



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGIA
PROGRAMA DE EDUCAÇÃO TUTORIAL - PET

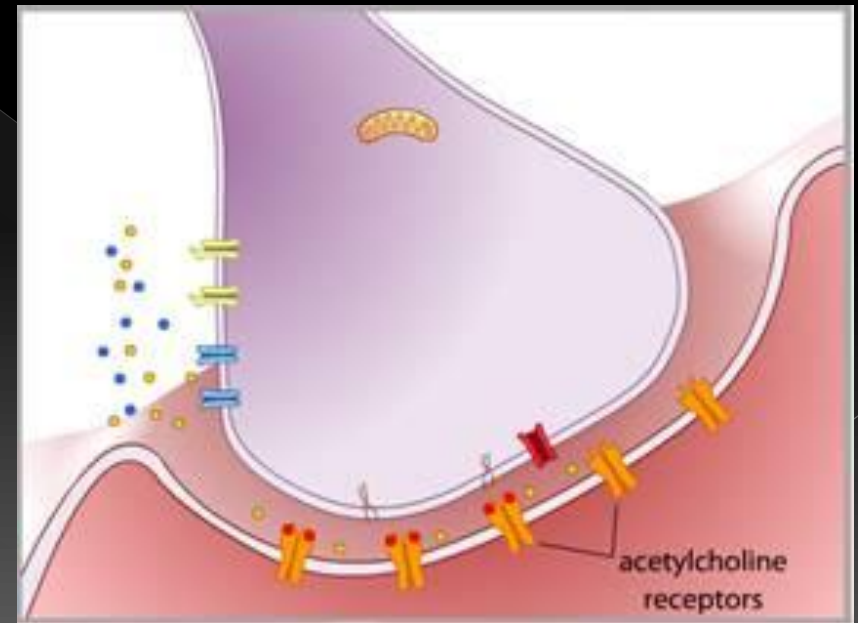
Phenotypic Characterization of Two *Ancylostoma caninum* Isolates with Different Sucesptibilities to the Anthelmintic Pyrantel

Steven R. Kopp, Glen T. Coleman, James S. McCarthy, and Andrew C. Kotze

Aluno: Natanael Bezerra
Farmácia

Introdução (aspectos fisiológicos)

- ◉ Potencial de Ação
- ◉ Sinapse química
- ◉ Acetilcolina (Ach)



Introdução (aspectos fisiológicos)

- ◉ Receptores colinérgicos

Receptores muscarínicos (afinidade concomitante pela muscarina)

Receptores nicotínicos (afinidade simultânea pela nicotina)

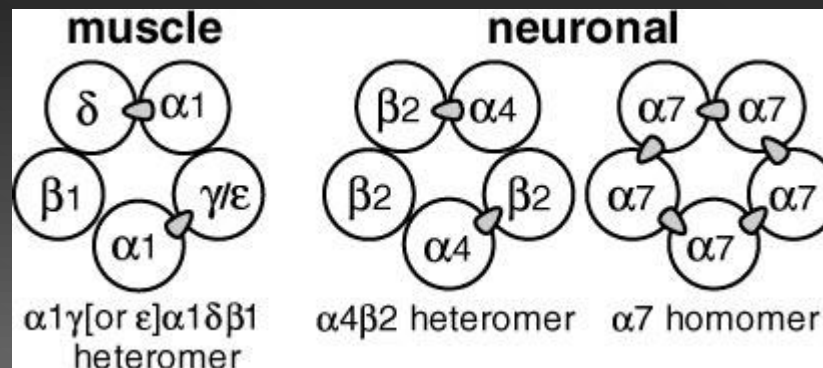


Introdução (aspectos fisiológicos)

◉ Receptores nicotínicos

Proteína transmembrana (canal iônico)

Musculares (até quatro subunidades diferentes)



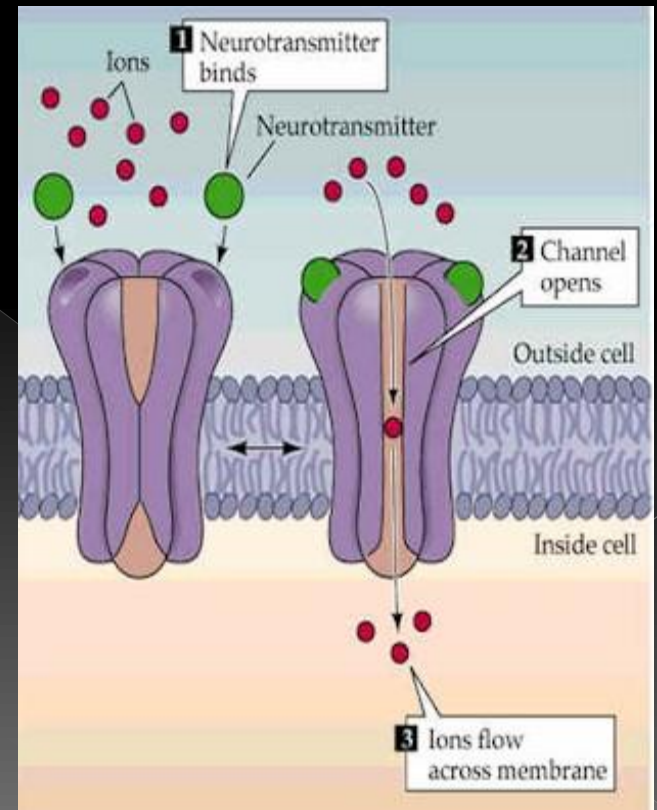
Introdução (aspectos fisiológicos)

◉ Ação no receptor nicotínico

Mudança na conformação

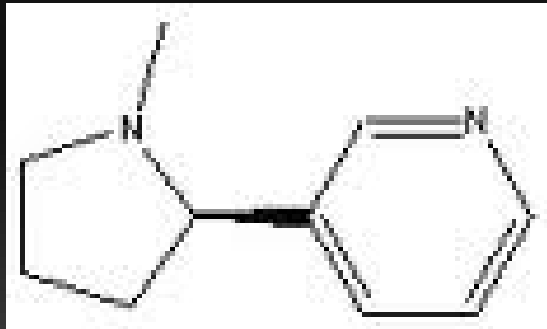
Efluxo de K^+

Influxo de Na^+ e Ca^{2+}



Fármacos utilizados

◉ Nicotina



* Plantação de tabaco cujo princípio ativo principal é a nicotina

Fármacos utilizados

◉ Nicotina

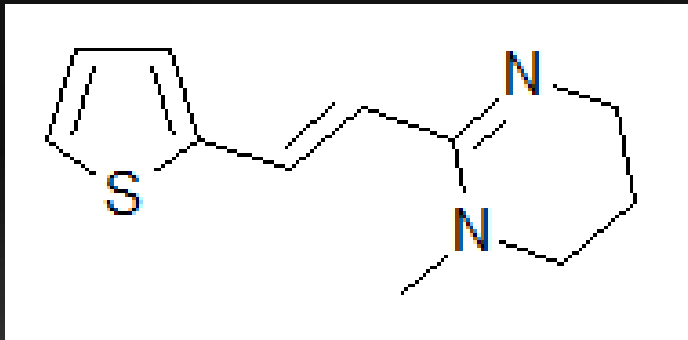
Maior tropismo pelo receptor

Inativação reversível



Fármacos utilizados

◉ Pirantel



* Associação do pamoato de pirantel e outros fármacos

Fármacos utilizados

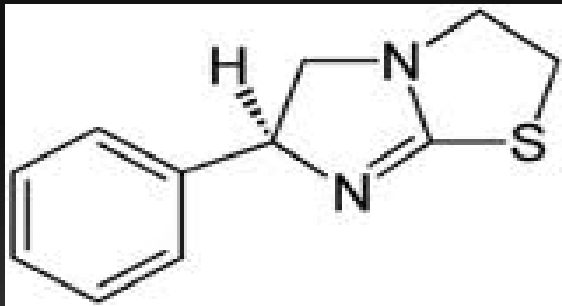
- Pirantel

Efeito similar ao da acetilcolina
(despolarizante)

Maior período de ação

Fármacos utilizados

◉ Levamisol



Fármacos utilizados

- ◉ Levamisol

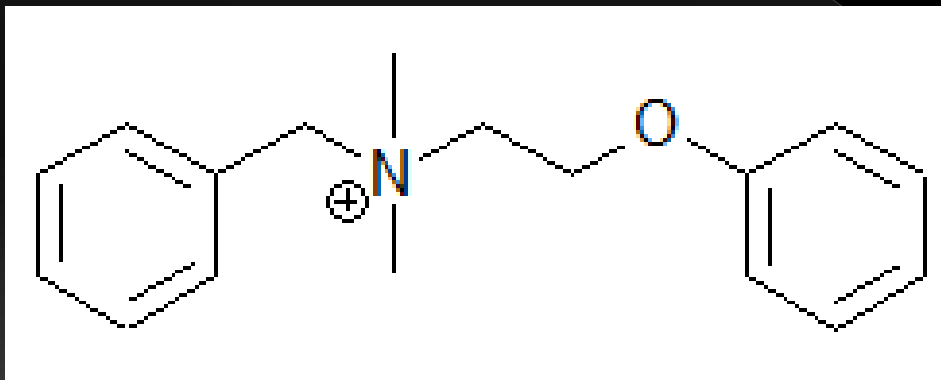
Impede a conversão de fumarato em succinato (fumarato redutase)

Prejuízo ao metabolismo energético do parasito

Em associação, também é utilizado no tratamento de neoplasias

Fármacos utilizados

- ◉ Befênio



Artigo (resumo)

- ◉ Resistência de várias espécies de ancilostomídeos ao pirantel com causa desconhecida.
- ◉ Objetivo do estudo: determinar se ambas as fases (larval e adulta) são suscetíveis aos fármacos agonistas em cada subtipo de receptor.

Artigo (Resumo)

- ◉ Escolha de dois isolados de *Ancylostoma caninum*:

Isolado NT (baixa resistência ao pirantel)

Isolado PR (alta resistência ao pirantel)

Bioensaios

- ◉ Bioensaios mais utilizados no estudo de resistência ao pirantel:

Ensaio de migração das larvas

Ensaio do desenvolvimento das larvas

Ensaio de motilidade larval (LMA)

Ensaio de morfologia de larvas presas (LAMA)

Aspectos Gerais

- ◉ Fármacos agonistas tem seletividade à subpopulações de nAChRs
- ◉ O *Ascaris suum* (parasito suíno) possui três subtipos de nAChRs (L,B e N):
 - Subtipo L (pirantel e levamisol)
 - Subtipo B (befeônio)
 - Subtipo N (nicotina)
- ◉ Distribuição incerta entre as espécies

Hipóteses de Resistência

- ◉ Resistência decorrente da perda de nAChRs específicos.
- ◉ A diminuição de nAChRs alvo poderia, por compensação biológica, levar a produção de outros receptores não suscetíveis.

Materiais e Métodos

● Isolados do *A. caninum*:

- Comparação *in vivo* revelou eficácia de 25% em PR e 71% em NT para pirantel (vermes adultos expulsos).
- Cultivo e armazenamento de larva L3.
- Sacrifício dos cães doadores, remoção direta dos vermes adultos e armazenamento.
- Administração de embonato de pirantel seis dias antes da eutanásia (eliminação de parasitos suscetíveis).

Materiais e Métodos

● Drogas

Embonato de pirantel

Cloridrato de levamisol

Nicotina

Hidroxinaftoato de befênio

Utilizadas como representante de cada subtipo (L,N e B).

Soluções estoque (uso nos LMA e LAMA e na transdução de força).

Materiais e Métodos

● LAMA

- Placa de matriz de ágar com 96 poços.
- Gradientes de drogas por diluições seriais (cada linha composta por 10 poços de diluição).
- Placas foram estabilizadas em temperatura ambiente (2 horas), sendo depositado 30 μ L de suspensão larval (1.500 larvas/ml).
- As placas foram incubadas por 48 horas a 25°C.
- A morfologia das larvas quiescentes foi analisada.

Materiais e Métodos

◎ LMA

- O efeito das drogas na motilidade larval foi analisado nas mesmas placas do LAMA.
- Estimulação da motilidade por adição de 40 μ L de água a 50°C.
- Larvas com movimento sinusoidal contadas como normalmente móveis.
- Larvas com espasmos ou imóveis não foram contadas.

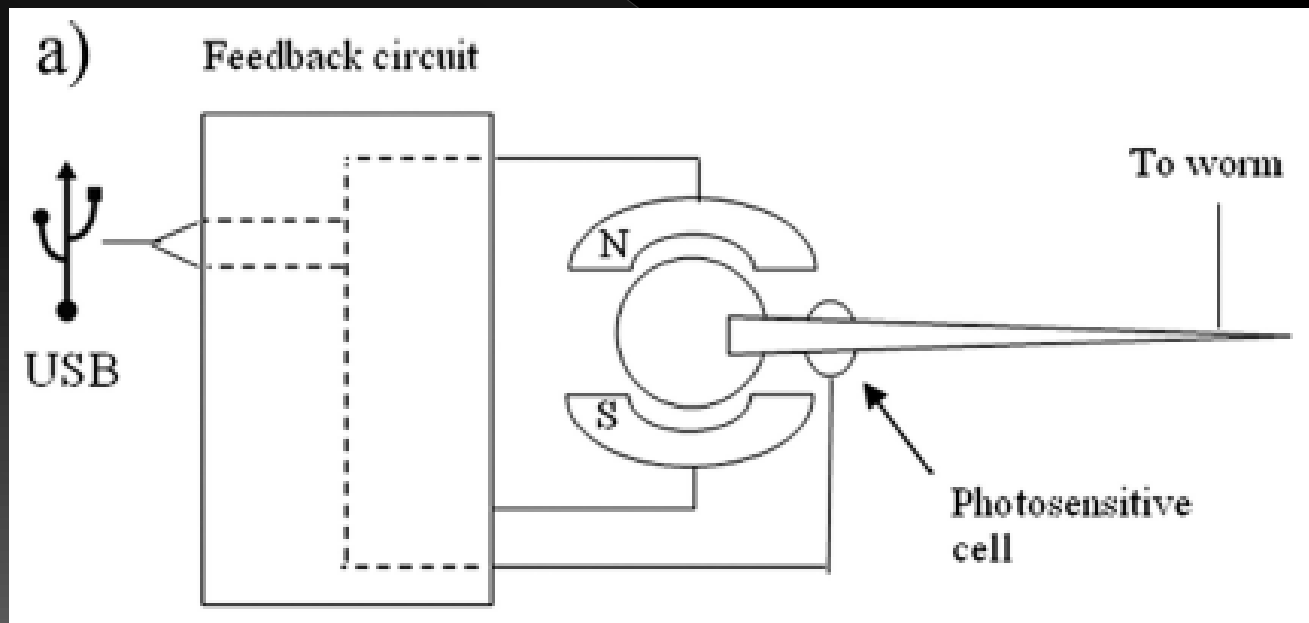
Materiais e Métodos

◉ Força de Transdução

- A agulha do medidor funciona como o braço de um transdutor onde o verme é ancorado.
- A posição da agulha quando uma força é aplicada será proporcional à magnitude dessa força.
- O transdutor foi conectado a um laptop, sendo possível o monitoramento da corrente e consequentemente medição e registro dos dados.

Materiais e Métodos

- Força de transdução (transdutor)



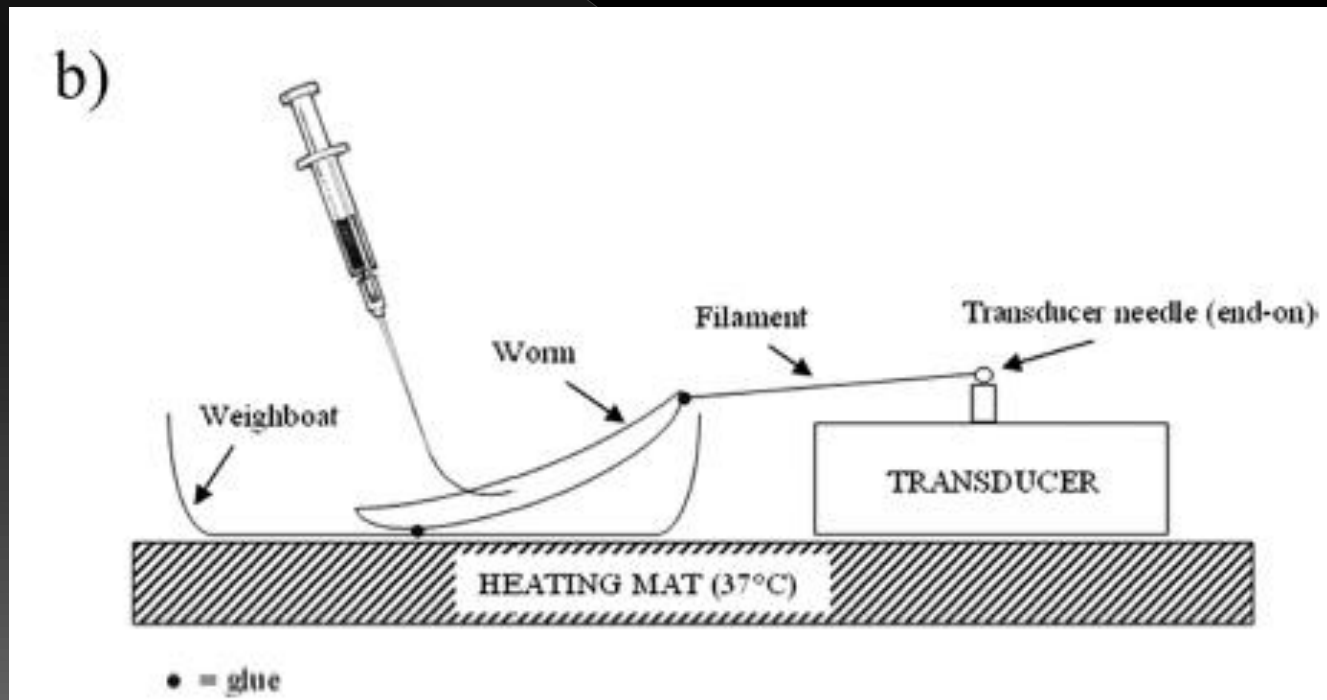
Materiais e Métodos

◉ Força de Transdução

- Gradientes de concentração das drogas foram preparados por série de diluições.
- As drogas foram injetadas em cada verme por uma pipeta de 20 μ L em ordem de concentração crescente.
- Solução de KCl 50mM foi utilizada para promover máxima contração, utilizada como padrão na comparação das respostas dos vermes em cada concentração da droga.

Materiais e Métodos

◉ Força de Transdução (manipulação do verme)



Materiais e Métodos

◉ Estatísticas (definições)

- Para LAMA e LMA, o IC_{50} representa a concentração que provoca quiescência em metade das larvas.
- Para a força de transdução, o EC_{50} representa a concentração da droga necessária para provocar metade da contração máxima.

Discussão

- ◉ Pirantel e levamisol foram menos potentes contra o isolado PR que o NT. Isso sugere que a resistência a esses dois fármacos é acompanhado por suscetibilidade à nicotina nessa fase da vida (larva), fármaco que apresentou maior potência.

Discussão

- ◉ Na fase larval, o befênio se mostra mais potente contra as larvas do isolado PR que a do NT. As diferenças relativas entre levamisol, pirantel e befênio é uma prova da presença de diferentes subpopulações de nAChRs.

Discussão

- ◉ Nos vermes adultos o pirantel, levamisol e nicotina eram menos potentes contra os do isolado PR que o do isolado NT. Contudo, a potência do befênio para ambos os isolados é a mesma.
- ◉ Os autores concluem que há um complexo padrão de nAChRs e que os isolados diferem em suas sensibilidades pelos agonistas alvo de diferentes nAChRs.

Referências de Pesquisa

- Steven R. Kopp, Glen T. Coleman, James S. McCarthy, and Andrew C. Kotze. *Phenotypic Characterization of Two Ancylostoma caninum Isolates with Different Susceptibilities to the Anthelmintic Pyrantel*. Australia: American Society for Microbiology, 2008;|
- www.ff.up.pt/toxicologia/monografias/anoo607/neonicot/recepnicot.html
- www.ff.up.pt/toxicologia/monografias/anoo708/g19beladona/mec.html.

Referências da Pesquisa

- en.wikipedia.org/wiki/Levamisole
- www.laboratoriolamar.com/levamisol.htm
- FLORENCE ATWOOD. *Princípios Físico-Químicos em Farmácia*. São Paulo: edusp, 2003.
- www.fisiologia.kit.net/farmacologia/nic.htm

*"Ó Chama de Amor Viva,
que ternamente feres
dessa minha alma o mais profundo centro!
Se já não és esquiva,
acaba já, se queres,
ah! Rompe a tela desse doce encontro!"*

(São João da Cruz)

Obrigado!!!

