

# A ausencia de ação terapeutica da "Paludrine" na toxoplasmose experimental

por

W. Lobato Paraense

(Com uma tabela)

Na evolução dos conhecimentos sobre o ciclo exoeritrocitário dos plasmódios houve uma etapa, atualmente já superada, na qual muitos autores discutiam a possibilidade de pertencerem as formas exoeritrocitárias ao ciclo biológico de um outro parasito. Dentre as diversas idéias dos que admitiam a hipótese de infecções mixtas a mais razoável era sem dúvida a dos que atribuíam ao toxoplasma esse papel de concorrente dos plasmódios. Este fato por si só é suficiente para dar relevo às semelhanças que entre si aparentam certos aspectos assumidos pelo toxoplasma e certos outros do ciclo exoeritrocitário.

Deixando de lado o tema das referidas controversias, que hoje não mais subsistem, ocupar-me-ei de outro aspecto das semelhanças existentes entre os toxoplasmas e os plasmódios, que é o aspecto terapêutico.

Entre as substâncias que possuem nítida ação terapêutica na malária estão incluídas certas sulfonamidas, das quais a mais ativa é a sulfadiazina. Este grupo de substâncias foi mesmo aquele com o qual se conseguiu realizar experimentalmente pela primeira vez a profilaxia medicamentosa causal da malária (Freire & Paraense, 1944; Coatney & Cooper, 1944; Coggeshall, Porter & Laird, 1944). Esta ação profilática resulta da propriedade que elas possuem de destruir as formas exoeritrocitárias (Freire & Paraense, 1944; Coggeshall, Porter & Laird, 1944; Paraense, 1946). Como as formas derivadas dos esporozoítos e predecessoras dos parasitos das hemácias nada mais são do que esquizontes exoeritrocitários (neste caso particular chamadas com mais propriedade formas pré-eritrocitárias), também são sensíveis àquelas sulfonamidas.

Na toxoplasmose, conforme demonstraram Sabin & Warren (1941), a sulfapiridina e o sulfatiazol atuam com acentuada propriedade terapêutica.

Em vista dos fatos referidos seria plausível supor que um medicamento ativo contra as formas exoeritrocitárias dos plasmódios também o fosse contra os toxoplasmas.



Desde quando consegui obter certa quantidade de "Paludrine" pretendi averiguar esta hipótese, faltando apenas encontrar uma amostra de toxoplasma bastante virulenta para tornar exequível uma experiência deste tipo, o que foi conseguido ultimamente.

Como se sabe, a "Paludrine" é um dos antimaláricos mais poderosos, sintetizado por Curd, Davey & Rose em 1945. Esta substância atua com grande eficiência contra as formas tanto eritrocitárias como exoeritrocitárias (Curd, Davey & Rose, 1945). A sua atividade contra os esquizontes exoeritrocitários é mais enérgica do que a da sulfadiazina, provocando alterações qualitativamente semelhantes em um período de tempo significativamente mais breve (Paraense, 1947; Romaña & Conejos, 1947). Age também como profilático causal, em vista da citada propriedade de atacar as formas exoeritrocitárias (Curd, Davey & Rose, 1945), produzindo lesões nas formas pré-eritrocitárias que se desenvolvem no ponto de inoculação dos esporozoítos (Paraense, 1947).

### MATERIAL E MÉTODOS

Durante as pesquisas que estão sendo levadas a efeito neste laboratório sobre a babesiose canina (Paraense & Vianna, 1948) foi necropsiado um cão que apresentou, ao lado da infecção por babésias, grande número de parasitos com morfologia de toxoplasmas, que eram especialmente abundantes no baço e no fígado. Com polpa esplênica deste cão foram inoculados, além de outros animais, três pombos que morreram com intensa infecção por toxoplasmas. A partir de um destes pombos foram inoculados outros, por via intramuscular, com polpa de fígado diluída em água fisiológica, em sucessivas passagens através das quais vem sendo mantido o parasito. Esta é a origem da amostra de toxoplasma utilizada no presente trabalho. Ela se tem mostrado bastante virulenta para os pombos, cuja morte provoca dentro de um prazo variável entre 9 e 22 dias após a inoculação. As duas experiências aqui relatadas correspondem à 2.<sup>a</sup> e 5.<sup>a</sup> passagens do parasito.

Foram utilizados pombos adultos pesando cerca de 300 g, inoculados como ficou dito acima.

A "Paludrine" (cloridrato de N1-p-clorofenil-N5-isopropilbiguanidina, puro em pó) proveiu de "Imperial Chemical (Pharmaceuticals) Ltd.", Manchester. O medicamento, administrado em solução aquosa por via oral, foi injetado por meio de cateter introduzido profundamente no esôfago.

Dos animais que morreram foram feitos esfregaços de fígado, que depois de corados pelo Giemsa foram examinados para toxoplasmas. A intensidade da



infecção foi avaliada pela contagem dos parasitos encontrados em 20 campos microscópicos, sendo os resultados expressos pelos símbolos usados na tabela 1.

## RESULTADOS

Os resultados das duas experiências estão resumidos na tabela 1.

Para a primeira experiência foram inoculados 10 pombos, sendo tratados 5 e deixados 5 para controle. O tratamento foi iniciado no 8.º dia depois da inoculação. O medicamento foi administrado em uma única dose diária correspondente a 0g05 por Kg de peso do corpo.

Todos os animais tratados e 4 não tratados morreram entre o 14.º e o 18.º dias após a inoculação, ou seja entre o 6.º e o 10.º dias depois de iniciado o tratamento. A infecção foi geralmente muito intensa. Um dos animais de controle continua vivo até esta data, transcorridos 52 dias após a inoculação.

A segunda experiência foi feita em outros 10 pombos, sendo 5 tratados e 5 controles. O tratamento foi iniciado 58 horas antes da inoculação, recebendo cada pombo uma dose de 0g04 às 8 horas e outra idêntica às 18 horas de cada dia, perfazendo o total diário de 0g08/Kg. Às 18,30 horas do 3.º dia do tratamento, 30 minutos após a 6.ª dose de "Paludrine", foram feitas as inoculações.

Do 9.º ao 12.º dia morreram todos os animais, com infecção igualmente intensa em ambos os grupos.

## COMENTÁRIOS

As duas experiências acima descritas demonstram a absoluta ausência de qualquer ação, terapêutica, profilática ou simplesmente supressiva, da "Paludrine" sobre a toxoplasmose experimental do pombo.

Apesar do grande desenvolvimento que atingiu nos últimos anos o estudo dos agentes quimioterápicos, ainda não é possível prever com segurança a especificidade terapêutica de uma substância medicamentosa. São bem conhecidos os insucessos frequentemente verificados em previsões baseadas nas relações entre a constituição química e a atividade terapêutica. Os fundamentos racionais dos estudos quimioterapêuticos devem obviamente repousar no conhecimento dos processos metabólicos desenvolvidos no organismo do germe a ser atacado. Enquanto não se dispuser destas informações de ordem bioquímica relativamente aos parasitos que ora nos ocupam é lícito tentar a verificação de hipóteses empiricamente fundamentadas como é aquela que deu origem ao presente trabalho.



Como se sabe, os toxoplasmas distinguem-se das formas exoeritrocitárias dos plasmódios por certas características bem definidas, sendo as seguintes as principais: 1. a mesma amostra de toxoplasma é capaz de infectar numerosas espécies de aves e mamíferos, ao passo que os plasmódios são altamente específicos; 2. os toxoplasmas multiplicam-se por divisão binária, os plasmódios por esquizogonia. A insuscetibilidade dos toxoplasmas perante a "Paludrine" é mais um caráter que afasta estes dois tipos de parasitos.

### THE INEFFECTIVENESS OF "PALUDRINE" AGAINST TOXOPLASMA

In the development of the knowledge about the exoerythrocytic cycle of the malarial parasites there was one point, now passed over, according to which some authors believed in the possibility of the exoerythrocytic forms belonging to the biological cycle of other parasites. At that time toxoplasma was considered as having a greater probability of being such a mixed parasite. This fact will suffice to emphasize the resemblance existing between some features shown by the toxoplasma and the exoerythrocytic forms.

From the therapeutical standpoint this resemblance is met with again when we consider that some sulfa drugs are similarly effective against both toxoplasma and exoerythrocytic forms.

It is known that these drugs act as a causal prophylactic in malaria (Freire and Paraense, 1944; Coatney and Cooper, 1944; Coggeshall, Porter and Laird, 1944) due to their ability to destroy the exoerythrocytic forms (Freire and Paraense, 1944; Coggeshall, Porter and Laird, 1944; Paraense, 1946). Since the forms developed between sporozoites and erythrocytic trophozoites are merely exoerythrocytic schizonts (or more correctly pre-erythrocytic schizonts in this particular case), they are *ipso facto* destroyed by sulfa drugs.

In toxoplasmosis the therapeutic action of sulfapyridine and sulfathiazole was demonstrated by Sabin and Warren (1941).

On account of the facts referred to above it seemed reasonable to assume that a drug active against the exoerythrocytic forms might be also active against toxoplasma. However, this hypothesis proved to be wrong in relation to "Paludrine". This drug is known as one of the most powerful antimalarials, being very effective on both erythro- and exoerythrocytic schizonts (Curd, Davey and Rose, 1945). It acts more intensely than sulfadiazine on the exoerythrocytic forms, producing in them qualitatively similar lesions in a significantly shorter period (Paraense, 1947; Romaña and Conejos, 1947). Due to its ability to destroy the exoerythrocytic forms it acts as a causal prophylactic



(Curd, Davey and Rose, 1945), damaging the pre-erythrocytic schizonts which develop at the site of the inoculation of sporozoites (Paraense, 1947).

Two experiments were made (table 1) in order to test the action of "Paludrine" in toxoplasmosis.

In the first experiment 10 adult pigeons were inoculated intramuscularly with an emulsion of liver in saline. Five of them were treated with the drug, which was administered in an aqueous solution by oral route through catheter tube in one single daily dose of 0g05 per kilo. body weight. The treatment started on the 8th day after inoculation. All the birds died from intense infection within 14 to 18 days after inoculation (6 to 10 days after starting treatment). Four of five controls also died within 14 to 18 days after inoculation. The only surviving one is still alive (52 days after inoculation).

In the second experiment five adult pigeons were given "Paludrine" in two daily doses of 0g04 per kilo. body weight at 8 a. m. and 6 p. m. respectively, thus completing the daily dose of 0g08. On the 3rd day of the treatment, half an hour after the 6th dose, the birds were inoculated jointly with five controls in the same way as those of the first experiment. The batch thus treated was maintained under treatment until death ensued. All the birds, treated and controls, developed an intense infection and died within 9 to 12 days after inoculation.

These experiments demonstrate that toxoplasma is absolutely unsusceptible to the action of "Paludrine". Such unsusceptibility is another characteristic which distinguishes toxoplasma from the exoerythrocytic forms of plasmodia.

*Explanations of table 1:*

Therapeutic tests with "Paludrine" in pigeons inoculated with toxoplasma.

(1) Batch no. (2) Pigeon no. (3) Survival in days after inoculation. (4) Duration of the treatment in days. (5) Relative incidence of parasites in the liver.

(\*) One daily dose of 0g05 per k.b.w. starting from the 8th day of infection.

(\*\*) Two daily doses of 0g04 per k.b.w. Inoculation 30 minutes after the 6th dose.



— Still alive.

- + Up to 1 parasite per field.  
 ++ 2 to 5 parasites per field.  
 +++ Over than 5 parasites per field.

#### REFERÊNCIAS

COATNEY, G. R. & W. C. COOPER

1944. The prophylactic effect of sulfadiazine and sulfaguanidine against mosquito-borne *Plasmodium gallinaceum* infection in the domestic fowl (preliminary report). *Pub. Health Repts.* 59 (45) : 1455-1458.

COGGESHALL, L. T., R. J. PORTER & R. L. LAIRD

1944. Prophylactic and curative effects of certain sulfonamide compounds on exoerythrocytic stages in *Plasmodium gallinaceum* malaria. *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.* 57 (2) : 286-292.

CURD, F. H. S., D. G. DAVEY & F. L. ROSE

1945. Studies on synthetic antimalarial drugs. X.—Some biguanide derivatives as new types of antimalarial substances with both therapeutic and causal prophylactic activity. *Ann. Trop. Med. Parasit.* 39 (3-4) : 208-216.

FREIRE, S. A. & W. L. PARAENSE

1944. The prophylactic and curative action of sulfadiazine, sulfapyridine and sulfanilamide on the erythro and exo-erythrocytic cycles of "*Plasmodium gallinaceum*" (Therapeutic and parasitological aspects). *Rev. Brasil. Biol.* 4 (1) : 27-48.

PARAENSE, W. L.

1946. Ação patogênica das formas exoeritrocitárias do *Plasmodium gallinaceum*. — 2. Prova terapêutica da ação patogênica. *Mem. Inst. Osw. Cruz* 44 (1) : 173-185.

PARAENSE, W. L.

1947. Estudos sobre o ciclo exoeritrocitário do *Plasmodium gallinaceum*. *Ibidem* 45 (1) : 101-118.

PARAENSE, W. L. & Y. VIANNA

1948. Algumas observações sobre a babesiose dos cães no Rio de Janeiro. *Ibidem* 46 (3) : 595-603.

ROMAÑA, C. & M. CONEJOS

1947. Acción de la "Paludrine" sobre las formas exoeritrocíticas del *Plasmodium gallinaceum*. *An. Inst. Med. Reg. (Tucumán)* 2 (1) : 61-71.

SABIN, A. B. & J. WARREN

1941. Therapeutic effect of the sulfonamides on infection by an intracellular protozoon (*Toxoplasma*). *Jour. Bacter.* 41 (1) : 80.



TABELA 1

## PROVAS TERAPEUTICAS FEITAS COM A "PALUDRINE" EM DOIS LOTES DE POMBOS COM TOXOPLASMOSE EXPERIMENTAL

LOTE N°	POMBO N.	SOBREVIVENCIA EM DIAS APÓS INOCULAÇÃO	DURAÇÃO DO TRATAMENTO EM DIAS	INCIDENCIA RELATIVA DE PARASITOS NO FICADO	
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	
1*	1	14	6	+++	
	2	14	6	+++	
	3	15	7	++	
	4	17	9	+++	
	5	18	10	+	
	Con- tro- le	6	14		+++
		7	14		+++
		8	15		+
		9	18		++
		10	52		—
2**	1	9	11	+++	
	2	9	11	+++	
	3	9	11	+++	
	4	10	12	+++	
	5	12	14	+++	
	Con- tro- le	6	11		+++
		7	11		+++
		8	12		+++
		9	12		+++
		10	12		++

\* 1 dose diária de 0g05/kg a partir do 8º dia da infecção.

\*\* 2 doses diárias de 0g04/Kg (total diário 0g08). Inoculação 30 minutos após a 6ª dose.

— animal ainda vivo.

+ até 1 parasito por campo microscópico.

++ 2 a 5 parasitos por campo.

+++ mais de 5 parasitos por campo.