

TRABAJOS ORIGINALES

I. EFECTO SUPRESIVO DEL NIFURTIMOX EN LA ENFERMEDAD DE CHAGAS EXPERIMENTAL EN RATONES CEPA BALB-C-De

Dra. Elsa Piulats, Profesora Adjunta.

Dr. Shirley Rosello, Profesor Adjunto.

Dr. Hugo Abitbol, Profesor Titular.

Dra. Dora Juana Dávila de Avaca, Asistente técnica.

Cátedra de Farmacología, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, Argentina

RESUMEN

Se ha realizado un experimento con el objeto de conocer la susceptibilidad de la cepa Tulahuén de *T. Cruzi* al Nifurtimox. Se tomaron cuatro grupos de animales: ratones testigo de infección y tratados con Nifurtimox 10, 50 y 100 mg/kg/día. Se observó 100 % de mortalidad en los animales testigo a los 10 días de infección. Los tratados con 10 mg presentaron menos parasitemia que los testigo, aunque no se negativizaron. Los tratados con 50 y 100 mg presentaron ausencia de parásitos circulantes durante el tratamiento y se hicieron positivos los primeros a los 10 días y los segundos a los 18 días de terminado el mismo. Todos los animales sobrevivieron durante el período de observación (20 y 30 días). El crecimiento fue subnormal para los ratones tratados con 10 y 100 mg. En los tratados con 10 mg, esta alteración fue atribuida a la persistencia de la enfermedad. En el grupo de 100 mg, la falta de crecimiento podría indicar toxicidad de la droga.

SUMMARY

A study has been carried out in order to assess *T. Cruzi* susceptibility of the Tulahuen strain, to Nifurtimox. Animals were divided in four groups: non-treated controls, and 10, 50 and 100 mg/kg/day Nifurtimox treated animals. At 10 days post-infection there was a 100 % mortality in the control group. Animals treated with 10 mg/kg/day had less parasitemia than controls but did not become fully negative. There were no circulating parasites during treatment in both the 50 mg and 100 mg/kg/day group, but parasitism began to appear in blood 10 days after stopping treatment in the former group and 18 days after in the latter one. All animals survived during the observation period (20 and 30 days). Body growth was subnormal in mice treated with 10 mg and 100 mg/kg/day. In the former group this lack of growth may have been due to persistence of disease. In the 100 mg group this may indicate drug toxicity.

El Nifurtimox, derivado nitrofurano de gran difusión para el tratamiento de la enfermedad de Chagas aguda en nuestro país, ha sido empleado con diferentes resultados tanto en investigación clínica como experimental. (1, 2, 3, 5)

J. R. Cançado y col. (1) demostraron que la droga presentaba un efecto supresivo. Otros autores (2) han comunicado diferencias en la susceptibilidad de las cepas tratadas. Debido a ello,

hemos considerado oportuno conocer la acción de la droga sobre la cepa Tulahuén de *T. Cruzi*.

MATERIAL Y METODOS

Cepa de *Trypanosoma Cruzi*: se utilizó la cepa Tulahuén obtenida de ratones C. 3. H. infectados en la Universidad de Chile y mantenidos en nuestro laboratorio.

INOCULACION DE ANIMALES

Fueron inoculados 40 ratones cepa Balb-C-De de 30 días de vida, por vía subcutánea, con 0,5 ml de sangre fresca conteniendo 200.000 parásitos. El recuento de tripanosomas se realizó con el método de Pizzi modificado por Brenner.⁽⁴⁾

ESQUEMAS DE TRATAMIENTO

Se dividieron los animales infectados en cuatro series de 10 ratones cada una y de la siguiente manera (ver tabla 1): 10 ratones testigo de infección; 10 ratones tratados con Nifurtimox 10 mg/kg/día, 10 ratones tratados con Nifurtimox 50 mg/kg/día y 10 ratones tratados con la misma droga a razón de 100 mg/kg/día.

Todos los animales comenzaron el tratamiento a las 24 horas de la infección, dividida la dosis diaria en dos aplicaciones subcutáneas y durante un período de 10 días.

CONTROL DE ACTIVIDAD DE LA DROGA

Se realizaron curvas de parasitemia; se controló el peso de los animales y el porcentaje de mortalidad durante el período de observación.

RESULTADOS

La tabla 2 nos indica la parasitemia de las cuatro series. Se observa en el 8º día de infección que los animales testigo presentan mayor parasitemia que los tratados con 10 mg/kg/día de Nifurtimox.

Esta diferencia es estadísticamente significativa ($p < 0,0005$). Los animales tratados con 50 y 100 mg resultaron negativos a la observación de sangre fresca en la misma fecha. El día 10º posinfección, todos los animales testigo debieron ser sacrificados a causa de signos claros de enfermedad terminal, y para permitir el estudio histopatológico. El día 13º posinfección y cuando ya había finalizado el tratamiento, la parasitemia de los ratones tratados con Nifurtimox 10 mg/kg/día persistía positiva y aún eran negativos los tratados con 50 y 100 mg. El día 21º, tanto los tratados con Nifurtimox 10 mg como con 50 mg, eran positivos al examen de sangre fresca ($p < 0,0005$). Estos dos grupos fueron sacrificados para estudio histopatológico. Recién el día 28º posinfección y a los 20 días de terminado el tratamiento, todos los ratones tratados con 100 mg presentaron parasitemia, aunque el número de flagelados sanguíneos era insuficiente para su recuento. Dos días más tarde la parasitemia continuaba en aumento y los animales fueron sacrificados.

En cuanto al peso de los animales en las diferentes series (tabla 3) partiendo de un peso

normal de 20 g a los 30 días de vida, y 26,2 g a los 50 días, se observó disminución significativa de peso en los animales tratados con 10 y 100 mg ($p < 0,0005$), evolucionando en forma normal los ratones tratados con 50 mg/kg/día.

PORCENTAJE DE MORTALIDAD (tabla 4)

Fue de 100 % para los animales testigo y 0 % para todos los tratados en el tiempo de observación (experimento agudo). No se realizó curva de supervivencia debido al escaso número de animales empleados.

CONCLUSIONES

Varios autores han observado diferencias en la susceptibilidad de las cepas de *T. Cruzi* a los quimioterápicos.⁽⁵⁻⁶⁾ Específicamente con Nifurtimox, Andrade y colaboradores⁽⁷⁾ demostraron mayor susceptibilidad de la cepa peruana a la droga, obteniendo incluso algunas curas parasitológicas en los animales tratados (44 %), en cambio la cepa colombiana se mostró resistente al Nifurtimox con parasitemias positivas, tanto durante el tratamiento como con posterioridad al mismo.

Con la cepa utilizada por nosotros pudimos observar, en las dosis aconsejadas en terapéutica, 10 mg/kg/día, parasitemia durante el tratamiento, aunque los niveles fueron inferiores a los de animales testigo. Con las dosis mayores, 50 y 100 mg, los ratones persistieron negativos durante la administración de la droga, y es interesante destacar que la parasitemia apareció en primer lugar en la serie tratada con 50 mg a los 10 días de terminado el tratamiento y con 100 mg a los 18 días de la finalización del mismo. Es evidente que el efecto del Nifurtimox sobre la cepa Tula-huén de *T. Cruzi* es supresivo y no curativo. La supresión es mayor con el aumento de la dosis. También se observó sobrevida de los ratones de las tres series tratadas a la etapa aguda de la enfermedad, pero como todos los animales fueron sacrificados, no poseemos curvas de sobrevida en el estadio crónico de la enfermedad para comparar con ratones normales.

Con respecto a la toxicidad de la droga, se hace evidente que los ratones tratados con 100 mg/kg/día no presentan desarrollo normal, ya que el peso al final de la observación fue sensiblemente inferior al de los animales normales y tratados con 50 mg/kg/día. La falta de aumento de peso en ratones tratados con 10 mg podría atribuirse a la persistencia de infección severa durante todo el período de observación.

TABLA 1
Grupos experimentales

Grupos experimentales (10 animal. c/u)	Iniciación tratamiento	Inóculo (parásitos)	Nº dosis	Duración tratamiento
Testigos	—	200.000	0	0
Nifurtimox				
10 mg/kg/día	24 horas	200.000	20	10 días
50 mg/kg/día	24 horas	200.000	20	10 días
100 mg/kg/día	24 horas	200.000	20	10 días

TABLA 2
Niveles de parasitemia

Días de infección	Controles	Tratadas con Nifurtimox		
		10 mg	50 mg	100 mg
8	3,266 ± 85	1,522 ± 82	0	0
10	*			
13	—	525 ± 67	0	0
21	—	21 ± 11	5,83 ± 1,6	0
22	—	**	**	0
28	—	—	—	Posit.
30	—	—	—	53 ± 20
31	—	—	—	**

* Sacrificadas premortem para estudio histopatológico.

** Sacrificadas para estudio histopatológico.

TABLA 3
Porcentaje de mortalidad en experimento agudo de animales infectados con *T. Cruzi* cepa Tulahuén y tratados con Nifurtimox

	10 días	20 días	30 días
Testigos	100 %		
Nifurtimox			
10 mg/kg/día	0 %	0 %	
50 mg/kg/día	0 %	0 %	
100 mg/kg/día	0 %	0 %	0 %

TABLA 4
Crecimiento de los ratones tratados con Nifurtimox e infectados previamente con *T. Cruzi* cepa Tulahuén

Días de vida	30	50
Normales	20 g	26,2 ± 0,32 g
Testigo	20 g	
Nifurtimox		
10 mg	20 g	20,9 ± 0,84 g *
50 mg	20 g	26,7 ± 0,54 g
100 mg	20 g	19,6 ± 0,50 g *

* $p < 0,0005$.

BIBLIOGRAFIA

- Cançado, J. R.; Salgado, A.; Marra, M. D., y col.: "Ensayo terapéutico clínico na Doença de Chagas crônico como o Nifurtimox con três esquemas de duração prolongada". Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo, 17 (2):111-125, 1975.
- Schenone, J.; Concha, L.; Arandas, R., y col.: "Experiencia terapéutica con el Bay 2502 en la infección chagásica crónica del adulto. Importancia del uso adecuado del xenodiagnóstico". Bol. Chil. Parasit., 24:66-69, 1969.
- Cerisola, J. A.; Alvarez, M.; De Rissio, A. M.: "Inmunodiagnóstico da doença de Chagas: Evolução serológica de pacientes com doença de Chagas". Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo, 12:403-411, 1970.
- Brenner, Z.: "Therapeutic activity and criterion of cure on mice experimentally infected with *Trypanosoma Cruzi*". Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo, 4 (6):389-396, 1962.
- Andrade, S. G.; Figueira, R.M.; Carvalho, M. L., y col.: "Influência da cepa do *Trypanosoma Cruzi* na resposta a terapêutica experimental pelo Bay 2502". Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo, 17 (6):380-389, 1975.
- Brenner, Z.; Costa, C. A.; Chiari, C.: "Differences in the susceptibility of *Trypanosoma Cruzi* strains to active chemotherapeutic agents". Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo, 18 (6):450-455, 1976.