

13. CRITÉRIOS DE CURA NA TERAPÊUTICA ESPECÍFICA DA DOENÇA DE CHAGAS EXPERIMENTAL. S.G. Andrade. Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz/FIOCRUZ, Salvador, BA, Brasil.

Apesar da transmissão da doença de Chagas pelo inseto vetor ter sido controlada em muitas áreas do Brasil a partir da década de 80, persiste ainda, em uma parcela significativa das populações das áreas endêmicas da doença, a infecção pelo *Trypanosoma cruzi*. Por outro lado, existem mecanismos de transmissão pouco controláveis como a congênita e a transfusional, permitindo o surgimento de novos casos agudos esporádicos. O advento dos transplantes cardíacos em pacientes chagásicos ou mesmo o transplante de outros órgãos, trouxe o risco de reativação de infecções subpatentes pelo uso dos imunossuppressores, do mesmo modo que a síndrome de imunodeficiência adquirida (AIDS). Em todas as ocorrências acima expostas, existe a necessidade do tratamento específico da infecção pelo *T. cruzi*. Além disto, tendo em vista a alta incidência nas áreas endêmicas, de indivíduos sorologicamente positivos, muitas vezes apresentando sinais evolutivos da doença ou mesmo na sua fase indeterminada, o tratamento etiológico tem sido indicado principalmente no caso de crianças e adolescentes¹. As drogas em uso clínico são as mesmas de 20 anos atrás: o nifurtimox ou Bay 2502, derivado nitrofurilidênico e o benzonidazol (Ro7- 1051), derivado nitroimidazólico. Têm sido testadas drogas também eficazes mas que não atingiram o uso clínico como o MK-436, determinando a cura parasitológica em alta percentagem dos animais, mesmo quando infectados por cepas do *T. cruzi* altamente resistentes aos outros quimioterápicos^{2,3} e o D0870 um derivado bis-triazólico⁹ determinando cura em 60 a 90% dos animais tratados, índices semelhantes aos já observados com os demais medicamentos no tratamento de infecção por cepas suscetíveis^{5,6}.

Entre os problemas relacionados à quimioterapia da doença de Chagas e que têm desafiado os clínicos em áreas endêmicas de alta prevalência está a comprovação da cura nos pacientes tratados. De acordo com Cançado⁷, a cura só poderá ser comprovada quando, ao lado da negatificação parasitológica por xenodiagnósticos repetidamente negativos, durante período prolongado, ocorrer também a negatificação sorológica. Os testes sorológicos ditos *convencionais* são a imunofluorescência indireta (IFI), a hemaglutinação e ELISA. Além destes tem sido preconizado o teste de lise mediada por complemento (LMC)⁸ cujos resultados são controvertidos. No modelo experimental, não houve correlação entre o teste de LMC e os testes parasitológicos. Recentemente foi introduzida a técnica do PCR (Polymerase-chain-reaction) em amostras de sangue, que permite detectar sequências específicas de DNA do cinetoplasto para detectar os parasitos, porém não há ainda uma avaliação sobre os resultados obtidos com este método. Na quimioterapia experimental, os critérios de cura se baseiam em testes parasitológicos aplicados aos animais tratados, variados e simultâneos como o xenodiagnóstico, a hemocultura, a subinoculação do sangue em camundongos recém-nascidos, o tratamento com drogas imunossupressoras para reativar a parasitemia subpatente e o estudo histopatológico, todas com o objetivo de demonstrar a ausência de parasitos isto é, a comprovação segura da *cura parasitológica*. São também realizados os testes sorológicos nestes animais os quais têm revelado na maioria dos casos, a falta de correlação entre a negatificação parasitológica e a sorológica. Na experiência clínica de vários pesquisadores, em pacientes devidamente tratados há um acentuado lapso de tempo entre a negatificação do xenodiagnóstico e a negatificação sorológica, de mais de um ano nos casos agudos e período maior nos casos crônicos o que dificulta a comprovação da cura. Com o objetivo de investigar os mecanismos determinantes destes achados, foi levantada a hipótese de que antígenos parasitários estariam seqüestrados em *células de memória* no baço⁴. A memória imunológica está associada às células dendríticas foliculares, na zona B de centros germinais dos folículos linfóides, as quais capturam complexos antígeno-anticorpo e, como células apresentadoras de antígenos os fornecem às células B antígeno-específicas dando origem às células B de memória imunológica, envolvidas na resposta humoral. As células dendríticas podem manter complexos imunes por períodos prolongados e, através

determinantes antigênicos livres, mantêm a estimulação continuada da resposta sorológica e da produção de anticorpos. Para investigar esta hipótese, camundongos infectados por diferentes cepas do *T. cruzi*, tratados na fase crônica da infecção, foram acompanhados em um período de 3 a 6 meses após o término do tratamento, quando foram submetidos aos diversos testes de cura parasitológica citados anteriormente. Esta triagem inicial permitiu detectar os seguintes grupos de estudo, tomando como base a cura parasitológica: 1) camundongos tratados e parasitologicamente curados; 2) camundongos tratados porém não curados; 3) controles infectados não tratados. Em todos os animais a sorologia avaliada pelo teste de IFI foi mantida positiva com títulos variando de 1:10 a 1:160 nos tratados e curados e em títulos mais elevados, (1:160 a 1:640) nos não curados e nos não tratados. A investigação dos antígenos do *T. cruzi* seqüestrados em células dendríticas pela imuno-eletronmicroscopia mostraram marcagem positiva de células dendríticas nos centros germinais dos folículos linfóides, visualizada como depósitos densos osmiofílicos na membrana celular, idênticos aos que são evidenciados nas formas parasitárias intracelulares em controles positivos⁴. Isto pode explicar porque pacientes tratados e curados podem permanecer sorologicamente positivos por um lapso de tempo ainda não bem determinado e somente um cuidadoso acompanhamento poderá detectar, com segurança a fase em que ocorre a negatificação sorológica. A possível existência de uma *memória imunológica* mantendo a estimulação à formação de anticorpos, abre novas perspectivas na avaliação do efeito curativo de drogas anti-*T. cruzi* e na avaliação dos resultados do tratamento em pacientes das áreas endêmicas. Deste modo, os critérios de cura pós-terapêutica específica podem estar baseados na negatificação de testes parasitológicos como o xenodiagnóstico e a hemocultura ao lado de significativo decréscimo dos títulos sorológicos por período prolongado, culminando com a negatificação sorológica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Andrade ALSS, Zicker F, Oliveira RM, Almeida e Silva S, Luquetti A, Travassos LR. Randomised trial of efficacy of benznidazole in treatment of early *Trypanosoma cruzi* infection. *The Lancet* 348:1407-1413, 1996.
2. Andrade SG, Castro Silva R, Santiago CMG, Freitas LAR. Therapeutic action of the MK-436 (2-5 Nitroimidazol) in *Trypanosoma cruzi* infection in mice : a parasitological, serological, histopathological and ultrastructural study. *Bulletin of the World Health Organization* 65:625-633, 1987.
3. Andrade SG, Castro Silva R, Santiago CMG. Treatment of chronic experimental *Trypanosoma cruzi* infections in mice with MK436, a 2-substituted 5-nitroimidazole. *Bulletin of the World. Health Organization* 67:509-514, 1989.
4. Andrade SG, Freitas LAR, Peyrol S. Experimental chemotherapy of *Trypanosoma cruzi* infection: persistence of parasite antigens and positive serology in parasitologically cured mice. *Bulletin of the World. Health Organization* 69:191-197, 1991.
5. Andrade SG, Magalhães JB, Pontes AL. Evaluation of chemotherapy with benznidazole and nifurtimox in mice infected with *Trypanosoma cruzi* strains of different types. *Bulletin of the World. Health Organization*. 63:721-726, 1985
6. Andrade SG, Magalhães JB, Pontes AL. Terapêutica da fase crônica da infecção experimental pelo *Trypanosoma cruzi* com o benznidazol e o nifurtimox. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 22:113-118, 1989.
7. Cançado JR. Tratamento específico. In: Cançado JR, Chuster M (eds) *Cardiopatia chagásica*. Fundação Carlos Chagas, Belo Horizonte, MG, p. 327-355, 1985.
8. Kretzli AU, Cançado JR, Brener Z. Effect of specific chemotherapy on the levels of lytic antibodies in Chagas disease. *Transaction of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 76: 334-340, 1982.
9. Urbina JA, Payares G, Molina J, Sanoja C, Liendo A, Lazardi K, Piras MM, Piras R, Wincker P, Ryley JF. Cure of short and long-term experimental Chagas' disease using D0870. *Science* 273: 969-271, 1996.