou também atividade profilática e ação contra todos os estágios imaturos em camundongos (Foster *et al.* 1971). Esse composto, em várias espécies animais, sofre hidroxilação do grupo 6-metil, dando origem ao UK 4271, denominado oxamniquina (Kaye & Woolhouse 1972, Foster *et al.* 1973, Foster 1973).

A oxamniquina, em dose oral ou intramuscular única, apresentou elevada atividade curativa contra o *S. mansoni* em roedores e primatas. Em camundongos, a ED99 foi, por via oral ou intramuscular, de respectivamente 44mg/kg e 42mg/kg em dose única. Por via oral, em hamsters a atividade curativa foi semelhante à encontrada em camundongos, mas por via intramuscular foi muito mais ativa (ED99: 12 mg/kg). Em macacos *Cebus*, a dose curativa (im ou iv) foi de 5-7,5 mg/kg, mas não apresentou atividade acentuada em *Cercophitecus* e *Papio* (Foster 1973). *In vitro* a oxamniquina apresentou apenas atividade moderada na dose de 200 ug/ml por 65-90 horas (Foster 1973).

A oxamniquina mostrou atividade acentuada em camundongos, hamsters e macacos *Cebus*. Em camundongos, dose intramuscular única de 100mg/kg produziu alterações do oograma em todos os animais tratados e deslocamento dos vermes para o fígado. Nos hamsters, a dose intramuscular de 50mg/kg também apresentou efeitos semelhantes aos encontrados nos camundongos. Quatro macacos *Cebus* foram tratados com dose única de 20-40 mg/kg, im. Curetagens da mucosa retal feitas em série, antes e após o tratamento, mostraram o desaparecimento progressivo dos ovos imaturos e maduros, chegando a negativar completamente e assim, persistiu até aos 120 dias, quando os macacos foram sacrificados. Após a perfusão do sistema porta e do fígado, vermes não foram encontrados (Pellegrino *et al.* 1973).

Em todos os hospedeiros, os vermes machos mostraram-se mais susceptíveis à droga do que as fêmeas. Este fato, não foi observado *in vitro* (Foster 1973).

Na fase imatura, dose única oral de 50 mg/kg, administrada durante o período pré-patente, em camundongos, reduziu o número de vermes, exceto naqueles na 3ª semana, pós-infecção. De fato, a oxamniquina produziu nestes grupos redução acentuada do número de vermes (e do número de ovos nos tecidos), quando a droga foi administrada 1 dia após o inóculo, diminuindo sua ação aos 8 e 15 dias, chegando a mostrar-se inativo aos 22 dias, voltando a ter atividade sobre os vermes imaturos aos 25 e 36 dias (Foster 1973). O uso da oxamniquina em camundongos, 24 horas após a infecção produz grande mortalidade dos esquistossômulos na pele e aqueles que chegam aos pulmões também morrem, pois aos 35 dias não foram encontrados vermes no sistema porta dos animais (Coelho *et al.* 1993).

Não foi detectada atividade contra o *S. hematobium* ou *S. japonicum*. Curiosamente, as cepas de *S. mansoni* isoladas do Oeste da África, comportaram-se na resposta à oxamniquina de maneira semelhante aos isolados do Brasil. Já aquelas do norte (Egito e Sudão) e do lado oriental da África apresentaram menor susceptibilidade à ação da droga, seja experimental, seja na clínica.

Os vermes recuperados dos camundongos após o 3º dia de tratamento já mostravam parada da oviposição, sem que ainda houvesse deslocamento dos mesmos para o fígado. Na segunda semana, todos os vermes estavam no fígado, e a parada da postura era total. Alterações morfológicas foram mais precoces e mais intensas nos vermes machos, nos quais já no 3º dia apresentaram embebição do parênquima. No 15º dia, as alterações foram mais intensas, com vacuolização e desaparecimento dos núcleos das células do parênquima (lesão “em bolha”). Nas fêmeas, a partir do 7º dia, foi vista redução da quantidade do material vitelínico no ovário e despigmentação acentuada. Os vermes sobreviventes (machos e fêmeas) apresentaram diminuição significativa de tamanho e até 120 dias após tratamento, uma grande quantidade dos vermes não havia recuperado a sua capacidade de ovipor (Kohn *et al.* 1979).

O mecanismo de ação da oxamniquina parece estar relacionado com a capacidade de inibição irreversível da síntese dos ácidos nucléicos nos vermes (Cioli *et al.* 1995).

4.2 PRAZIQUANTEL

Na década de 70 foram iniciados os estudos conjuntos entre os laboratórios Bayer e Merck com derivados pirazinoisoquinolínicos como antiparasitários. Depois de sintetizarem mais de 400 compostos, o mais promissor revelou ser o EMBAY 8440 ou praziquantel (2- (ciclohexilcarbonil)- 1,2,3,6,7,11b-hexahidro-4H-pirazino [2,1-a] isoquinolina- 4 one (Webbe & James 1977).

De fato, além da atividade anticestódeos e antitrematódeos, foi a primeira droga que mostrou atividade acentuada, por via oral, ou intramuscular em dose única, contra as três principais espécies de *Schistosoma* que acometem o homem, ou seja: *S. mansoni*, *S. haematobium*, *S. japonicum* e também contra o *S. intercalatum* e *S. mattheei* (Gönnert & Andrews 1977, Andrews *et al.* 1983).

Ensaio experimentais mostraram que o praziquantel apresentou atividade acentuada contra várias espécies de *Schistosoma* em camundongos, hamsters e também em diferentes espécies de macacos. A dose ED₉₅ para camundongos infectados experimentalmente pelo *S. mansoni* foi de 685 mg/kg, com dose única oral é de 403 mg/kg por via im; para *Mastomys* de 278 mg/kg e 125 mg/kg, respectivamente para via oral e via im; e no hamster de 249 mg/kg e 100 mg/kg, respectivamente. Em macacos, a ED variou conforme cada espécie (Gönnert & Andrews 1977, Webbe & James 1977).

Deve-se destacar, que 5 doses de 50 mg/kg administradas, em intervalos de 3 horas, por via oral, levaram a cura parasitológica completa, enquanto a dose única de 100 mg/kg não foi tão eficiente (Gönnert & Andrews 1977).

No Brasil, Pellegrino *et al.* (1977) ensaiaram o praziquantel em camundongos, hamsters e macacos *Cebus* infectados experimentalmente com a cepa LE. Nos camundongos, doses orais de praziquantel de 100 e 50 mg/kg, durante cinco dias, produziram alterações significativas do oograma e deslocamento acentuado dos vermes para o fígado. Nos camundongos, o índice terapêutico foi de 153 mg/kg. Nos hamsters, os vermes mostraram-se mais sensíveis à droga. De fato, doses de 12,5 mg/kg/dia, durante cinco dias produziram deslocamento dos vermes para o fígado e alterações do oograma, ambos, em torno de 60% dos animais. Já com dose de 25 mg/kg/dia, por cinco dias, todos os vermes foram deslocados para o fígado, com 88,6% deles retidos no mesmo e com 100% dos animais apresentando alterações do oograma; com doses de 12,5 e 6,5 mg/kg, também foram observadas estas

alterações, embora num percentual bem menor dos animais. Em dois macacos *Cebus* tratados por via oral com dose total de 30 e 60mg/kg, dividida em três administrações, no mesmo dia, embora houvesse indicações de atividade esquistosomicida, mostrando grande redução da população de vermes, os poucos sobreviventes, estavam com sua postura de ovos preservada. Deve-se destacar, que em ambos os macacos foram encontrados ovos viáveis nos intestinos delgado e grosso, porém numa série de curetagens retais não foram vistos ovos de *S. mansoni*. Em um macaco *Cebus* tratado com dose única oral de 100 mg/kg e sacrificado após 138 dias, não foram encontrados nem vermes nem ovos nos intestinos delgados, grosso e no reto (Pellegrino *et al.* 1977).

Deve-se destacar que resultados semelhantes foram encontrados quando camundongos e macacos *Cebus* foram tratados com praziquantel por via intramuscular, e com um pouco menos de atividade por inalação nasal (Pellegrino *et al.* 1977). Baseando-se nestas informações foi sugerido que dose única oral de 20 mg/kg poderia reduzir o número de vermes de *S. mansoni*, no homem, em até 95%, o que corresponderia a uma taxa de cura de 60% (Webbe & James 1977). Todavia, desde o primeiro ensaio clínico na esquistossomose mansoni com praziquantel realizado no Brasil por Katz *et al.* 1979, ficou claro que a dose deveria ser mais do que o dobro da sugerida pelos estudos experimentais.

Recentemente, Pica-Mattoccia & Cioli (2004) ensaiaram o praziquantel contra uma cepa de *S. mansoni* proveniente de Porto Rico, *in vitro* e *in vivo*. A dose efetiva (DE 50) nos camundongos experimentalmente infectados foi 30 vezes menor no 28º da infecção do que a de 7 semanas após infecção. Além disto, os vermes provenientes de infecções unissexuais, seja de machos ou de fêmeas, são menos susceptíveis à droga do que as infecções com cercárias balanceadas por sexo, e, mesmo nestas últimas, as fêmeas são mais susceptíveis do que os machos (Pica-Mattoccia & Cioli 2004).

Assim sendo, a eficácia do praziquantel é dependente da idade da infecção, do sexo dos vermes e mesmo de se está acasalado ou não. Também o estado imunitário do hospedeiro parece ser importante na resposta terapêutica ao praziquantel (Pica-Mattoccia & Cioli 2004, Sabah *et al.* 1985, Doenhoff *et al.* 1987, Brindley & Sher 1987).

É interessante destacar que o praziquantel utilizado comercialmente é uma mistura racêmica, constituída em partes iguais dos isômeros levógiro e dextrógiro. Experimentalmente foi demonstrado que somente o isômero levógiro

apresenta atividade anti-esquistossomótica embora ambos apresentem toxicidade semelhante (Xiao & Catto 1989). Também em ensaios clínicos contra a infecção por *S. japonicum* foi comprovada essa atividade do isômero levógiro do praziquantel (Wu *et al.* 1991). Entretanto, o isômero dextrógiro em altas doses também pode apresentar atividade contra o verme, especialmente produzindo deslocamento dos mesmos para o fígado, nas infecções maduras. Todavia, mesmo elevadas doses (até 600mg/kg, dose oral única em camundongos infectados pelo *S. mansoni*) não produziram diminuição significativa do número de vermes quando comparados com o grupo controle, ao contrário do encontrado nos animais tratados com 300 mg/kg do isômero levógiro, em que a redução foi em torno de 98% (Xiao *et al.* 1999).

Estudos *in vivo* e *in vitro* mostraram que o praziquantel, minutos após ingerido, produz contração dos vermes. *In vivo* acontece o deslocamento dos vermes para o fígado e após algumas horas há vacuolização intensa em diferentes partes do tegumento (Becker *et al.* 1980, Mehlhorn *et al.* 1981). *In vitro*, as lesões decorrentes são mais dependentes do tempo de exposição do que de maiores concentrações da droga. *In vivo*, nos vermes que foram deslocados para o fígado, já a partir de quatro horas, foram vistos granulócitos aderidos às vacuolizações (lesões em “bolha”). Após 24 horas, o tegumento encontra-se quase totalmente destruído e com intenso infiltrado granulocitário, especialmente pelos eosinófilos que invadem também a intimidade dos tecidos do verme. Com dezoito dias, após o tratamento praticamente todos os vermes desaparecem do centro da reação inflamatória granulomatosa, agora já nos vasos intra-hepáticos, onde os vermes encalharam, trombosados (Mehlhorn *et al.* 1981).

Assim, são três as principais ações do praziquantel sobre os vermes: contração muscular, lesão do tegumento e alterações metabólicas (Cioli *et al.* 1995). Embora não haja dúvidas da importância do íon Ca^{2+} como mediador na ação direta ou indireta destes efeitos, não se sabe por que o fluxo de Ca^{2+} ocorre (Webbe & James 1977, Day *et al.* 1992).

Para Cioli *et al.* (1995) a esteroespecificidade do praziquantel é um argumento indicativo de que a droga interage com alguma proteína do parasito que regula os fluxos de Ca^{2+} .

4.3 ASSOCIAÇÃO DE DROGAS

A tentativa de associar dois agentes anti esquistossomóticos tem como objetivos: diminuir a dose de cada droga administrada individualmente (visando diminuir efeitos tóxicos e colaterais), aumentar o índice terapêutico, baixar o custo do tratamento e evitar o aparecimento de cepas resistentes.

São vários os estudos feitos utilizando-se diferentes drogas que apresentaram atividade parcial contra os esquistossomos, mas aqui serão discutidos apenas os resultados obtidos da associação oxamniquina e praziquantel, duas drogas que vêm sendo largamente empregadas na clínica, e em programas de controle da esquistossomose, com poucos efeitos tóxicos e boa atividade terapêutica.

Para avaliação da atividade aditiva ou sinérgica de drogas, deve-se seguir o desenho experimental utilizado por Shaw e Brammer (1983). Resumindo, estes autores utilizaram o modelo de camundongos infectados pelo *S. mansoni* e trataram os diferentes grupos de animais com doses crescentes de oxamniquina ou praziquantel, isoladamente ou em associação. Após 14 dias, os animais foram sacrificados e a porcentagem do número de vermes que estava encapsulada no fígado foi calculada. Foi considerado o valor de ED99 definido como a dose total de droga necessária para matar 99% dos vermes machos. Após a análise de regressão dos dados, ficou demonstrado que a associação da oxamniquina com o praziquantel produziu ação sinérgica.

Esse estudo experimental foi confirmado por ensaio realizado no Malawi, África, numa população com infecção mista (*S. mansoni* e *S. hematobium*) com predominância do *S. hematobium* utilizando doses menores de oxamniquina e praziquantel que aquelas utilizadas comumente (Pugh & Teesdale 1983). Ensaios clínicos posteriores nem sempre confirmaram esses resultados tão promissores (Utzinger *et al.* 2003).

Uma nova associação de drogas, praziquantel e artemether, tem sido recentemente proposta. Essa associação permitiria matar os vermes imaturos e os maduros (Xiao *et al.* 2002).

5 DROGAS PROFILÁTICAS

5.1 DERIVADOS DA ARTEMISININA

A artemisinina, uma lactona sesquiterpênica com um grupo peróxido, é o princípio ativo obtido das folhas de *Artemisia annua*. Essa planta tem sido utilizada há mais de 2000 anos para tratamento de febre na China, e, a partir da década de 70, a artemisinina e derivados, especialmente o arthemeter e o artesunato, foram utilizados amplamente como anti-maláricos.

A atividade antiesquistossomótica da artemisinina, arthemeter e artesunato foi descrita no início da década de 80, na República Popular da China, inicialmente em *S. japonicum*. Posteriormente, ficou demonstrado que a artemisinina e seus compostos possuem atividade contra as três principais espécies que parasitam o homem (Araujo *et al.* 1991, Xiao *et al.* 2002, Utzinger *et al.* 2003).

É interessante salientar que, diferentemente da oxamniquina e do praziquantel, a atividade do arthemeter é maior nas formas jovens do que nos vermes adultos (Xiao *et al.* 2002).

No Brasil, o arthemeter e o artesunato foram ensaiados em camundongos e hamsters experimentalmente infectados pela cepa LE do *S. mansoni* 45 dias após inoculação (Araujo *et al.* 1991,1999). O arthemeter (solução oleosa do éter 12 metil da hidro artemisinina) mostrou acentuada atividade esquistossomicida na dose única de 100mg/kg por via intramuscular (100% de alteração do oograma e 61,5% dos vermes mortos no fígado). Já a mesma dose por via oral não produziu alteração do oograma e apenas 22,6% de vermes mortos no fígado. Quando os camundongos foram tratados com 100mg/kg/dia por cinco dias, im, o percentual de vermes mortos chegou a 96,3%. Camundongos tratados com 200mg/kg x 1, im e examinados 45 dias depois, mostraram que os vermes sobreviventes retomaram totalmente a sua capacidade de oviposição (Araujo *et al.* 1991).

Os resultados do ensaio com o artesunato, em dose única oral, de 300 ou 500mg/kg ou durante cinco dias consecutivos, 45 dias após a infecção, mostraram diferenças significativas na distribuição e na mortalidade dos vermes, e na alteração do oograma nos animais tratados, quando comparados ao controle, 30 dias após o tratamento. Quando os animais foram sacrificados, 60 ou 90 dias após o tratamento,

as diferenças entre os grupos, tratado e de controle, foram desaparecendo, mostrando que os vermes sobreviventes se recuperaram e reiniciaram a postura e voltaram para seu habitat normal, os vasos mesentéricos (Araujo *et al.* 1999).

O artemether produz deslocamento dos vermes para o fígado, que começa oito horas após a administração da droga e se completa no 7º dia (Xiao & Catto 1989). Após o tratamento, foi observado que os vermes adultos apresentam redução significativa do glicogênio (Xiao *et al.* 2000) e, embora apareça lentamente, há extensa e grave lesão do tegumento (Xiao *et al.* 2002). Também foram descritas alterações no aparelho reprodutor feminino, com diminuição do volume ovariano e rarefação dos folículos vitelínicos (Araujo *et al.* 1999).

In vitro, a exposição dos vermes ao arthemeter não revelou nenhuma atividade sobre os mesmos; todavia, quando foi acrescentado hemina, a atividade letal se manifestou. Parece, portanto, que o arthemeter é ativado pela hemina, que faz a clivagem da ponte de endoperoxidase, gerando radicais livres que devem se ligar de forma covalente a proteínas específicas dos vermes (Xiao *et al.* 2001).

A associação de arthemeter (150mg/kg) e praziquantel (75mg/kg) foi usada em hamsters infectados por formas jovens e adultas do *S. mansoni*. As drogas foram administradas simultaneamente ou a intervalos de horas ou de até sete dias. Os resultados mostraram que houve diminuição significativa do número de vermes com esta associação maior do que a obtida com o praziquantel isoladamente (Utzinger *et al.* 2003).

Por apresentar atividade acentuada contra os vermes imaturos, o arthemeter vem sendo ensaiado em áreas endêmicas como droga profilática na esquistossomose, conforme será discutido adiante quando tratarmos da terapêutica clínica.

6 DROGAS SUPRESSORAS

Drogas que têm ação específica sobre a oviposição da fêmea de *S. mansoni* têm sido descritas.

De fato, Campbell e Cuckler (1967) demonstraram que o nicarbazin, quando adicionado à dieta de camundongos, na concentração de 0,2%, não matava os vermes de *S. mansoni*, mas interrompia a oviposição, já a partir do 2º dia. A retirada dessa dieta permitia que as fêmeas retomassem completamente a sua capacidade de ovipor. Esses dados foram confirmados por Pellegrino e Katz (1969). Todavia, a administração de até 1000mg/kg/dia por cinco dias consecutivos, por via oral, em camundongos infectados, mostrou-se totalmente inativa. Já em dois macacos *Cebus* tratados, por via oral, na dose de 400mg/kg/dia por dois dias, seguida por 200 mg/kg/dia por dez dias, foi observada, através de curetagens retais seriadas, uma interrupção temporária da postura (Pellegrino & Katz 1969).

Também a thiosinamina e a sulfona-mãe (diaminodifenilsulfona – DDS) foram ativas na interrupção temporária da postura (Pellegrino *et al.* 1972, Pellegrino & Katz 1975).

Agentes esterilizantes de roedores machos, bem como substâncias antifertilizantes, também têm essa atividade (Davies & Jackson 1970).

Mais recentemente, foram publicados os resultados obtidos com um inibidor da síntese de colesterol, mevinolin, que, administrado a camundongos, bloqueou a produção de ovos de *S. mansoni* (Vandewaa *et al.* 1989). Essa mesma droga, acrescentada a 2% na ração de camundongos infectados por *S. mansoni*, eliminou 96 – 100% dos vermes adultos quando administrada por catorze dias e mais de 90% quando administrada por dois antes e quinze dias depois da infecção (Vandewaa *et al.* 1989).

A lovastatina, uma lactona (a forma inativa do ácido hidroxílico aberto), é também um potente inibidor da síntese endógena do colesterol. Essa droga foi ensaiada em camundongos infectados pelo *S. mansoni*, 30 dias após infecção. Com as doses maiores (400mg/kg/dia por um dia por cinco dias) por gavagem, foram observadas, 30 dias após o término do tratamento, alteração do oograma em respectivamente 20,0 e 42,9% dos animais tratados bem como a presença de vermes mortos no fígado em 14,8 e 21,8%. Nos animais controle (no caso, não tratados) não foram detectadas alterações do oograma, nem vermes mortos (Araujo

et al. 2002). Em outro experimento, quando os animais com infecção de 30 dias foram tratados por gavagem, com a dose de 400mg/kg/dia por 5 dias consecutivos e sacrificados em diferentes períodos pós -tratamento, foi visto que a ação sobre a alteração do oograma apareceu no 15º dia, quando também já havia um pequeno percentual de vermes mortos que foi aumentado aos 30 e 60 dias. Mesmo dois meses após o tratamento, o efeito da droga persistia na maioria das fêmeas, no que se refere à parada da oviposição, inclusive com baixa acentuada do número de ovos no fígado dos animais tratados. Ao microscópio, foram observadas alterações degenerativas nos vermes, sendo que as principais acometeram o aparelho reprodutor, com a redução e alteração dos folículos vitelínicos e do ovário das fêmeas e modificações nos testículos dos machos (Araujo *et al.* 2002). Essas drogas anti colesterolêmicas ainda não foram, mas deveriam ser, ensaiadas na clínica como agente anti esquistossomose.

7 RESISTÊNCIA A DROGAS ESQUISTOSSOMICIDAS

Diferentes isolados e/ou cepas têm mostrado susceptibilidade maior ou menor (medida por mortalidade dos vermes em relação à mesma dose do medicamento utilizado no mesmo hospedeiro experimental), sejam cepas oriundas de uma mesma área ou região geográfica, ou mesmo oriundas de diferentes indivíduos numa mesma comunidade.

Essas diferenças aparecem independentemente desses indivíduos terem sido tratados ou não com quimioterápicos específicos anteriormente. Na realidade, deve-se considerar dois conceitos importantes: o da tolerância e o da resistência. Falam-se tolerância quando uma cepa do verme, que nunca havia entrado em contato com a droga específica, apresenta resposta quimioterápica diminuída significativamente em relação a uma cepa padronizada de laboratório; Falam-se resistência quando a falta da resposta aparece nos descendentes daqueles vermes que sobreviveram ao tratamento (Coles *et al.* 1986).

Por outro lado, essas definições não devem ser confundidas com falha terapêutica. De fato, as causas de falha terapêutica podem ser várias, dependendo dos fatores do hospedeiro (humano ou animal) que podem influenciar na resposta a droga, tais como: absorção da droga, metabolização, idade, sexo, associações mórbidas, fase da infecção, diferença entre cepas de animais de laboratório, ou

fatores do parasito, estágio evolutivo, balanço de sexos, ou mesmo diferente susceptibilidade à droga.

Portanto, a demonstração de resistência (ou susceptibilidade) deve ser feita em laboratório, através do tratamento de animais (camundongo) infectados com o isolado (ou cepa) de *S. mansoni* que se quer estudar, isso enquanto não se consegue um marcador (bioquímico ou molecular) que poderia vir a facilitar, e muito, a identificação dos vermes resistentes.

Desde a década de 50, sabe-se que cepas de *S. mansoni* diferem na sua resposta ao tratamento às mesmas drogas. De fato, foi demonstrado que a cepa de *S. mansoni* do Egito mostrou-se seis vezes menos susceptível ao tratamento com miracil D do que a cepa da Libéria (Gönnert & Vogel 1955). Em 1971, Rogers & Bueding relataram que camundongos infectados com uma cepa de *S. mansoni* proveniente de Porto Rico, quando tratados com hycanthone (60 mg/kg, im) apresentaram apenas parada da postura temporária, pois 12 meses após o tratamento todos os animais apresentavam ovos viáveis no fígado. Esses ovos foram colocados para eclodir e completaram o ciclo evolutivo normalmente. Camundongos infectados com essa descendência de vermes mostraram ser estes totalmente resistentes à ação do hycanthone (Rogers & Bueding 1971). Utilizando-se outros isolados e seguindo a mesma metodologia acima descrita, outros autores não obtiveram cepa resistente (Yarinsky *et al.* 1974, Dias & Oliver 1986). Dois anos após, Katz *et al.* (1973), pela primeira vez, descreveram cepas resistentes provenientes de dois pacientes tratados por duas vezes com hycanthone e que continuavam eliminando ovos de *S. mansoni* nas fezes. Fechado o ciclo com miracídios provenientes desses pacientes, foi possível mostrar experimentalmente em camundongos que essas cepas eram resistentes ao hycanthone e também menos susceptíveis ao niridazol e a oxamniquina (Katz *et al.* 1973).

Estudos posteriores realizados no Brasil, Egito, Kenia e Senegal não só confirmaram o encontro de cepas resistentes após o tratamento, mas também encontraram cepas tolerantes aos agentes esquistossomicidas, oxamniquina ou praziquantel (Dias *et al.* 1978, Stelma *et al.* 1995). Também em laboratório foi possível obter uma cepa de *S. mansoni* altamente resistente partindo de um *pool* de isolados de diferentes regiões e tratando-os com praziquantel por sete vezes sucessivas (Fallon & Doenhoff 1994).

Estudos bioquímicos e genômicos têm sido realizados comparando-se cepas resistentes e susceptíveis. Foi observado que a oxamniquina funciona como substrato para a sulfotransferase, que está presente nos esquistossomos susceptíveis, mas ausente nos vermes resistentes (Cioli *et al.* 1995). Por outro lado, a inibição da síntese de ácidos nucleicos é irreversível nos vermes susceptíveis, mas apenas temporária nos vermes resistentes, e esta parece ser a principal ação da droga para a mortalidade dos vermes (Cioli *et al.* 1995). Brindley *et al.* (1989) descreveram uma modificação genômica, caracterizada pela presença de polimorfismo do tamanho do fragmento de restrição, no DNA do verme de uma cepa resistente ao hycanthone. Esta modificação foi vista em uma em cada 100 cópias do RNA ribossomal e é resultante de uma inserção de 732 nucleotídeos duplicados no gene do verme resistente (Brindley *et al.* 1989, 1991).

Esse achado não foi confirmado em outras cepas (Vieira *et al.* 1991), mas o estudo do polimorfismo genético de diferentes isolados e cepas poderá contribuir para a obtenção de um marcador de resistência a drogas (Dias Neto *et al.* 1993).

Trabalho muito informativo foi publicado por Cioli *et al.* (2004) mostrando os resultados obtidos em três diferentes laboratórios (Roma-Itália, Gisa-Egito e Bangor-Inglaterra) com nove diferentes isolados de *S. mansoni* em camundongos experimentalmente infectados e tratados com praziquantel. Quatro desses isolados não haviam tido contato prévio com a droga, e cinco já haviam demonstrado em ensaios anteriores resistência ao praziquantel, seja por indução e/ou seleção após tratamentos repetidos dos animais, seja por terem sido isolados de pacientes que não se curaram. Administração da ED₅₀ (dose que mata 50% dos vermes adultos) foi feita em camundongos tratados com praziquantel nas doses totais de 125,250,500 e 1000 mg/kg, divididas em cinco doses, administrados por cinco dias consecutivos, e em infecções com 49 dias. Os animais foram sacrificados duas semanas após o último dia de tratamento. Nas cepas consideradas susceptíveis, a ED₅₀ estava sempre abaixo de 100 mg/kg (média de 70), enquanto nas resistentes presumíveis estava sempre acima de 100 mg/kg (média de 209), ou seja, uma diferença de três vezes entre os dois grupos de isolados.

Embora a diferença de resposta ao praziquantel tenha sido inquestionável e significativa, os autores concluem que a expectativa é que a droga continue útil por um longo período, ao contrário de outras drogas antiparasitárias, aí incluída a oxamniquina, pois o praziquantel, mesmo após 20 tratamentos consecutivos, teve apenas aumento de no máximo 3 vezes da dose curativa (Cioli *et al.* 2004).

II Terapêutica Clínica na Esquistossomose mansoni

1 INTRODUÇÃO

Há quase um século, o tártaro emético (tartarato de antimônio e potássio) foi introduzido como primeiro agente terapêutico da esquistossomose (Christopherson 1918). Em seguida, vários sais de antimônio foram introduzidos para o uso clínico, a saber, tartarato de antimônio e sódio, disulfonato-bis-pirocatecol de sódio e antimônio (Stibofen^R), tiomalato de antimônio e sódio (Anthiomaline^R) e gluconato de antimônio e sódio (Tiostram^R) administrados por via intramuscular ou intravenosa. Essas drogas produziam um grande número de efeitos colaterais e tóxicos, não raramente levando os pacientes a morte súbita por *fragmentatio cordis* e por isto tiveram o seu uso proscrito (Dias 1949).

Durante a Segunda Guerra Mundial, cientistas da indústria farmacêutica Bayer na Alemanha desenvolveram o lucanthone (miracil D), mantido em sigilo até o fim da guerra. Com a vitória dos Aliados, essa descoberta foi incorporada pela indústria farmacêutica americana (Sterling Winthrop), passando a ser o primeiro agente esquistossomicida conhecido de uso oral. Todavia, de maior importância, foram os estudos posteriores, já na década de 60, quando a hidrometilação do lucanthone (miracil D) deu origem a uma droga ativa tanto por via muscular como por via oral, em dose única, denominada hycantone (Archer & Yarinsky 1972). Infelizmente efeitos tóxicos graves apareceram com o uso do hycantone, causando óbitos (muitos no Brasil) por atrofia amarela aguda do fígado (Andrade *et al.* 1974), levando novamente a que a terapêutica da esquistossomose ficasse sem opção, a não ser o uso do niridazole (Ambihar^R), que, embora de uso oral, exigia administração da droga por 5 a 7 dias, com tolerância baixa, especialmente causando convulsão e alucinação, além de apresentar mutagenicidade, carcinogenicidade, e de ser embriotóxica e imunossupressora (Katz 1977).

Na década de 70, iniciam-se os estudos com a oxamniquina (Pfizer, Inglaterra), droga de tolerância boa e percentual de cura alto, especialmente no Brasil e em outros países do continente americano, mas sem os mesmos resultados terapêuticos bons no Egito e no lado Oriental e Central da África. No fim dessa mesma década, aparece o praziquantel (descoberta alemã da indústria Merck e desenvolvida em conjunto com a Bayer), que, por apresentar tolerância

boa e ação terapêutica marcante, ser ativo contra todas as espécies do *Schistosoma* que parasitam o homem, poder ser usado em larga escala, em dose única oral e com preço baixo. É atualmente considerada a droga de escolha para o tratamento clínico e uso em saúde pública nas áreas endêmicas da esquistossomose.

Nesse capítulo serão revistos os estudos clínicos na esquistossomose mansoni com oxamniquina e praziquantel, bem como os derivados da artemisinina (drogas desenvolvidas na República Popular da China, inicialmente para tratamento da malária), bem como os problemas recentemente encontrados de resistência dos parasitas às drogas esquistossomicidas, a associação de drogas e, finalmente, os resultados obtidos com o uso desses agentes visando o controle da esquistossomose em zonas endêmicas.

Para conhecimento das outras drogas utilizadas previamente no tratamento da esquistossomose, bem como para conhecimentos mais extensos e detalhados das drogas utilizadas atualmente, existem várias revisões que devem ser consultadas entre as quais estão as de (Werbel, 1970, Archer & Yarinsky 1972, Katz & Pellegrino 1974, Katz 1977, Davis 1993, Cioli *et al.* 1995). Recomenda-se especialmente o excelente livro de John Farley (1991) sobre a história da esquistossomose, desde sua descoberta, passando por fatos pitorescos sobre a terapêutica.

2 OXAMNIQUINA

Em 1964, a indústria farmacêutica Pfizer (Sandwich, Inglaterra) iniciou um programa específico para o desenvolvimento de um novo agente esquistossomicida. Esses estudos tiveram como base inicial a análise de um grupo químico, aminoalquiltolueno. Esse grupo havia sido investigado inicialmente nos Laboratórios Bayer (Eberfeld, Alemanha) durante a 2ª Guerra Mundial, e publicações sobre o mesmo somente foram feitas após o fim da guerra (Kikuth & Gönnert 1948) quando as patentes (e todo o acervo de pesquisas) já estavam nas mãos dos vencedores (EUA, Inglaterra e União Soviética).

O composto mais ativo desse grupo, com estrutura semelhante ao lucanthone (miracil D), foi denominado mirasan. Seguindo processo semelhante ao observado com o lucanthone que após hidroximetilação deu origem a um novo composto, muito mais ativo, o hycanthone (Etrenol^R). A oxidação do UK-3883, pelo fungo *Aspergillus sclerotiorum*, deu origem ao UK-4271 posteriormente denominado oxamniquina (Foster 1973).

Esse novo agente esquistossomicida recebeu o nome comercial de Mansil^R, que é uma mistura das palavras “mansoni” e “Brasil”, onde foram realizados os primeiros ensaios clínicos com essa droga.

A oxamniquina é uma droga de cor amarelada, pouco solúvel em água. As cápsulas contêm 250 mg e a suspensão 250 mg em 5 ml. Por ser um produto que necessita de uma etapa de fermentação continuaram a ser fabricadas unicamente pela Pfizer. A falta de concorrência manteve o alto preço dessa droga, o que nos últimos anos fez com que seu uso diminuísse muito. Seguramente mais de 13 milhões de tratamentos já foram feitos no Brasil, não havendo relato de óbito relacionado ao uso do medicamento.

O primeiro ensaio clínico realizado no Brasil revelou que a oxamniquina administrada por via intramuscular na dose única de 7,5 mg/kg foi bem tolerada e muito eficiente. De fato, o único efeito colateral observado foi dor no local da aplicação. Todos os nove pacientes tratados foram considerados curados, inclusive os quatro que se encontravam nos primeiros meses de infecção, 5 a 9 meses após contágio (Katz *et al.* 1973). Posteriormente, novos ensaios foram realizados, por diversos grupos de investigadores no país, sendo sempre obtidos

resultados semelhantes, ou seja, poucos efeitos colaterais (a não ser dor no local da aplicação, às vezes muito intensa, na maioria dos tratados com persistência por 3 a 7 dias) e atividade terapêutica em torno de 90% (ver suplemento especial da Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo 15 (supl. 1):1-176, 1973). Nesse mesmo suplemento foram apresentados ensaios realizados na África, sendo que os resultados dos ensaios no Kênia foram semelhantes aos obtidos no Brasil; já na antiga Rodésia (Zimbabwe) praticamente não houve cura, e na Tanzânia os resultados também foram parecidos com os vistos no Brasil, mas com a dose 4 vezes maior, ou seja, 30 mg/kg.

Portanto, desde os primeiros ensaios pôde-se concluir que a oxamniquina por via intramuscular, na dose de 7,5 mg/kg, é bem tolerada (com exceção da dor local), com poucos efeitos tóxicos e apresenta elevada atividade terapêutica; já na África oriental, embora a tolerância também tenha sido boa, o percentual de cura foi muito menor, mesmo com doses bem maiores que as ensaiadas no Brasil. Devido à dor local persistente, o laboratório produtor passou a fabricar a droga para uso oral. Ensaios clínicos no Brasil mostraram que a dose única oral de 15mg/kg para adultos e 20mg/kg para crianças apresentava boa tolerância, poucos efeitos tóxicos e índice de cura de 80 a 90% em adultos e de 65 a 90% em crianças (Silva *et al.* 1974; Katz *et al.* 1976; Katz *et al.* 1977). Os efeitos colaterais mais comumente observados após a administração da oxamniquina, nas doses acima preconizadas, são tonturas, náuseas, cefaléia e sonolência, menor freqüência nas dores abdominais e vômitos. Essa sintomatologia surge uma a duas horas após a administração da droga e persiste na maioria dos casos por 24 horas. Em cerca de 0,5% dos casos tratados se observou irritabilidade, excitabilidade, alucinação ou convulsão. Exames complementares revelaram elevação dos níveis de transaminases plasmáticas, leucopenia, hematúria e/ou proteinúria em alguns pacientes.

Alterações nos traçados eletroencefalográficos e eletrocardiográficos também foram encontrados (Silva *et al.* 1974, Katz *et al.* 1976, Katz *et al.* 1977, Bina & Spinola 1976, Domingues & Coutinho 1975, Katz 1980). Pela segunda vez, houve uma reunião internacional no Brasil para a apresentação dos dados clínicos com participação de cientistas nacionais, mas também do Egito e de outros países africanos. Os trabalhos apresentados foram publicados em 1980, na Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo 22 (supl. 4): 1-116 (em inglês) ou 22 (supl.4): 117-238 (em português). Destes, vale destacar a

confirmação de que a posologia para o tratamento das crianças (até 15 anos) infectadas com esquistossomose no Brasil deve ser maior (20 a 25 mg/kg) do que a utilizada em adultos (15mg/kg), (Pedro *et al.* 1980). Foi ainda relatado que em um paciente que havia sido tratado previamente com hycanthon (2,5/kg, por via i.m) e não havia sido curado foi administrada a oxamniquina na dose de 14 mg/kg dose única oral). Esse paciente continuou eliminado ovos viáveis de *S. mansoni* nas fezes, tendo fechado o ciclo com esse isolado (denominado MAP). A primeira e a segunda geração dos vermes obtidos experimentalmente de camundongos mostraram-se resistentes ao tratamento com hycanthon e oxamniquina, embora susceptíveis ao niridazole (Pedro *et al.* 1980).

Biópsias hepáticas realizadas antes e após tratamentos de pacientes esquistossomóticos não revelaram alterações que pudessem estar relacionadas ao uso da droga (Pedro *et al.* 1980, Andrade *et al.* 1980). Também não houve exacerbação das condições clínicas, histológicas ou patofisiológicas em 92 pacientes com formas hepatoesplênicas da esquistossomose, associadas ou não às formas cardiopulmonares com ou sem cianose, nefropatia e com presença de salmonelose crônica ou hepatite viral crônica (Coutinho & Dominguez, 1980) sugerem que naqueles casos em que possa haver manifestações de hipersensibilidade, particularmente naquelas com forma cardiopulmonar severas, devem ser associados corticoesteróides à oxamniquina (Coutinho & Dominguez, 1980). É interessante relatar a existência na literatura de reações de broncoespasmo e outras manifestações pulmonares e renais quando se usa a oxamniquina, que podem provavelmente estar relacionadas à hipersensibilidade do organismo, a mortalidade dos vermes, causada pelo agente esquistossomicida (Coutinho *et al.* 1988, Silva 1974, Silva *et al.* 1978, Pedrosa 1978).

A oxamniquina também revelou ser um agente útil no tratamento da esquistossomose recente, produzindo percentual de cura semelhante ao observado na fase crônica. Os bons resultados clínicos, laboratoriais e anátomo-patológicos associados a ausência de efeitos mutagênicos importantes ou teratogênicos e/ou carcinogênicos em animais de laboratório indicavam a possibilidade do amplo uso da oxamniquina no campo. De fato, os ensaios realizados por Coura *et al.* (1980), Katz *et al.* (1980), Prata *et al.* (1980), entre outros, demonstraram boa aceitação pela população e o impacto imediato, causado sobre as manifestações clínicas, proporcionando o bem estar dos

tratados, e sobre a prevalência da parasitose em áreas endêmicas. Também deve ser destacado, o desaparecimento dos sinais e sintomas causados pela infecção esquistossomótica, aí enquadrada a diminuição do tamanho do fígado e do baço, que pode ser vista alguns meses após o tratamento com os esquistossomicidas. Estes resultados tão favoráveis permitiram pela primeira vez que uma droga, em dose única e por via oral, pudesse ser aplicada a milhares de pessoas, sem grandes riscos, pelo Ministério da Saúde do Governo Federal Brasileiro dentro do PECE (Programa Especial de Controle da Esquistossomose). De fato, nesse Programa foram tratados milhões de brasileiros, inicialmente nos estados nordestinos, posteriormente na Bahia e em Minas Gerais (Camargo 1980).

Após mais de 13 milhões de tratamentos realizados nas zonas endêmicas de esquistossomose no Brasil, sem relato de efeitos tóxicos ou adversos sérios, pode-se concluir que a oxamniquina é uma droga bem tolerada e com boa atividade terapêutica, para tratamento individual ou em larga escala, chamando a atenção que apenas o seu preço elevado é um fator limitante à utilização, principalmente como medida de Saúde Pública.

É sugerida a leitura de duas revisões, para aqueles que querem mais detalhes a respeito da oxamniquina: a de Foster (1987), em que é revista a experiência clínica com a droga, e a de Cioli *et al.* (1995) para mecanismos de ação e farmacologia da oxamniquina.

3 PRAZIQUANTEL

Essa droga descoberta nos anos 70, nos Laboratórios da Indústria Farmacêutica (Merck, Darmstad, Alemanha), teve seu desenvolvimento realizado em conjunto com os laboratórios Bayer. É curioso destacar que originalmente o grupo químico pirazino-isoquinolina (ao qual o praziquantel pertence) foi utilizado para encontro de novos tranquilizantes (Groll *et al.* 1984). Por outro lado, mesmo após a comprovação no Brasil e em diferentes países do mundo de sua utilidade como esquistossomicida, em nosso país foi lançada comercialmente para tratamento de cestóides, daí o nome comercial de Cestox^R e Cisticide^R, ao contrário do que ocorreu na África e na Ásia, onde é conhecido como Biltricide^R

ou Distocide^R. O praziquantel (inicialmente EMBAY 8440) foi selecionado após síntese de mais de 400 compostos e apresenta ação anti-helmíntica polivalente.

O praziquantel produzido pela Bayer tem 600 mg por comprimido. Deve-se destacar que, menos de um ano após o registro da patente pelas indústrias farmacêuticas alemãs, a República Popular da China desenvolveu processo próprio de síntese do praziquantel e iniciou sua fabricação com o nome de Pyquiton^R. Posteriormente, Shim Poong Pharmaceutical Company na Coreia do Sul, Eipico no Egito e Farmanguinhos no Brasil também passaram a produzir essa droga, o que levou a queda substancial do preço (atualmente sete centavos de dólar americano por comprimido). Destaque-se que Farmanguinhos desenvolveu uma formulação oral líquida, com sabor agradável, própria para administração em crianças. Também Eipico no Egito produz suspensão oral.

A absorção do praziquantel é rápida, pois a concentração máxima no soro é observada 2 a 4 horas após a ingestão (Leopold *et al.* 1978, Dayan 2003). Também o processo metabólico da droga é rápido, com meia vida no plasma de 1 hora. A concentração plasmática é influenciada pela dose, pela quantidade e qualidade da refeição e pela formulação da droga (Leopold *et al.* 1978, Dayan 2003). Uma dieta rica em carboidratos aumenta a absorção da droga no homem (Mandour *et al.* 1990). Até 80% do praziquantel liga-se às proteínas plasmáticas (Steiner *et al.* 1976). A eliminação da droga ocorre principalmente pela urina (80%), sendo o restante encontrado nas fezes e na bile. O metabolismo nos pacientes portadores da esquistosomose e nos animais infectados é menor do que nos animais não infectados. Em indivíduos saudáveis 15 minutos após a ingestão oral de praziquantel marcado com carbonoradioativo (C14) já se encontram 80% de metabólitos. Os principais metabólitos são: mono e di-hidroxi derivados do praziquantel (Dollery 1982).

O praziquantel pode ser detectado no leite humano, mas em quantidades muito pequenas, apenas 0,0008% (Cioli *et al.* 1995). A administração conjunta de cloroquina ou previamente de carbamazepina e fenitoina podem reduzir a biodisponibilidade do praziquantel (Bittencourt *et al.* 1982, Masimirembwa & Hasler 1994).

Desde o início dos ensaios clínicos com praziquantel, a indústria farmacêutica contou com o apoio da Organização Mundial de Saúde para a realização dos ensaios, com protocolos padronizados. Os primeiros ensaios clínicos foram realizados no Brasil, em pacientes infectados pelo *Schistosoma mansoni* por

Katz *et al.* (1979) no Zâmbia, em pacientes com *S. haematobium* por Davis *et al.* (1979) e no Japão e nas Filipinas, em pacientes com *S. japonicum* (Ishisaki *et al.* 1979; Santos *et al.* 1979).

As doses recomendadas foram de 30 a 40 mg/kg (dose única) para *S. haematobium*, 40-50 mg/kg (divididos em duas doses) para *S. mansoni* e 60 mg/kg para *S. japonicum* (divididos em duas doses). Com essas doses foram obtidos 80 a 90% de cura parasitológica. Os efeitos adversos mais freqüentes foram dores abdominais, diarréia, náusea, vômito e anorexia. Quanto ao sistema nervoso central foram detectados: cefaléia, tonturas, cansaço e menos frequentemente a sensação descrita pelos pacientes como “cabeça oca” e sensação de quente e frio; outras reações colaterais foram o aumento da temperatura corporal e manifestações na pele, como prurido e urticárias. Essas reações aparecem algumas horas após a ingestão da droga com duração, na quase totalidade dos casos, de 24 a 48 horas (Katz *et al.* 1979, Davis & Wegner 1979, Ishizaki *et al.* 1979, Santos *et al.* 1979).

As manifestações cutâneas às vezes aparecem quatro a seis dias após o tratamento, o que leva alguns pesquisadores a acreditar que se trata de uma reação do organismo à liberação de substâncias devido à morte dos vermes. Alterações laboratoriais observadas foram principalmente o aumento da eosinofilia, mas também discretas alterações eletrocardiográficas.

Uma comissão internacional que reviu os estudos de mutagenicidade com drogas esquistossomicidas concluiu que o praziquantel não apresentou genotoxicidade nos esquemas utilizados (Kramers *et al.* 1991).

Ensaio realizados em pacientes com forma hepatoesplênica apresentaram bons resultados (Coutinho *et al.* 1984, Bassily *et al.* 1985). Quando havia acometimento cerebral pelo *S. mansoni*, *S. haematobium* ou *S. japonicum*, o praziquantel isolado ou em associação com corticóides também apresentou bons resultados (Watt *et al.* 1986, Scrimgeour *et al.* 1985). Na fase aguda da esquistossomose mansoni o praziquantel também revelou seu bom potencial curativo (Katz *et al.* 1980, Lambertucci 1995, Farid *et al.* 1987).

Alguns autores têm sugerido aumento da dosagem do praziquantel, visando melhorar o índice de cura, preconizando esquemas de duração prolongada de até cinco dias (Cunha *et al.* 1987, Ferrari *et al.* 2003). É evidente que quando o objetivo é o tratamento em larga escala em zonas endêmicas este último esquema é inviável. Mesmo para o tratamento individual, o aumento do

percentual de cura observada não o justifica. Para os pacientes não curados é melhor repetir o tratamento com a mesma droga inicial e, se mesmo assim não houver cura, usar outra droga (Katz *et al.* 1991).

Uma questão que tem surgido frequentemente é se mulheres grávidas (ou com idade apropriada para engravidar) e aquelas que estão amamentando deveriam ser tratadas especificamente. Como até o presente, não foram realizados ensaios clínicos controlados em mulheres nessas condições, o FDA (Food and Drug Administration), agência que controla e libera os medicamentos nos Estados Unidos da América, classificou o praziquantel na categoria B no que se refere à gravidez, isto é, “droga presumidamente segura baseado em estudos animais”. Isso levou a maioria dos programas de controle a excluírem as mulheres grávidas e aquelas que estão amamentando. Em trabalho recente, fundamentado nos casos existentes na literatura, Olds (2003) propõe que as mulheres grávidas sejam tratadas. Por outro lado, para aquelas que estejam amamentando, recomenda-se que seja feita a interrupção da amamentação materna por 48 horas, para poderem também ser submetidas ao tratamento com praziquantel (Olds 2003).

A administração da cimetidina bloqueia o metabolismo do praziquantel em ratos aumentando significativamente a concentração do esquistossomicida no soro dos animais (Diekmann *et al.* 1989). A mesma ação também foi revelada para o ketoconazol e miconazol no metabolismo do praziquantel (Diekmann *et al.* 1989). Foi mostrado que o uso conjugado do praziquantel (200 mg/kg por dois dias seguidos) e cimetidina (mesma dosagem) produziu 100% de mortalidade dos vermes (Ebeid *et al.* 1994). Posteriormente, a associação praziquantel (25mg/kg x 3 com intervalos de 2 horas entre as doses) e cimetidina (400 mg, antes de cada dose) foi utilizada com resultados bons para o tratamento da neurocisticercose em apenas um dia (Overbosch 1992, Corona *et al.* 1996, Lópes-Gomes *et al.* 2001). Também foram obtidos resultados semelhantes quando a cimetidina foi substituída por uma dieta rica em carboidratos (650 calorias), administradas 30 minutos antes do praziquantel (Lópes-Gomes *et al.* 2001). Infelizmente, os autores não detalharam a dieta utilizada. Todavia, os dados desses autores concordam com os de Mandour *et al.* (1990), quando utilizaram dieta constituída de óleo, feijão e pão de trigo, mas deve-se chamar a atenção para o trabalho de Metwally *et al.* (1995) que encontraram diminuição da

concentração do praziquantel em soros de pacientes quando essa droga foi administrada conjuntamente com 50 g de glicose ou 2g de bicarbonato. Assim sendo, parece não ser a glicose (ou ela isoladamente) a responsável pelo aumento do nível de praziquantel no plasma. O uso concomitante da cimetidina com o praziquantel aumenta significativamente, em até duas vezes e meia, a biodisponibilidade dessa última (Overbosch 1992, Corona *et al.* 1996).

A cimetidina é um inibidor do citocromo P₄₅₀ e antagonista do receptor H₂ da histamina, e é essa inibição que deve ser a responsável pelo aumento da concentração do praziquantel no plasma, através da inibição da degradação metabólica dessa droga pelo fígado, quando as duas drogas são administradas conjuntamente em animais de laboratório ou no homem (Overbosch 1992). O mesmo efeito foi revelado pela cimetidina quando em administração conjunta com anticoagulantes orais, teofilina e mebendazol (Brosern 1990, Bekhit & Piroti 1987). O uso concomitante de corticoesteróides e praziquantel diminui a biodisponibilidade deste último (Vasquez *et al.* 1987); mesmo assim, essa associação tem sido recomendada para diminuição das reações inflamatórias, seja na neurocisticercose ou na forma toxêmica da esquistossomose aguda, mas as drogas devem ser administradas com algumas horas de intervalo entre elas.

Ensaio multicêntrico, duplo-cego, foi realizado por quatro grupos de pesquisadores brasileiros. Esse estudo, patrocinado pela Merck, foi desenhado para comparar a tolerância e atividade do praziquantel com a oxamniquina (Rezende 1985). Ambos os medicamentos foram administrados por via oral em dose única, na média de 55 mg/kg de peso corporal para praziquantel e 16 mg/kg para a oxamniquina. A idade dos indivíduos variou de 8 a 65 anos com uma média de 20,6 anos, sendo 25% abaixo de 15 anos e 9% acima de 30; 7% eram constituídas de pacientes com forma aguda, 70% com forma intestinal ou hepatointestinal e 5% forma hepatoesplênica. Em torno de 80% apresentaram carga parasitária, medida pelo número de ovos de *S. mansoni* nas fezes, pelo método de Kato-Katz, (Katz *et al.* 1972) de baixa ou média intensidade, isto é, até 500 ovos/gr. Foram tratados em torno de 270 pacientes com cada uma das drogas. A incidência e gravidade dos efeitos colaterais foram semelhantes nos dois grupos tratados, porém desconforto abdominal e diarreia foram significativamente mais freqüentes com praziquantel, e tontura, com oxamniquina. Também no grupo tratado com praziquantel foram observados como efeitos colaterais importantes, reação urticariforme em dois casos, prurido

e febre em quatro casos e no grupo com oxaminiquina, um caso de convulsão. Outros efeitos colaterais observados com maior freqüência foram tonturas, cefaléia, náusea, vômito e diarréia. A cura parasitológica (revelado por pelo menos 3 exames de fezes no 6º mês pós-tratamento) foi de 75,5% para o praziquantel e de 69,8% para oxamniquina, não havendo diferença estatística entre os dois grupos. Nos pacientes não curados houve redução significativa de 88,6% e 74,6% na média do número de ovos eliminados por grama de fezes, respectivamente para o praziquantel e oxamniquina (Rezende 1985). Esse ensaio foi importante para concluir que no Brasil as duas drogas equivalem-se em efeitos adversos e atividade de cura e ambas podem ser consideradas bons esquistossomicidas, seja para o tratamento na clínica médica, seja para uso em programas de saúde pública.

Já foram administrados mais de 53 milhões de doses de praziquantel, especialmente no Egito, Brasil, China e Filipinas, sem registro de nenhum caso fatal (Fenwick *et al.* 2003).

4 DERIVADOS DA ARTEMISININA

A artemisinina é o princípio ativo das folhas de *Artemisia annua*, planta utilizada há mais de dois mil anos para tratamento de febre na China. A partir da década de 70, a artemisinina e seus derivados (artemether e artesunato) foram estudados e desenvolvidos inicialmente pelos cientistas chineses para o tratamento da malária. A atividade esquistossomicida foi descrita também pelos chineses com base nas experimentações de animais experimentalmente infectados pelo *S. japonicum* (Le *et al.* 1982) e posteriormente essa atividade foi vista também em *S. mansoni* e *S. haematobium* (Araújo *et al.* 1991, Xiao *et al.* 2002).

Ensaio clínico já foram realizados em mais de 3000 indivíduos, especialmente visando reduzir a incidência e intensidade da infecção em residentes de zonas endêmicas. De fato, Utzinger *et al.* (2000) ensaiaram o artemether na Costa do Marfim, África, por via oral, na dose de 6 mg/kg, administrados a cada três semanas, por seis vezes. Antes os escolares foram tratados por duas vezes com praziquantel, com intervalos de quatro semanas. A avaliação final foi feita três semanas após o término do tratamento. Não foram

relatados efeitos colaterais graves com o uso do artemether. O grupo que recebeu o artemether teve incidência de infecção pelo *S. mansoni* significativamente menor que a do grupo controle dos 128 tratados, (24,2%) infectaram; dos 140 pacientes. Também a média geométrica do número de ovos de *S. mansoni* foi menor no grupo tratado com artemether quando comparado ao controle (19 e 32 ovos/gr de fezes). Resultados similares já haviam sido descritos antes em trabalhos realizados na República Popular da China em área endêmica do *S. japonicum* (Xiao *et al.* 2000).

Deve-se, chamar a atenção para o potencial perigo do uso continuado e prolongado da artemisinina e seus derivados em área endêmica para malária, pois teoricamente existe a possibilidade do aparecimento de resistência a essas drogas, que atualmente são muito importantes para o tratamento dos indivíduos infectados pelo *Plasmodium falciparum*, especialmente devido ao rápido e eficaz efeito que apresentam nos casos de envolvimento cerebral causado por esse parasito. Embora exista a possibilidade do uso em população residente em zona endêmica para que essa não se infecte pelo *Schistosoma*, as formulações atuais da artesiminina e/ou seus derivados não parecem ter indicação do ponto de vista prático, seja pela necessidade do tratamento repetido e constante nessas áreas, seja pela possibilidade do aparecimento de formas resistentes a essas drogas na malária. Todavia, é possível indicá-las para o tratamento de curto prazo de pessoas que obrigatoriamente têm que entrar em contato com águas contaminadas em zonas endêmicas, como, o pessoal das forças armadas ou limpadores de canais de sistema de irrigação.

5 RESISTÊNCIA ÀS DROGAS ESQUISTOSSOMICIDAS

Foram Rogers and Bueding (1971) que pela primeira vez demonstraram a existência de uma cepa de *S. mansoni* resistente a um agente esquistossomicida (Rogers & Bueding 1971). De fato, camundongos infectados com uma cepa de *S. mansoni* de Porto Rico foram tratados com hycanthone, por via intramuscular, e, nestes, foi vista parada temporária da eliminação de ovos nas fezes. Quando os ovos voltaram a ser encontrados nas fezes, 12 meses após o tratamento, estavam viáveis dando origem a miracídios capazes de infectar caramujos. As cercárias provenientes desses foram utilizadas para infecção de camundongos,

cujos vermes adultos mostraram estar resistentes ao tratamento com hycanthone (Rogers & Bueding 1971). Logo em seguida, Katz *et al.* (1973) isolaram, também pela primeira vez, cepas de *S. mansoni* provenientes de dois pacientes menores que haviam sido tratados por duas vezes com hycanthone e uma vez com niridazol e mesmo assim continuavam eliminando ovos viáveis nas fezes. Fechando o ciclo em laboratório, os camundongos infectados por essa cepa (WW) mostraram resistência ao tratamento com hycanthone e também com oxamniquina (Katz *et al.* 1973). Vários estudos posteriores confirmaram a existência de cepas resistentes a esses agentes esquistossomicidas (Campos *et al.* 1973, Dias *et al.* 1978, Dias *et al.* 1982, Coles *et al.* 1987, Araujo & Souza 1991, Coelho *et al.* 1997, Conceição *et al.* 2000, Fallon & Doenhoff 1994). Em 1991, Katz *et al.*, trataram dois grupos de crianças: o primeiro constituído de 90 pacientes com oxamniquina (dose única, oral de 20g/kg) e o segundo de 110 pacientes com praziquantel (dose única oral, de 60mg/kg). O percentual de cura foi semelhante em ambos os grupos (85%). Em seguida, os não curados com a droga utilizada receberam a outra medicação. No total, para o segundo tratamento, foram tratados 12 pacientes com oxamniquina ou com praziquantel. Destes, apenas um continuou eliminando ovos viáveis de *S. mansoni*. Esse ensaio mostrou que indivíduos não curados com oxamniquina foram curados com praziquantel e vice-versa. Destaque-se ainda que foram obtidos cinco isolados dessas crianças antes do primeiro tratamento. Não foi detectada correlação entre a resposta a droga utilizada nas crianças e as obtidas em animais de experimentação, permitindo a conclusão de que a falha terapêutica clínica nem sempre está associada à presença de resistência da cepa de *S. mansoni* e que a resposta ao tratamento é droga específica (Katz *et al.* 1991).

Fallon e Doenhoff (1994) utilizaram um “pool” de cercárias provenientes de quatro isolados de *S. mansoni* oriundos de regiões geográficas diferentes. Após sete tratamentos com doses subcurativas de praziquantel, que foram sendo aumentadas a cada tratamento, obtiveram uma cepa da qual, 93% dos vermes sobreviveram a três doses de 300 mg/kg, enquanto apenas 10% dos vermes sobreviveram no grupo controle. Essa cepa demonstrou ser resistente ao praziquantel, mas sensível ao uso da oxamniquina, isto é, trata-se de cepa resistente a uma droga específica (Fallon & Doenhoff 1994).

Os resultados dos exames coproparasitológicos realizados em populações residentes em Richard Toll (Senegal) após o tratamento com praziquantel (dose

única, oral de 40mg/kg) revelaram uma baixa porcentagem de cura, de apenas 18% nos infectados pelo *S. mansoni* (Gryseels *et al.* 1994).

A divulgação desses resultados causou grande comoção na opinião pública, bem como na comunidade científica, exigindo várias manifestações da OMS, temerosa do praziquantel ser contestado como esquistossomicida na África.

Muitos estudos e ensaios clínicos foram realizados para explicar este mau resultado do praziquantel, discordante dos outros inúmeros ensaios realizados nas mais diferentes regiões geográficas em três continentes, que apresentaram boa eficácia terapêutica. Ensaio clínico utilizando-se duas doses de 30 mg/kg foram realizados, em 30 crianças infectadas com carga parasitárias alta que foram alocadas em diferentes grupos e tratados com a dose usual e com a dose maior. Os resultados dos exames coprológicos e também da pesquisa de antígeno circulante não mostraram diferença significativa do percentual de cura entre os dois grupos (44% e 34%, seis semanas após o tratamento), (Gryseels *et al.* 1994, Stelma *et al.* 1995). É interessante destacar que foi observado (em ambos os grupos) um decréscimo de 99% na contagem de ovos de *S. mansoni* nas fezes. Outro estudo comparando praziquantel (40 mg/kg) com oxamniquina (20mg/kg) foi realizado em 138 pacientes (5-75 anos de idade) provenientes do mesmo foco (Ndombo-Richard Toll). Seis semanas após o tratamento, o percentual de cura foi de 79% nos tratados com oxamniquina e de 36% com praziquantel (Stelma *et al.* 1997). Várias hipóteses foram levantadas para explicar essa baixa atividade da droga nesse importante foco esquistossomótico: transmissão alta com reinfecções precoces, presença de vermes imaturos, resposta imune deficiente dos pacientes por tratar de um foco recente, uso de droga com baixa qualidade e susceptibilidade baixa ou mesmo resistência de cepas na área (Gryseels *et al.* 2001).

Experimentalmente foi demonstrado em camundongos tratados com praziquantel e infectados com isolados de Richard Toll que os animais apresentaram resposta terapêutica bem menor do que com a cepa de *S. mansoni* mantida rotineiramente no laboratório (Fallon *et al.* 1995). As diferentes partidas de praziquantel utilizadas nos ensaios clínicos mostraram-se igualmente eficazes nos ensaios experimentais em camundongos (Katz & Araujo {dados não publicados}, Stelma *et al.* 1995). Gryseels *et al.* (2001) revisaram os vários estudos e ensaios clínicos realizados com praziquantel e discutem em extensão as várias possibilidades, concluindo que o baixo índice de cura pode ser

explicado pela alta carga parasitária e intensa transmissão na área e que não é possível afirmar se existe ou não resistência na cepa senegalesa. Todavia a meta-análise realizada por Denso-Appiah & De Vlas (2002) analisando vários ensaios clínicos realizados em diferentes países da África (Sudão, Burundi, Zaire, Egito e Senegal) mostrou que a alta intensidade da carga parasitária nos pacientes tratados bem como a técnica utilizada no diagnóstico e avaliação podem explicar parcialmente o percentual baixo de cura, mas o que foi chamado de “fator Senegal”, isto é, a resistência ou tolerância da cepa do *S. mansoni* ao praziquantel, não pode ser excluído.

Ismail *et al.* (1996) relataram que no Egito de 1988 a 1991 foram tratados com praziquantel mais de 10 milhões de pessoas infectadas pela esquistossomose. Nesse último ano, observaram no Delta do Nilo que 2,3% dos infectados não haviam sido curados, embora houvessem sido tratados com três doses sucessivas de praziquantel (duas de 40 mg/kg e a terceira de 60 mg/kg). Quando os ovos de *S. mansoni* provenientes desses pacientes foram utilizados para fechar o ciclo, os camundongos infectados e tratados com praziquantel mostraram 80% deles, uma baixa resposta à droga (Ismail *et al.* 1996). Também *in vitro* a resposta estava diminuída, seja em relação à contração dos vermes (Ismail *et al.* 1999) seja quanto à ruptura do tegumento dos vermes (William *et al.* 2001), quando em contato com o praziquantel.

Observação muito interessante foi vista numa cepa resistente (R1), oriunda de um paciente que havia sido tratado com praziquantel e oxamniquina e que não havia sido curado (Coelho *et al.* 1998). Essa cepa (R1), comparada com a cepa LE (mantida rotineiramente no laboratório), apresentava a mesma susceptibilidade a oxamniquina (200 mg/kg, dose única oral, em camundongos), quando o tratamento foi feito na fase da infecção na pele (1 dia) ou na pulmonar (6 dias). A resistência à droga manifestou-se no início da maturidade dos vermes, 25 dias após a infecção, (Coelho *et al.* 1998). Também Mattoccia & Cioli (2004) observaram que para o tratamento da infecção aos 28 dias, em camundongos infectados com a cepa de Porto Rico, foi necessária dose 30 vezes maior de praziquantel do que a usada para a infecção com 49 dias.

Três conclusões importantes podem ser tiradas dos estudos discutidos: 1º) é possível selecionar (ou induzir) cepas resistentes ao praziquantel e a oxamniquina em laboratório; 2º) existem cepas em diferentes regiões endêmicas que apresentam naturalmente diferente susceptibilidade (ou mesmo tolerância)

aos agentes esquistossomicidas; 3º) tendo em vista a possibilidade teórica de encontro de cepas resistentes a oxamniquina e praziquantel (o que ainda não foi demonstrado em um mesmo isolado) e considerando que para muitas regiões na África e em toda Ásia apenas o praziquantel vem sendo usado (pois a oxamniquina não apresenta atividade contra o *S. haematobium* ou o *S. japonicum* ou mesmo para o *S. mansoni* em muitas regiões do continente africano) é necessário e urgente o encontro de novos agentes esquistossomicidas.

6 ASSOCIAÇÃO DE DROGAS

A associação de drogas para o tratamento da esquistossomose na clínica médica ou em programas de saúde pública tem como objetivos: 1) uso de menor quantidade de cada uma visando diminuir a frequência dos efeitos adversos (e/ou tóxicos) e aumentar o índice terapêutico; 2) dificultar (ou impedir) o aparecimento de cepa resistente ao agente esquistossomida; 3) curar os pacientes que tenham concomitância de infecção crônica e re-infecção recente (vermes maduros e imaturos); 4) obter, de preferência ação sinérgica entre as drogas e não apenas ação aditiva.

A associação de drogas tem seguido dois caminhos, 1) uso de duas drogas esquistossomicidas (exemplo: praziquantel e oxamniquina, praziquantel e artemether); e 2) uso de um agente esquistossomicida associado a uma droga que tenha atividade sobre o metabolismo da primeira (por exemplo: praziquantel e cimetidina). Não se devem esquecer as incompatibilidades farmacológicas entre drogas, que podem interferir na ação isolada de cada uma (por exemplo: praziquantel e corticoesteróides).

Neste capítulo serão discutidos os ensaios clínicos, especialmente os resultados obtidos no uso da associação da oxamniquina e praziquantel e dessa com artemether.

Em 1983, Pugh e Teesdale ensaiaram a combinação praziquantel (de 8 a 20 mg/kg) e oxamniquina (4 a 10 mg/kg) em escolares de 6 a 20 anos no Malawi. Estes estavam infectados com *S. mansoni* e/ou *S. haematobium*. Mesmo com as doses maiores, os efeitos colaterais foram poucos, mostrando ser essa associação bem tolerada. Os autores concluírem que houve ação sinérgica entre

as duas drogas (Pugh & Teesdale 1983). Todavia, na análise dos resultados foram levantadas algumas objeções, tais como: 1) os grupos de escolares tratados eram constituídos por número pequeno de casos (22 a 30 por grupo); 2) metade dos pacientes apresentava infecção mista; 3) só foi considerada a redução do número de ovos, não sendo mencionada o percentual de cura; 4) a intensidade da infecção era alta antes do tratamento e 5) apenas um único exame de fezes ou urina foi realizado, um mês após o tratamento (Utzinger *et al.* 2003). Outro ensaio clínico utilizando-se a associação de praziquantel (20 mg/kg) e oxamniquina (4 a 10 mg/kg) foi realizado no Zimbábue em crianças de 7 a 16 anos infectados com *S. mansoni* e/ou *S. haematobium*. Os autores concluíram que essa associação não foi superior ao uso do praziquantel sozinho (Creasey *et al.* 1986).

No Brasil, os ensaios clínicos realizados apresentaram resultados contraditórios. De fato, Campos *et al.* 1985, utilizando a associação praziquantel (15 mg/kg/oral) e oxamniquina (7,5 mg/kg/oral) obtiveram evidências de que essa associação fosse vantajosa. O mesmo não foi confirmado por outros pesquisadores, em ensaios no país, que concluíram pela falta de ação sinérgica com essa associação (Dietze & Prata 1986, Zwingenberger *et al.* 1987, Grysche *et al.* 2004).

Recentemente, foram realizados dois ensaios na África. O primeiro ocorreu no Senegal, em uma área onde a transmissão de *S. mansoni* é muito intensa (Richard Toll) e que já foi citada neste capítulo, no que diz respeito à resistência ao praziquantel. O ensaio clínico incluiu 110 pacientes infectados com *S. mansoni* com idade 1 a 60 anos. Os pacientes foram divididos em três grupos e tratados com praziquantel (40mg/kg, dose única) e artesunato (dose total de 12 mg/kg, distribuídas em 5 dias e com as duas associadas). A avaliação de cura foi feita através de duas lâminas de uma mesma amostra fecal, pelo método de Kato-Katz (Katz *et al.* 1972) na semana 5, 12 e 24. O índice de cura na primeira avaliação foi de respectivamente 69 e 44%, para a associação ou praziquantel isoladamente. Já a redução de número de ovos de *S. mansoni* nas fezes foi semelhante nos dois grupos tratados, em torno de 86%, (De Clercq *et al.* 2000).

O segundo ensaio clínico foi realizado no Gabão (África) em 296 crianças infectadas pelo *S. haematobium* e tratadas com praziquantel mais placebo ou praziquantel e artesunato nas mesmas doses do primeiro ensaios acima relatado. Os percentuais de cura observados não foram significativamente diferentes,

sendo respectivamente de 73% e de 81% para a associação (Borrmann *et al.* 2001). Essa associação vem sendo estudada com mais freqüência na China (Xiao *et al.* 2002, Utzinger *et al.* 2000, Xiao *et al.* 2000).

Esses resultados, embora não muito animadores, indicam a necessidade de novos ensaios com outras posologias com essa associação, evitando-se, todavia, fazê-lo em áreas endêmicas, onde co-existam a malária e a esquistossomose.

A segunda abordagem que pode ser sugerida é a administração de praziquantel e cimetidina. Os ensaios clínicos realizados em portadores de neurocisticercose que permitiram passar de esquemas terapêuticos de longa duração para tratamento em um único dia, quando ao praziquantel foi acrescentado a cimetidina, indicam um bom modelo a ser experimentado nos casos de esquistossomose. O aumento da biodisponibilidade e da concentração do praziquantel no plasma em até duas vezes e meia, quando essa associação foi utilizada, permite que se tenha perspectiva de alcançar bons resultados na terapêutica clínica. Também outras drogas podem ser associadas com o mesmo desiderato, uma vez, que, por exemplo, a administração simultânea do miconazol e praziquantel em estudos experimentais em ratos mostrou aumento de até cinco vezes na concentração plasmática do praziquantel (Diekmann *et al.* 1989).

7 TRATAMENTO COMO MEDIDA DE CONTROLE

Trabalho pioneiro, na década de 50, foi realizado por Sette (1953), quando, examinando a população de uma região endêmica de esquistossomose em Pernambuco que havia sido tratada com antimoniais, demonstrou diminuição significativa do número de casos de cirrose hepática após o tratamento de milhares de pacientes com esquistossomose. Esse achado levou Kloetzel, nos anos sessenta, a estudar em área endêmica semelhante o resultado do tratamento específico na evolução das formas graves em crianças e a sugerir como conclusão do observado, que essas deveriam ser tratadas independentemente da possibilidade de serem reinfectadas (Kloetzel 1962, 1967). Em trabalho posterior e decisivo, realizado na Bahia, por Bina (1977), os resultados demonstraram claramente que as crianças residentes em zona endêmica de *S. mansoni* tinham tendência a adquirir a forma hepatoesplênica com o passar dos anos. De fato, no grupo examinado (controle) havia onze

portadores de forma hepatoesplênica e após seis anos foram encontrados 33 casos. Em um segundo grupo examinado na área, havia 14 crianças com forma hepatoesplênica em crianças infectadas e que foram tratadas (com hycanthone). Após seis anos, quatro crianças apresentaram redução do tamanho do fígado e baço, passando a serem consideradas como de forma intestinal ou hepatointestinal e nenhum novo caso de forma hepatoesplênica foi encontrado nesse grupo tratado, embora praticamente todos estivessem novamente eliminando ovos de *S. mansoni* nas fezes devido a reinfecções (Bina 1977).

Esses trabalhos, entre outros, realizados no Brasil (Katz *et al.* 1977, Coura *et al.* 1980, Prata *et al.* 1980) foram decisivos para que a Organização Mundial de Saúde, em 1985, após reunião de “peritos” na área da esquistossomose, em que havia três pesquisadores brasileiros e a coordenação de um pesquisador americano que também havia residido e pesquisado esquistossomose no Brasil (Bahia) durante muitos anos, passasse a indicar o controle da morbidade através do tratamento específico dos portadores de esquistossomose em zonas endêmicas (World Health Organization 1985). Com o aparecimento de drogas esquistossomicidas que podiam ser administradas em dose única oral, com atividade terapêutica boa e com efeitos adversos e tóxicos de baixa intensidade foi possível iniciar em várias áreas endêmicas projetos-pilotos que visavam o controle da morbidade (medida pela diminuição da incidência ou o não aparecimento das formas graves, isto é, forma hepatoesplênica). Estes projetos-pilotos realizados em diferentes estados brasileiros mostraram claramente que o uso da droga (mesmo que isoladamente) permitia uma baixa rápida da prevalência e da intensidade da infecção na população tratada (embora, se interrompido o tratamento, a tendência era da prevalência e intensidade voltarem aos índices anteriores). O mais importante, porém, é que embora houvesse reinfecções, não havia aparecimento de novos casos de forma hepatoesplênica (Katz 1992). Com a introdução do PECE (Programa Especial de Controle da Esquistossomose) no Brasil, em 1976, foram examinados e tratados com oxamniquina milhões de brasileiros (PECE, 1976). Embora haja discussão e discordância do que esse Programa produziu em relação à prevalência no país, parece unânime a conclusão da significativa baixa da incidência e prevalência das formas hepatoesplênicas (Coura *et al.* 1983, Lima e Costa *et al.* 1996, Carmo & Barreto 1994, Favre *et al.* 2001).

Em relação a outras manifestações mórbidas causadas pela esquistossomose, como: renal, genital, cutânea, cerebral, medular etc, faltam avaliações do efeito dos agentes esquistossomicidas na incidência e evolução dessas outras formas, quando populações são tratadas. Estudos realizados em diferentes países têm também mostrado os benefícios causados pelo tratamento das populações residentes em zonas endêmicas: baixa da intensidade e da prevalência foi vista em países da África, resolução da anemia e interrupção da eliminação de sangue nas fezes, reversão do aumento do volume do fígado e baço e reversão da fibrose hepática (El Sayed *et al.* 1997, Boisier *et al.* 1998, Domingues *et al.* 1990, Sukwa 1993, Mohamed 1991, Homeida *et al.* 1991).

A esse respeito, vale ler revisão sobre o impacto da quimioterapia sobre a morbidade causada pelas esquistossomoses em diferentes áreas geográficas (Richter 2003).

III Comentários finais

Não é conveniente que haja apenas uma droga para o tratamento de uma doença endêmica como a esquistossomose. De fato, considerando o uso da oxamniquina cada vez menor, quando comparado com o do praziquantel, este último passará a ser brevemente o único utilizado. Aliás, isso já vem acontecendo na África e na Ásia, pelos motivos anteriormente discutidos. Assim sendo, é urgente que novos esforços sejam feitos para descobrimento de novos agentes esquistossomicidas, especialmente nos países endêmicos para a esquistossomose. Nesse caso o Brasil destaca-se seja por ter massa crítica de pesquisadores dedicados a esse assunto, ou mesmo pela aplicação de soma de recursos apreciáveis nessas investigações (embora, no total, esse montante ainda seja inferior às necessidades). Os pesquisadores brasileiros junto com órgãos internacionais, a OMS em primeiro lugar, mas também associados a indústrias farmacêuticas que contam com expertise e fazem síntese de moléculas novas e mesmo modificação de algumas já estudadas, poderiam em conjunto proporcionar o aparecimento de novos agentes esquistossomicidas. É claro que se formos esperar que a indústria farmacêutica sozinha vá investir a soma de 800 milhões de dólares americanos para o descobrimento de um novo agente, essa solução não é prática, nem realista, nem viável.

O esquema de cooperação aqui proposto talvez possa custar um décimo dessa verba orçada empiricamente, mas citada como argumento para que não sejam realizados ensaios experimentais e clínicos com um novo esquistossomicida. Por outro lado, o reconhecido efeito benéfico do tratamento específico da esquistossomose indica que seu uso deva ser continuado e ampliado nos países endêmicos, mesmo sabendo que apenas o controle da morbidade poderá ser alcançado com essa medida isoladamente. Aliás, a OMS, na sua Resolução WHA 5419, de maio de 2001, recomendou aos estados-membros que garantissem o acesso às drogas essenciais contra a esquistossomose (e geohelmintos) nos serviços de saúde nas zonas endêmicas. O objetivo é de tratar especificamente pelo menos 75% das crianças em idade escolar, regularmente, até o ano de 2010 (WHO, 2005).

Todos os esforços dos pesquisadores, dos formadores de opinião pública e dos agentes do governo deverão ser canalizados no sentido de convencer as autoridades responsáveis da necessidade imediata do aumento de investimentos no fornecimento de água potável e sistema de esgoto, tecnicamente corretos, para as cidades e aglomerados humanos, onde, associados às medidas de educação para a saúde e tratamento clínico em larga escala, poderá ser a resposta adequada para o controle da transmissão da endemia esquistossomótica, bem como de várias outras doenças relacionadas à precariedade do saneamento básico.

Espera-se que, para o Brasil, onde há quase 100 anos foram descritos os primeiros casos de esquistossomose, não seja necessário mais um século para se considerar a esquistossomose como endemia controlada.

IV Referências Bibliográficas

Andrade ZA, Santos HA, Borojovic B, Grimaud J 1974. Lesões hepáticas produzidas por hycanhone. *Rev Inst. Med Trop São Paulo* 16:160-170.

Andrade ZA, Santos HA, Grimaud JA 1980. The liver after oxamniquina treatment of schistosomiasis. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 22 (Suppl 4):37-40.

Andrews P, Thomas H, Pohlke R, Seubert J 1983. Praziquantel. *Med Res Rev* 3:147-200.

Araujo N, Kohn A, Katz N 1999. Avaliação terapeutica do aresunato na infecção experimental pelo *Schistosoma mansoni*. *Rev Soc Bras Med Trop*, 32:7-12.

Araújo N, Souza CP, 1991. Efeito do Eugenol e derivados sobre *Biomphalaria glabrata*. *Rev Bras de Biologia* 51:295-299.

Archer S, Yarinsky A 1972. Recent developments in the chemotherapy of schistosomiasis. In. *Progress in Drug Research pp:11-66*. Jucker, E (ed) Birhäuser Verlag Basel.

Bassily S, Farid Z, Dunn M, el-Masry NA, Stek M Jr 1985. Praziquantel for treatment of schistosomiasis in patients with advanced splenomegaly. *Ann Trop Med Parasit* 79:629-634

Baxter CAR, Richards HC 1971. Schistosomicides. 1. Derivatives of 2-aminomethyl-1,2,3,4-tetrahydroquinoline. *J Med Chem* 14:1033-1042.

Becker B, Mehlhorn H, Andrews P, Thomas H, Eckert J 1980. Light and electron microscopic studies on the effect of praziquantel on *Schistosoma mansoni*, *Dicrocoelium dendriticum*, and *Fasciola hepatica* (Trematoda) *in vitro*. *Z Parasitenkd* 63:113-128.

Bekhti A, Piroti J 1987. Cimetidine increases serum mebendazole concentrations. Implications for treatment of hepatic hydatid cysts. *Br J Clin Pharmacol* 24:390-392.

Berberian DA, Freele H 1964. Chemotherapeutic Effect of Antischistosomal Drugs in experimentally induced *Schistosoma mansoni* infections in swiss mice and syrian hamsters. *J Parasitol* 50:435-440.

Bina JC 1977. Influencia da terapêutica específica na evolução da esquistossomose mansoni. Tese, Universidade Federal da Bahia, Salvador.

Bina JC, Spinola A 1976. Convulsão associada ao uso de oxamniquina. Relato de um caso. *Rev Soc Bras Med Trop* 10:221-223.

Bittencourt PRM, Garcia CM, Martins R 1982. Phenytoin and carbamezine decrease oral bioavailability of praziquantel. *Neurology* 42:493-499.

Boisier P, Ramarokoto CE, Ravaoalimalala VE, Rabajjaona L, Serieye J, Roux J, Esterre P 1998. Reversibility of *Schistosoma mansoni*-associated morbidity after yearly mass praziquantel therapy: ultrasonographic assessment. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 92:451-453.

Bormann S, Szlezák N, Faucher JF, Matsiegui PB, Neubauer R, Binder RK, Lell B, Kremsner PG 2001. Artesunate and praziquantel for the treatment of *Schistosoma haematobium* infections: a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *J Infect Dis* 184:1363-1366.

Brener Z 1960. Quimioterapia da esquistossomose experimental. II Observações sobre a atividade terapêutica do cloridrato de glucosamina. *Hospital* 57:1069-1073.

Brindley PJ, Heath S, Waters AP, McCutchan TF, Sher A 1991. Characterization of a programmed alteration in an 18S ribosomal gene that accompanies the experimental induction of drug resistance in *Schistosoma mansoni*. *Proc Natl Acad Sci USA* 88:7754-7758.

Brindley PJ, Lewis FA, McCutchan TF, Bueding E, Sher A 1989. A genomic change associated with the development of resistance to hycanthon in *Schistosoma mansoni*.

Brindley PJ, Sher A 1987. The chemotherapeutic effect of praziquantel against *Schistosoma mansoni* is dependent on host antibody response. *J Immunol* 139:215-220.

Brosen K 1990. Recent developments in hepatic drug oxidation. Implications for clinical pharmacokinetics. *Clin Pharmacokinet* 18:220-239.

Bueding E, Penedo N 1957. Effects of alkyldibenzylamines on *Schistosoma mansoni*. *Fed Proc Am Soc Exp Biol* 16:286.

Camargo S 1980. O papel do tratamento específico no Programa Especial contra Esquistossomose. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 22(Supl 4):217-224.

Carmo EH, Barreto ML 1994. Esquistossomose mansônica no Estado da Bahia: tendências históricas e medidas de controle. *Cadernos de Saúde Pública*, Rio de Janeiro, 425-439.

Christopherson JB 1918. The successful use of antimony in bilharziosis. administered as intravenous injections of antimonium tartaratum (tartar emetic) *Lancet ii*:325-327.

Cioli D, Pica-Mattoccia L, Archer S 1995. Antischistosomal drugs: past, present ... and future? *Pharmacol Ther* 68:35-85.

Coelho PMZ, Lima e Silva FC, Nogueira-Machado JA 1997. Resistance to oxamniquina of a *Schistosoma mansoni* strain isolated from patient submitted to repeated treatments. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 39:101-106.

Coelho PMZ, Mello RT, Gerken SE 1993. *Schistosoma mansoni*: evaluation of the activity of oxamniquina on schistosomules, at 24 hours after infection. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 15:557-561.

Coelho PMZ, Ribeiro F, Mello RT, Lima e Silva FC, Nogueira-Machado JA 1998. Activity of oxamniquina at skin, pulmonary and sexual maturation phases, on a *Schistosoma mansoni* strain (R1) previously reported as resistant at the adult phase. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 93:267-268.

Coles GC, Bruce JI, Kinoti GK, Mutahi WT, Dias EP, Katz N 1986. Drug resistance in schistosomiasis. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 80:347.

Conceição MJ, Argento CA, Correa A 2000. Study of *Schistosoma mansoni* isolates from patients with failure of treatment with oxamniquina. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 95:375-380.

Corona T, Lugo R, Medina R, Sotelo J 1996. Single-day praziquantel therapy for neurocysticercosis. *N Engl J Med*. 334:124

Coura JR, Argento CA, Conceição MJ, Lewis EM, Santos ML, Magalhães P 1980. Experiências de campo com oxamniquina oral no tratamento da esquistossomose mansoni. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 22(Supl 4):195-202.

Coura JR, Conceição MJ, Menezes AP, Santos ML, Mendonça MZG 1983. Morbidade da esquistossomose no Brasil. II Estudo em quatro áreas de campo nos estados de Minas Gerais, Sergipe e Paraíba. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 78:1-11.

Coutinho A, Domingues ALC, Florencio JN, Almeida ST 1988. Treatment of hepatosplenic schistosomiasis mansoni with praziquantel. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 26:38-50.

Coutinho A, Dominguez ALC 1980. Evaluation of the treatment of severe forms of schistosomiasis mansoni with oxamniquina. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 22(Supl 4):41-51.

Creasey AM, Taylor P, Thomas JEP 1986. Dosage trial of a combination of oxamniquina and praziquantel in the treatment of schistosomiasis in Zimbabwean schoolchildren. *Cent Afr J Med* 32:165-167.

Cunha AS, Cançado JR, Rezende GL 1987. Therapeutical evaluation of different dose regimens of praziquantel in schistosomiasis mansoni, based on the quantitative oogram technique. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 29:295-304.

Danso-Appiah A, De Vlas SJ 2002. Interpreting low praziquantel cure rates of *Schistosoma mansoni* infections in Senegal. *Trends Parasit* 18:125-129.

Davies P, Jackson H 1970. Experimental studies on the chemosterilization of *Schistosoma mansoni*. *Parasitology* 61:167-176.

Davis A 1993. Antischistosomal drugs and clinical practice. In: Human Schistosomiasis: Epidemiology, treatment and control. pp 184-226. *Jordan P & Webbe G (eds), Heineman Medical Books, London.*

Davis A, Wegner DH 1979. Multicentre trials of praziquantel in human schistosomiasis: design and techniques. *Bull WHO 57:767-771.*

Day TA, Bennett JL, Pax RA 1992. Praziquantel: The enigmatic antiparasitic. *Parasitol Today 8:342-344.*

Dayan, AD 2003. Albendazole, mebendazole and praziquantel. Review of non-clinical toxicity and pharmacokinetics. *Acta Trop 86:141-159.*

Dias Neto E, de Souza CP, Rollinson D, Katz N, Pena SD, Simpson AJ 1993. The random amplification of polymorphic DNA allows the identification of strains and species of schistosome. *Mol Bioch Parasitol 57:83-88.*

Diekmann HW, Schneidereit M, Overbosch D 1989. Inhibitory effects of cimetidine, ketoconazole and miconazole on the metabolism of praziquantel. *Acta Leiden 57:217-228.*

Dietze R, Prata A 1986. Baixa eficácia da associação oxamniquina e praziquantel na cura da esquistossomose mansônica. *Rev Soc Bras Med Trop 19:247-249.*

Dias LC, Pedro RJ, Rigo E, Goto MM, Mafra GL 1978. A human strain of *Schistosoma mansoni* resistant to schistosomicides. *Rev Saúde Publ 12:110*

Doenhoff MJ, Sabah AA, Fletcher C, Webbe G, Bain J 1987. Evidence for an immune-dependent action of praziquantel on *Schistosoma mansoni* in mice. *Trans R Soc Trop Med Hyg 81:947-951.*

Dollery CT 1999. Praziquantel. In: Therapeutic drugs, vol 2, second ed. Churchill Livingstone, *Edinburgh*, pp 184-188

Domingues AL, Coutinho A 1975. Tratamento da esquistossomose mansoni com oxaminquina oral. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo 17:164-180.*

Domingues ALC, Coutinho AD 1990. Reduction of morbidity in hepatosplenic schistosomiasis mansoni after treatment with praziquantel: a long term study. *Rev Soc Bras Med Trop 23:101-107.*

Drescher KM, Rogers EJ, Bruce JI, Katz N, Dias LC, Coles GC 1993. Response of drug resistant isolates of *Schistosoma mansoni* to antischistosomal agents. *Mem Inst Oswaldo Cruz 88:89-95.*

Ebeid FA, Metwally A, Botros SS, Bennet JL 1994. Treatment of experimental schistosomiasis mansoni with praziquantel alone and combined with cimetidine. *Arzneim- forsch/Drug Res 44:1268-1270.*

El Sayed MK, Barakat R, Farghaly A, El Badway A, Soliman NK, Husein MH, Miller FD 1997. The impact of passive chemotherapy on *Schistosoma mansoni* prevalence and intensity of infection in the Egyptian Nile Delta. *Am J Trop Med Hyg* 57:266-271.

Fallon PG, Doenhoff MJ 1994. Drug-resistant schistosomiasis: resistance to praziquantel and oxamniquina induced in *Schistosoma mansoni* in mice is drug specific. *Am J Trop Med Hyg* 51:83-88.

Fallon PG, Sturrock RF, Capron A, Niang M, Doenhoff MJ 1995. Short report: diminished susceptibility to praziquantel in a Senegal isolate of *Schistosoma mansoni*. *Am J Trop Med Hyg* 53:61-62.

Farid Z, Mansour N, Kamal K, Girgis N, Woody J, Kamal M 1987. The diagnosis and treatment of acute toxæmic schistosomiasis in children. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 81:959.

Farley J 1991. Bilharzia: a history of imperial tropical medicine. Press Syndicate of the University of Cambridge, England.

Favre TC, Pieri OS, Barbosa CS, Beck L 2001. Avaliação das ações de controle da esquistossomose implementadas entre 1977 e 1996 na área endêmica de Pernambuco, Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop* 34:596-576.

Fenwick A, Savioli L, Engels D, Berequist RN, Todd MH 2003. Drugs for the control of parasitic diseases: current status and development in schistosomiasis. *Trends Parasit* 19:509-515.

Ferrari MLA, Coelho PMZ, Antunes CMF, Tavares CAP, Cunha AS 2003. Efficacy of oxamniquina and praziquantel in the treatment of *Schistosoma mansoni* infection: a controlled trial. *Bull WHO* 81:190-196.

Foster R 1973. The preclinical development of oxamniquina. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 15 (suppl 1):1-9.

Foster R, Cheetham BL 1973. Studies with the schistosomicide oxamniquina (UK-4271). I. Activity in rodents and *in vitro*. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 67:674-84.

Foster R, Mesmer ET, Cheetham BL, King DF 1971. The control of immature *Schistosoma mansoni* in mice by UK 3883, a novel 2-aminomethyltetrahydroquinoline derivative. *Ann Trop Med Parasitol* 65:221-232.

Gönnert R, Andrews P 1977. Praziquantel, a new broad-spectrum antischistosomal agent. *Z Parasitenkd* 52:129-150.

Gönnert R 1955. Schistosomiasis studies. II. Übedie Eibildung bei *Schistosoma mansoni* und das Schicksal der Eier Wirtsorganismus. *Z Tropenmed Parasit* 6:33-52.

Gönnert Rm, Vogel H 1955. Dependence on host and parasite strain of the successful therapy of experimental schistosomiasis. *Z Tropenmed Parasitol* 6:193-198.

- Groll E 1984. Praziquantel. *Adv Pharmacol Chemother* 20:219-238.
- Gryscze RCB, Carvalho AS, Amato Neto V 2004. Tratamento da esquistossomose mansoni com praziquantel em duas doses únicas diárias consecutivas. *Rev Soc Bras Clin Med* 2:100-102.
- Gryseels B, Mbaye A, De Vlas SJ, Stelma FF, Guisse F, Van Lieshout L, Faye D, Diop M, Ly A, Tchuem-Tchuente LA, Engels D, Polman K 2001. Are poor responses to praziquantel for the treatment of *Schistosoma mansoni* infections in Senegal due to resistance? An overview of the evidence. *Trop Med Int Health* 6:864-873
- Gryseels B, Stelma FF, Talla I, van Dam GJ, Polman K, Sow S, Diaw M, Sturrock RF, Doehring-Schwerdtfeger E, Kardorff R, Decamic, Niang M, Deelder AM 1994. Epidemiology, immunology and chemotherapy of *Schistosoma mansoni* infections in a recently exposed community in Senegal. *Trop Geogr Med* 46:209-219.
- Homeida MA, El Tom I, Nash T, Bennett JL 1991. Association of the therapeutic activity of praziquantel with the reversal of Symmers' fibrosis induced by *Schistosoma mansoni*. *Am J Trop Med Hyg* 45:360-365.
- Ishizaki T, Kamo E, Boehme K 1979. Double-blind studies on tolerance to praziquantel in Japanese patients with *Schistosoma japonicum* infections. *Bull WHO* 57:787-791.
- Ismail M, Metwally A, Farghaly A, Bruce J, Tao LF, Bennett JL 1996. Characterization of isolates of *Schistosoma mansoni* from Egyptian villagers that tolerate high doses of praziquantel. *Am J Trop Med Hyg* 55:214-218.
- Katz N 1977. Chemotherapy of schistosomiasis mansoni. *Adv Pharmacol Chemother* 14:1-70.
- Katz N 1980. Resultados atuais na terapêutica clínica da esquistossomose mansoni. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 22(Supl 4):123-133.
- Katz N 1992. Brazilian contributions to epidemiological aspects of schistosomiasis mansoni. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 87 (Suppl 4):1-9.
- Katz N, Chaves A, Pellegrino J 1972. A simple device for quantitative stool thick-smear technique in schistosomiasis mansoni. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 14:397-402.
- Katz N, Dias EP, Araújo N 1973. Estudo de uma cepa humana de *Schistosoma mansoni* resistente a agentes esquistossomicidas. *Rev Inst Med Trop* 7:381-387.
- Katz N, Grimbaum E, Chaves A, Zicker F, Pellegrino J 1976. Clinical trials with oxamniquina, by oral route, in schistosomiasis mansoni. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 18:371-377.
- Katz N, Pellegrino J 1974. Experimental chemotherapy of schistosomiasis mansoni. *Adv Parasitol* 12: 369-390.

Katz N, Rocha RS, Chaves A 1979. Preliminary trials with praziquantel in human infections due to *Schistosoma mansoni*. *Bull Wld Hlth Org* 57:781-785.

Katz N, Rocha RS, Lambertucci JR, Pedroso RP, Greco DB 1980. Ensaios clínicos com oxamniquine e praziquantel na fase aguda da esquistossomose mansônica. *XVI Congresso Soc Bras Med trop Natal*, resumo 165.

Katz N, Rocha RS, Pereira JP 1980. Controle da esquistossomose em Peri-Peri (Minas Gerais) através de repetidos tratamentos clínicos e aplicações de molucidas. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 22 (supl 4): 203-211.

Katz N, Rocha RS, Souza CP, Coura Filho P, Bruce JI, Coles GC, Kinoti GK 1991. Efficacy of alternating therapy with oxamniquina and praziquantel to treat *Schistosoma mansoni* in children following failure of first treatment. *Am J Trop Med Hyg* 44:509-512.

Katz N, Zicker F, Pereira JP 1977. Field trials with oxamniquina in schistosomiasis mansoni endemic areas. *Am J Trop Med Hyg* 26:234-237.

Kaye B, Woolhouse WM 1972. The metabolism of a new schistosomicide 2-isopropylaminomethyl-6-methyl-7-nitro-1,2,3,4-tetrahydroquinoline (UK 3883) *Xenobiotica* 2:169-178.

Khayyal MT 1965. Significance of worm shifts in experimental schistosomiasis mansoni, with emphasis on the action of anaesthetics. *Nature* 27:1331-1332.

Kikuth W, Gönnert R 1948. Experimental studies on the therapy of schistosomiasis. *Ann Trop Med Parasitol* 42:256-267.

Kloetzel 1962. Aspectos epidemiológicos da esquistossomose mansônica em uma população de Pernambuco. Tese, São Paulo.

Kloetzel K 1967. A rationale for the treatment of schistosomiasis mansoni, even when reinfection is expected. *Trans R. Soc Trop Med Hyg* 61: 609-610.

Kohn A, Serapião CJ, Katz N, Dias EP 1979. Ação da oxamniquina sobre o *Schistosoma mansoni* em camundongos experimentalmente infectados. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 21:217-227.

Kramers PGN, Gentile JM, Gryseels BJM, Jordan P, Katz N, Mott KE, Mulvihill JJ, Seed JL, Froberg H 1991. (International Commission for Protection against Environmental Mutagens and Carcinogens). Review of the genotoxicity and carcinogenicity of antischistosomal drugs: is there a case for a study of mutation epidemiology? Report of a task group on mutagenic antischistosomals. *Mutat Res* 257:49-89.

Lambertucci JR. Acute schistosomiasis: clinical diagnostic and therapeutic features. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 35:399.

Le WJ, You JQ, Yang YQ, Mei JY, Guo HF, Yang HZ, Zhang CW 1982. Studies on the efficacy of artemether in experimental schistosomiasis. *Acta Pharmaceut*

17:187-193 (em chinês).

Leopold G, Ungethum W, Groll E, Diekmann HW, Nowak H, Wegner DH 1978. Clinical pharmacology in normal volunteers of praziquantel, a new drug against schistosomes and cestodes. An example of a complex study covering both tolerance and pharmacokinetics. *Eur J Clin Pharmacol* 14:281-291.

Lima e Costa MF, Guerra HL, Pimenta-Júnior FG, Firmo JO, Uchoa E 1996. Avaliação do Programa de controle da esquistossomose (PCE/PCDEN) em municípios situados na Bacia do Rio São Francisco, Minas Gerais, Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop* 29:117-126.

Lópes-Gomes M, Castro MS, Jung H, Sotelo J, Corona T 2001. Optimization of the single-day praziquantel therapy for neurocysticercosis. *Neurology* 57:1929-1930.

Mandour MLM, el Turbai H, Homeida MM, el Sadig T, Ali HM, Bennett JL, Leahley WJ, Hassan DW 1990. Pharmacokinetics of praziquantel in healthy volunteers and patients with schistosomiasis. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 84:389-393.

Masimirembwa CM, Hasler JA 1994. Characterisation of praziquantel metabolism of chloroquine on the pharmacokinetics of praziquantel in rats and humans. *Biopharm Drug Dispos* 15:33-43.

Mehlhorn H, Becker B, Andrews P, Thomas H, Frenkel JK 1981. *In vivo* and *in vitro* experiments on the effects of praziquantel on *Schistosoma mansoni*. A light and electron microscopic study. *Arz Fors Drug Research* 31:544-554.

Metwally A, Bennett JL, Botros SS, Ebeid FA 1995. Effect of cimetidine, bicarbonate and glucose on the bioavailability of different formulations of praziquantel. *Arzneim- forsch/Drug Res* 45:516-518.

Mohamed AR, Ali Q, Dohering-Scwerdtfeger E, Abdel-Rahim IM, Schlake J, Kardoff R, Franke D, Kaiser C, Elsheikh M, Ehrich JHH 1991. Ultrasonographical investigation of periportal fibrosis in children with *Schistosoma mansoni* infection: reversibility of morbidity seven months after treatment with praziquantel. *Am J Trop Med Hgy* 44:444-451.

Olds GR 2003. Administration of praziquantel to pregnant and lactating women. *Acta Trop* 86:185-195.

Overbosch D1992. Neurocysticercosis. An introduction with special emphasis on new developments in pharmacotherapy. *Schweiz Med Wochenschr* 122:893-898.

PECE (Programa Especial de Controle da Esquistossomose no Brasil, 1976) Publicação do Conselho de Desenvolvimento Nacional, Brasília, 41 p.

Pedro RJ, Dias LCS, Amato Neto V, Carvalho AS 1980. Observations of the treatment of mansoni schistosomiasis with oxamniquina: efficacy in children and in persistent salmonellosis; resistance of a strain of *Schistosoma mansoni*; hepatic toxicity and neurological side effects. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 22(Suppl 4):32-36.

Pedroso ERP 1978. Esquistossomose pulmonar crônica. IV Alteração pulmonar pós-tratamento com oxamniquina. *Resumo dos temas livres do XIV Congresso Sociedade Brasileira de Med. Trop João Pessoa*

Pellegrino J, de Maria M, Faria J 1965. Infection of the golden hamster with *Schistosoma mansoni* cercariae through the cheek pouch. *J Parasitol* 51:1015.

Pellegrino J, Katz N & Dias EP 1972. Experimental chemotherapy of schistosomiasis. VI –Egg suppressive activity of thiosinamine. *Rev Bras Pesq Med* 5:43-45

Pellegrino J, Katz N 1968. Experimental chemotherapy of Schistosomiasis mansoni. *Adv Parasitol* 6: 233-290.

Pellegrino J, Katz N 1969. Experimental chemotherapy of schistosomiasis. IV. Oogram studies with nicarbazin, an egg-suppressive agent. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 11:215-221.

Pellegrino J, Katz N 1975. Experimental therapy of schistosomiasis. X. diaminodiphenylsulfone (DDS) in experimental schistosomiasis. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 17:199-205.

Pellegrino J, Katz N, Dias EP 1973. Experimental chemotherapy of schistosomiasis. VII- Laboratory trials with oxamniquina, a new antischistosomal agent. *Rev Inst Trop São Paulo* 15(supl 1):10-14.

Pellegrino J, Lima-Costa FF, Carlos MA, Mello RT 1977. Experimental chemotherapy of schistosomiasis mansoni. XIII. Activity of praziquantel, an isoquinoline-pyrazino derivative, on mice, hamsters and *Cebus* monkeys. *Z Parasitenkd* 52:151-168.

Pellegrino J, Oliveira CA, Faria J, Cunha AS 1962. New approach to the screening of drugs in experimental *Schistosoma mansoni* in mice. *Am J Trop Med Hyg* 11:201-215.

Pica-Mattoccia L, Cioli D 2004. Sex- and stage-related sensitivity of *Schistosoma mansoni* to *in vivo* and *in vitro* praziquantel treatment. *Int J Parasit* 34:527-533.

Prata A 1957. Biopsia retal na esquistossomose mansoni. Bases e aplicações no diagnóstico e tratamento. *Serviço Nacional de Educação Sanitária*

Prata A, Bina JC, Barreto AC, Alecrim MG 1980. Ensaio de controle da transmissão da esquistossomose pela oxamniquina, em uma localidade hiperendêmica. *Rev. Inst. Med. Trop São Paulo* 22 (sup 4):182-189.

Pugh RN, Teesdale CH 1983. Synergy of concurrent low dose of oxamniquina and praziquantel in schistosomiasis. *Br Med J* 287:877-878.

Raison CG, Standen OD 1955. The schistosomicidal activity of symmetrical diaminodiphenoxyalkanes. *Br J Pharmacol* 10:191-199.

Rezende GL 1985. Survey on the clinical trial results achieved in Brazil comparing praziquantel and oxamniquina in the treatment of mansoni schistosomiasis. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 27:328-336.

Richards HC, Foster R 1969. A new series of 2-aminomethyltetrahydroquinoline derivatives displaying schistosomicidal activity in rodents and primates. *Nature* 222:581-582.

Richter J 2003. The impact of chemotherapy on morbidity due to schistosomiasis. *Acta Trop* 86:161-183.

Rogers SH, Bueding E 1971. Hycanthon resistance: development in *Schistosoma mansoni*. *Science* 172:1057-1058.

Sabah AA, Fletcher C, Webbe G, Doenhoff MJ 1985. *Schistosoma mansoni*: reduced efficacy of chemotherapy in infected T-cell-deprived mice. *Exp Parasit* 60:348-354.

Santos AT, Blas BL, Noseñas JS, Portillo GP, Ortega OM, Hayashi M, Boehme K 1979. Preliminary clinical trials with praziquantel in *Schistosoma japonicum* infections in the Philippines. *Bull WHO* 57:793-799.

Scrimgeour EM, Gajdusek DC 1985. Involvement of the central nervous system in *Schistosoma mansoni* and *Schistosoma haematobium* infection. *Brain* 108:1023-1038.

Sette H 1953. O tratamento da esquistossomose à luz da patologia hepática (estudo clínico). Tese, Faculdade Nacional de Medicina, Rio de Janeiro.

Shaw JR, Brammer KW 1983. The treatment of experimental schistosomiasis with a combination of oxamniquina and praziquantel. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 77:39-40.

Silva LC 1974. Anticorpo e eosinófilos circulantes na esquistossomose mansônica. Tese da Universidade do estado de São Paulo.

Silva LC, Sette JRH, Chamone DAF, Alquezar AS, Punksas JA, Raia S 1974. Clinical trials with oral oxamniquina (UK 4271) for the treatment of mansoni schistosomiasis. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 16:103-109.

Standen OD. Chemotherapy of helminthic infections. In "Experimental Chemotherapy" vol I (Schnitzer RJ & Hawking F). Chapter 20pp; 701-892. Academic Press Inc London

Steiner K, Garbe A, Diekmann HW, Novak H 1976. The fate of praziquantel in the organism. I Pharmacokinetics in animals. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet* 1:85-95.

Stelma FF, Sall S, Daff B, Sow S, Niang M, Gryseels B 1997. Oxamniquina cures *Schistosoma mansoni* infection in a focus in which cure rates with praziquantel are unusually low. *J Infect Dis* 176:304-307

Sukwa TY 1993. A community-based randomized trial of praziquantel to control schistosomiasis morbidity in school-children in Zambia. *Ann Trop Med Parasitol* 87:185-194

Utzinger J, Keiser J, Shuhua X, Tanner M, Singer BH 2003. Combination chemotherapy of schistosomiasis in laboratory studies and clinical trials. *Antimicrob Agents Chemother* 47:1487-1495.

Utzinger J, Keiser J, Xiao SH, Tanner M, Singer BH 2003. Combination chemotherapy of schistosomiasis in laboratory studies and clinical trials. *Antimicrob Agents Chemother* 47:1487-1495.

Utzinger J, N'Goran EK, N'Dri A, Lengeler C, Shuhua X, Tammer M 2000. Oral artemether for prevention of *Schistosoma mansoni* infection: randomised controlled trial. *Lancet* 355:1320-1325.

Vandewaa EA, Mills G, Foster LA, Bennett JL 1989. Physiological role of HGM-CoA reductase in regulating egg production by *Schistosoma mansoni*. *Am J Physiol* 257: 618-625.

Vásquez V, Jung H, Sotelo J 1987. Plasma levels of praziquantel decrease when dexamethasone is given simultaneously. *Neurology* 37:1561-1562.

Vieira LQ, Correa-Oliveira R, Katz N, de Souza CP, Carvalho OS, Araujo N, Sher A, Brindley PJ 1991. Genomic variability in field populations of *Schistosoma mansoni* in Brazil as detected with a ribosomal gene probe. *Am J Trop Med Hyg* 44:69-78.

Watt G, Adapon B, Long GW, Fernando MT, Ranoa CP, Cross JA 1986. Praziquantel in treatment of cerebral schistosomiasis. *Lancet* ii: 529-532.

Webbe G, James C 1977. A comparison of the susceptibility to praziquantel of *Schistosoma haematobium*, *S. japonicum*, *S. mansoni*, *S. intercalatum* and *S. mattheei* in hamsters. *Z Parasitenkd* 52:169-177.

Werbel LM 1970. Chemotherapy of schistosomiasis. *Trop Med Chem* 3: 125-129.

William S, Botros S, Ismail M, Farghally A, Day TA, Bennett JL 2001. Praziquantel-induced tegumental damage *in vitro* is diminished in schistosomes derived from praziquantel-resistant infections. *Parasitol* 122:63-66.

World Health Organization 1985. Schistosomiasis Control. Tech Report Ser 728.

World Health Organization, OMS- [http:// www.who.int/wormcontrol](http://www.who.int/wormcontrol), 2005.

Wu MH, Wei CC, Xu ZY, Yuan HC, Lian WN, Yang QJ, Chen M, Jiang QW, Wang CZ, Zhang SJ 1991. Comparison of the therapeutic efficacy and side effects of a

single dose of levo-praziquantel with mixed isomer praziquantel in 278 cases of schistosomiasis japonica. *Am J Trop Med Hyg* 45:345-349.

Xiao SH, Tanner M, N'Goran EK, Utzinger J, Chollet J, Bergquist R, Chen MG, Zeng J 2002. Recent investigations of artemether, a novel agent for the prevention of schistosomiasis japonica, mansoni and haematobia. *Acta Trop* 82:175-181.

Yarinsky A, Drobeck HP, Freele H, Wiland J, Gumaer KI 1974. An 18-month study of the parasitologic and tumorigenic effects of hycanthone in *Schistosoma mansoni*-infected and noninfected mice. *Toxicol Appl Pharmacol* 27:169-182.

Zwingenberger K, Queiroz JA, Poggensee V, Alencar JE, Valdeguas J, Esmeralda F, Feldmeier H 1987. Efficacy of oxamniquina, praziquantel and a combination of both drugs in schistosomiasis mansoni in Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 29:305-311