



Universidade Federal de Ouro Preto
Escola de Farmácia
Departamento de Farmácia



**A INTERFERÊNCIA DO BENZONIDAZOL NA TERAPÊUTICA DA INFLAMAÇÃO
OCASIONADA PELA DOENÇA DE CHAGAS**

JÚLIA PEREIRA AGULHARI

OURO PRETO, MG
2022

JÚLIA PEREIRA AGULHARI

**A INTERFERÊNCIA DO BENZONIDAZOL NA TERAPÊUTICA DA INFLAMAÇÃO
OCASIONADA PELA DOENÇA DE CHAGAS**

Monografia apresentada junto ao Curso de Farmácia da Universidade Federal de Ouro Preto, como requisito à obtenção do título de bacharel.

Orientador: Prof. André Talvani Pedrosa da Silva
Co-Orientador: Dr. Guilherme de Paula Costa

**OURO PRETO, MG
2022**

SISBIN - SISTEMA DE BIBLIOTECAS E INFORMAÇÃO

A282i Agulhari, Julia Pereira.
A interferência do benzonidazol na terapêutica da inflamação ocasionada pela doença de Chagas.. [manuscrito] / Julia Pereira Agulhari. - 2022.

41 f.: il.: color., tab..

Orientador: Prof. Dr. André Talvani.

Coorientador: Dr. Guilherme Costa.

Monografia (Bacharelado). Universidade Federal de Ouro Preto. Escola de Farmácia. Graduação em Farmácia .

1. Chagas, Doença de. 2. Trypanossoma cruzi. 3. Protozoário patogênico. 4. Antiparasitários. 5. Inflamação. I. Costa, Guilherme. II. Talvani, André. III. Universidade Federal de Ouro Preto. IV. Título.

CDU 616.937

Bibliotecário(a) Responsável: Soraya Fernanda Ferreira e Souza - SIAPE: 1.763.787



FOLHA DE APROVAÇÃO

Júlia Pereira Agulhari

**A interferência do benzonidazol na terapêutica da inflamação
ocasionada pela doença de Chagas**

Monografia apresentada ao curso de Farmácia da Universidade Federal de Ouro Preto como requisito parcial para obtenção do título de farmacêutico generalista,

Aprovada em 15 de junho de 2022

Membros da banca

Dr. André Talvani Pedrosa da Silva - Orientador - Universidade Federal de Ouro Preto
Dr. Guilherme de Paula Costa - coorientador - Universidade Federal de Ouro Preto
Dra. Aline Luciano Horta - Albert Einstein College of Medicine, NY, EUA
Dra. Tatiana Prata Menezes Universidade Federal de Ouro Preto

Prof. André Talvani Pedrosa da Silva, orientador do trabalho, aprovou a versão final e autorizou seu depósito na Biblioteca Digital de Trabalhos de Conclusão de Curso da UFOP em 27/06/2022.



Documento assinado eletronicamente por **André Talvani Pedrosa da Silva, PROFESSOR DE MAGISTERIO SUPERIOR**, em 27/06/2022, às 13:45, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.ufop.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0352168** e o código CRC **66B356A8**.

Agradecimentos

Agradeço à Deus pela minha fé, pelas oportunidades dadas e por todos os aprendizados adquiridos durante esses anos.

Agradeço aos meus pais por tornarem meus sonhos mais fáceis e por toda a ajuda durante minha caminhada até aqui. Agradeço também a minha Madrinha Cleusa e meu Tio Pedro pela confiança!

Agradeço ao Laboratório de Imunobiologia da Inflamação (LABIIN) pela oportunidade e pelo crescimento diário nestes últimos anos. Um agradecimento especial ao Dr Guilherme pela acolhida em seu projeto e por acreditar em mim.

Aos colegas da farmácia, em especial àqueles que entraram comigo no 15.2 e aos amigos que fiz durante essa jornada, obrigada pelas trocas. Levarei vocês no coração!

Ao Matheus pelo companheirismo e paciência.

E por fim, agradeço à UFOP pelo ensino gratuito e de qualidade.

“Eu sou parte de uma equipe. Então, quando venço, não sou eu apenas quem vence. De certa forma termino o trabalho de um grupo enorme de pessoas.”

Ayrton Senna da Silva.

RESUMO

A doença de Chagas é causada pelo parasito *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*) e possui sua via de transmissão clássica centrada na forma vetorial por intermédio do vetor invertebrado triatomíneo. Após 110 anos de sua descoberta ainda se constitui como enfermidade entre 17 doenças tropicais e permanece negligenciada do ponto de vista farmacológico. O benzonidazol (BNZ), descoberto há mais de 40 anos, é um composto ativo com atividade tripanocida e apresenta cura parasitológica de até 80% em indivíduos tratados durante a fase aguda da doença. Com isso, o objetivo desta revisão é buscar informações sobre o entendimento da interferência do BNZ na terapêutica e na inflamação ocasionada pela infecção por *T. cruzi*. O estudo bibliográfico foi realizado com base nos dados do site de busca Pubmed, utilizando as palavras-chaves: benzonidazol, inflamação e doença de Chagas. Este estudo reforçou a redução da carga parasitária e a influência na resposta inflamatória pelo BNZ, além de requerer mais estudos sobre novas formulações a fim de diminuir a taxa de abandono e os eventos adversos apresentados na terapêutica usual.

Palavras-chaves: *Trypanosoma cruzi*; benzonidazol; inflamação; doença de Chagas.

ABSTRACT

Chagas disease is caused by the parasite Trypanosoma cruzi (T. cruzi), and has its classical transmission route centered on the vectorial form through the invertebrate triatomine vector. After 110 years of its discovery, it still constitutes a disease among 17 tropical diseases and remains neglected from the pharmacological point of view. Benznidazole (BZN), discovered more than 40 years ago, is an active compound with trypanocidal activity and presents a parasitological cure of up to 80% in individuals treated during the acute phase of the disease. Thus, the objective of this review is to seek information about the understanding of the interference of BZN in the therapy and inflammation caused by T. cruzi infection. The bibliographic study was carried out based on data from the Pubmed search site, using the keywords: benznidazole, inflammation and Chagas disease. This study reinforced the reduction in the parasite load and the influence on the inflammatory response by BZN, besides requiring further studies on new formulations in order to reduce the dropout rate and adverse events presented in the usual therapy.

Keywords: *Trypanosoma cruzi; benznidazole; inflammation; Chagas disease.*

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 - Microscopia da forma amastigota	13
FIGURA 2 - Microscopia da forma epimastigota	14
FIGURA 3 - Microscopia da forma tripomastigota	14
FIGURA 4 - Ciclo de transmissão do <i>T. cruzi</i>	15
FIGURA 5 - Diferentes espécies de triatomíneos encontrados no Brasil	16
FIGURA 6 - Estrutura do benzonidazol	24
TABELA 1 - Resumo de categorias de dose por peso ponderal para comprimidos de benzonidazol	26
FIGURA 7 - Relação entre farmacocinética e farmacodinâmica	26
FIGURA 8 - Esquema dos mecanismos de ação do benzonidazol	28

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

µg - Microgramas;

µM - Micromoles;

AL - Anticorpos Iíticos;

BNZ - Benzonidazol;

BZN - Benznidazole / Benzonidazol;

C. pilosa - *Cavernicola pilosa*;

CCC - Cardiomiopatia chagásica crônica;

DNA - Ácido desoxirribonucleico;

DSC - Calorimetria exploratória diferencial;

ERK/MAPK - Cadeia de proteínas na célula que comunica um sinal de um receptor na superfície da célula para o DNA no núcleo da célula;

ERK1/2 - Quinases reguladas por sinal extracelular;

IKK - Modulador essencial NF-κB;

IL-2 - Interleucina 2;

IL-4 – Interleucina 4;

IL-6 – Interleucina 6;

IL-10 – Interleucina 10;

IL-12 - Interleucina-12;

IL-15 – Interleucina 15;

IL-17 – Interleucina 17;

IFN-γ - Interferon gama;

IκBα - Inibir o fator de transcrição NF-κB;

Kg - Quilograma;

LAFEPE - Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco;

L-HPC - Hidroxipropilcelulose de baixa substituição;

log *P* - Coeficientes de partição;

LPS - Lipopolissacarídeos;

mg - miligrama;

mL - Mililitros;

NaDC - Desoxicolato de sódio;

NF-κB - Fator nuclear kappa;

NH₂ - Grupo amino;

NO - Óxido nítrico;

NO₂ - Grupo nitro;

NOS2 - Óxido nítrico sintetase -2;

OMS - Organização Mundial da Saúde;

P. diasi - *Panstrongylu diasi*;

P. geniculatus - *Panstrongylu geniculatus*;

P. lutzi - *Panstrongylu lutzi*;

P. tertius - *Psammolestes tertius*;

PEG 400 - Polietilenoglicol 400;

PPG - Polipropileno glicol;

R. domesticus - *Rhodnius domesticus*;

R. neglectus - *Rhodnius neglectus*;

RNA - Ácido ribonucleico;

RNI - Radicais intermediários de nitrogênio;

ROI - Radicais intermediários de oxigênio;

RSM - Metodologia de superfície de resposta;

SD - Dispersões sólidas;

SEM - Microscopia eletrônica de varredura;

SOCS3 - Expressão do supressor de sinalização de citocinas;

STAT3 - Fatores de transcrição ativados por tirosinas quinases;

$t_{1/2} \beta$ - Tempo de meia-vida de eliminação;

T. arthurneiva - *Triatoma arthurneivai*;

T. cruzi - *Trypanosoma cruzi*;

T. melanica - *Triatoma melanica*;

T. wygodzinskyi - *Triatoma wygodzinskyi*;

TGF- β - Fator de crescimento transformador beta;

TNF- α - Fator de necrose tumoral alfa;

XRPD - Difração de pó de raios X.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	12
HISTÓRIA	12
Agente etiológico e ciclo evolutivo	13
TRANSMISSÃO	16
QUADRO CLÍNICO	17
BENZONIDAZOL	18
JUSTIFICATIVA	19
OBJETIVOS	20
OBJETIVO GERAL	20
OBJETIVO ESPECÍFICO	20
METODOLOGIA	21
RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
DOENÇA DE CHAGAS	22
Quadro Clínico	22
Processo inflamatório	22
BENZONIDAZOL (BNZ)	24
Tratamento e posologia	25
Farmacocinética	26
Mecanismo de ação	27
Formulações do BNZ	28
Desenvolvimento de outras formas farmacêuticas	29
Benzonidazol na inflamação	31
CONCLUSÃO	33
REFERÊNCIAS	34

1. INTRODUÇÃO

1.1. HISTÓRIA

Em 1909, a enfermidade Tripanossomíase Americana ou doença de Chagas foi identificada e caracterizada pelo médico sanitarista Carlos Justiniano Ribeiro das Chagas (Chagas, 1909). Apresenta como agente etiológico o *Trypanosoma cruzi*, um protozoário digenético e polifilético. Seu ciclo de vida é heteroxênico, transmitido vetorialmente por insetos da família *reduviidae* e da subfamília *Triatominae* (Chagas, 1909; WHO, 2022). Mesmo após o ano de 1921, quando Chagas e sua equipe já haviam identificado o vetor, os reservatórios naturais e os aspectos morfológicos e clínicos da infecção, a nova doença foi considerada favorecida pela miséria e pelo subdesenvolvimento, e seguiu sendo negligenciada até os anos 40, quando começou a ser reconhecida por políticas brasileiras (Santos, 2019).

A tripanossomíase americana é uma zoonose endêmica em 21 países da América Latina, mas com o processo de migração populacional também levou seu registro em países da América do Norte, da Europa, da Austrália e do Japão, acometendo de 8 a 9 milhões de indivíduos no mundo com 75 milhões em risco de infecção (Aguiar *et al.*, 2012; Jesus *et al.*, 2021). E, apesar de descoberta há mais de 110 anos, essa enfermidade ainda constitui um importante problema de saúde pública em países endêmicos com cerca de 9 milhões de indivíduos infectados na América Latina, onde sua transmissão vetorial por insetos vetores causa 40 mil novos casos por ano e mais de 1 milhão só no Brasil (Aguiar *et al.*, 2012; Hotez, 2015). No entanto, estima-se que a prevalência da doença nas áreas não endêmicas, pode ser muito maior quando consideramos as limitações de diagnóstico, a sua subnotificação e, como citado, o crescente fluxo migratório (Mendonça *et al.*, 2019).

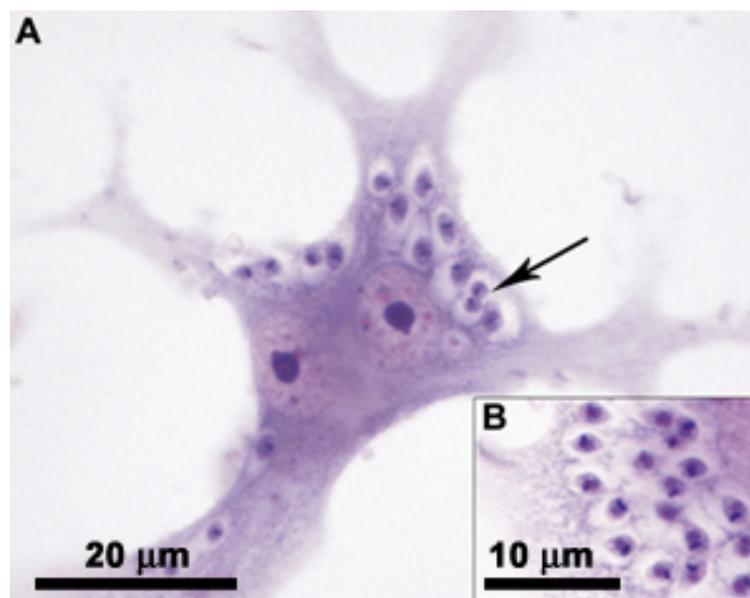
A doença de Chagas ainda é considerada pela Organização Mundial de Saúde (OMS) uma enfermidade, entre uma das 17 doenças tropicais mais negligenciadas do ponto de vista farmacológico mesmo com a existência de ações para seu controle em alguns países (WHO, 2022; Creek *et al.*, 2014). E mesmo com o estabelecimento de estratégias na redução da transmissão vetorial nas áreas endêmicas e a introdução universal da triagem com os doadores de órgãos e sangue, resultando em queda dos casos nas últimas décadas, a doença ainda é

responsável por mais de 13 mil óbitos anuais, principalmente devido à insuficiência cardíaca associada à cardiomiopatia chagásica crônica (CCC) (Creek *et al.*, 2014; Murcia *et al.*, 2017; Mendonça *et al.*, 2019). Sendo assim, diante os avanços no combate ao vetor e buscando compreender o impacto desta infecção pelo *T. cruzi* na farmacocinética e distribuição tecidual (Jesus *et al.*, 2021), permanece evidente a necessidade de novas medidas de controle em conjunto aos estudos dos medicamentos já utilizados, envolvendo a eficácia e toxicidade.

1.1.1. Agente etiológico e ciclo evolutivo

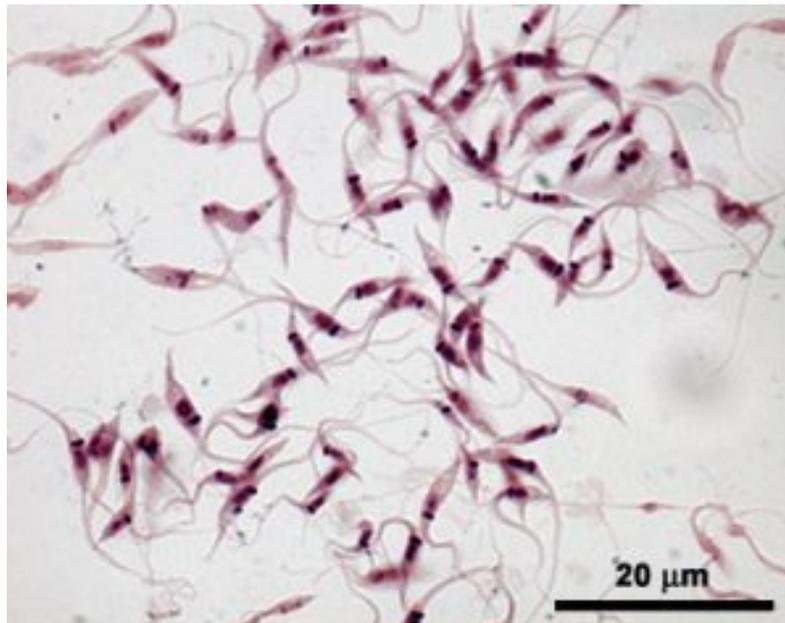
O agente etiológico *Trypanosoma cruzi* apresenta três principais estágios evolutivos: amastigotas (Figura 1), epimastigotas (Figura 2) e tripomastigotas (Figura 3), essas transformações ocorrem após uma série de divisões decorrentes das alterações fisiológicas sofridas, tanto pela nutrição dos produtos da digestão sanguínea quanto da secreção intestinal. Sendo a forma amastigota encontrado no tecido do hospedeiro vertebrado infectado, possuindo estrutura arredondada e sem flagelo (Figura 1) (Alvarenga, 1997). Já a forma epimastigota é flagelada e alongada, sendo encontrada no sistema digestivo do vetor invertebrado, o triatomíneo (Figura 2). E por fim, a forma tripomastigota é encontrada na circulação sanguínea e no reto do triatomíneo, possuindo estrutura mais alongada e a presença de flagelo (Figura 3). (Pérez- Molina & Molina, 2018).

Figura 1 - Microscopia da forma amastigotas



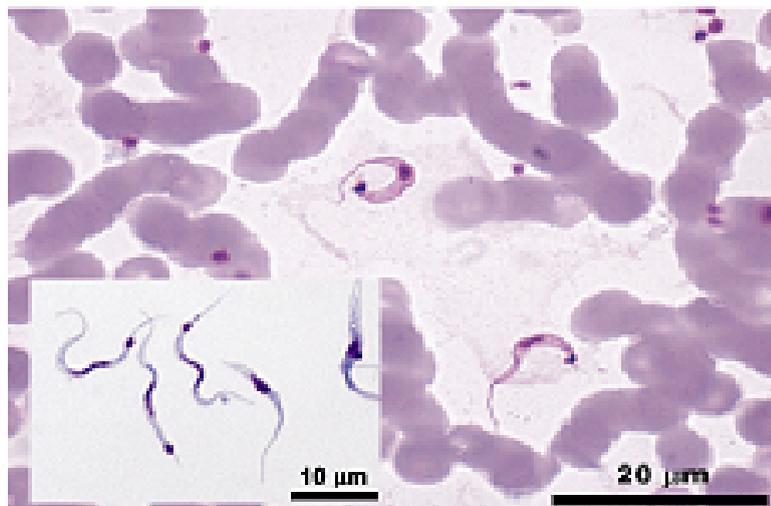
Fonte: Estudo de Microscopia Óptica por Carvalho, 2017. (Fiocruz)

Figura 2 - Microscopia da forma epimastigotas



Fonte: Estudo de Microscopia Óptica por Carvalho, 2017. (Fiocruz)

Figura 3 - Microscopia da forma tripomastigotas

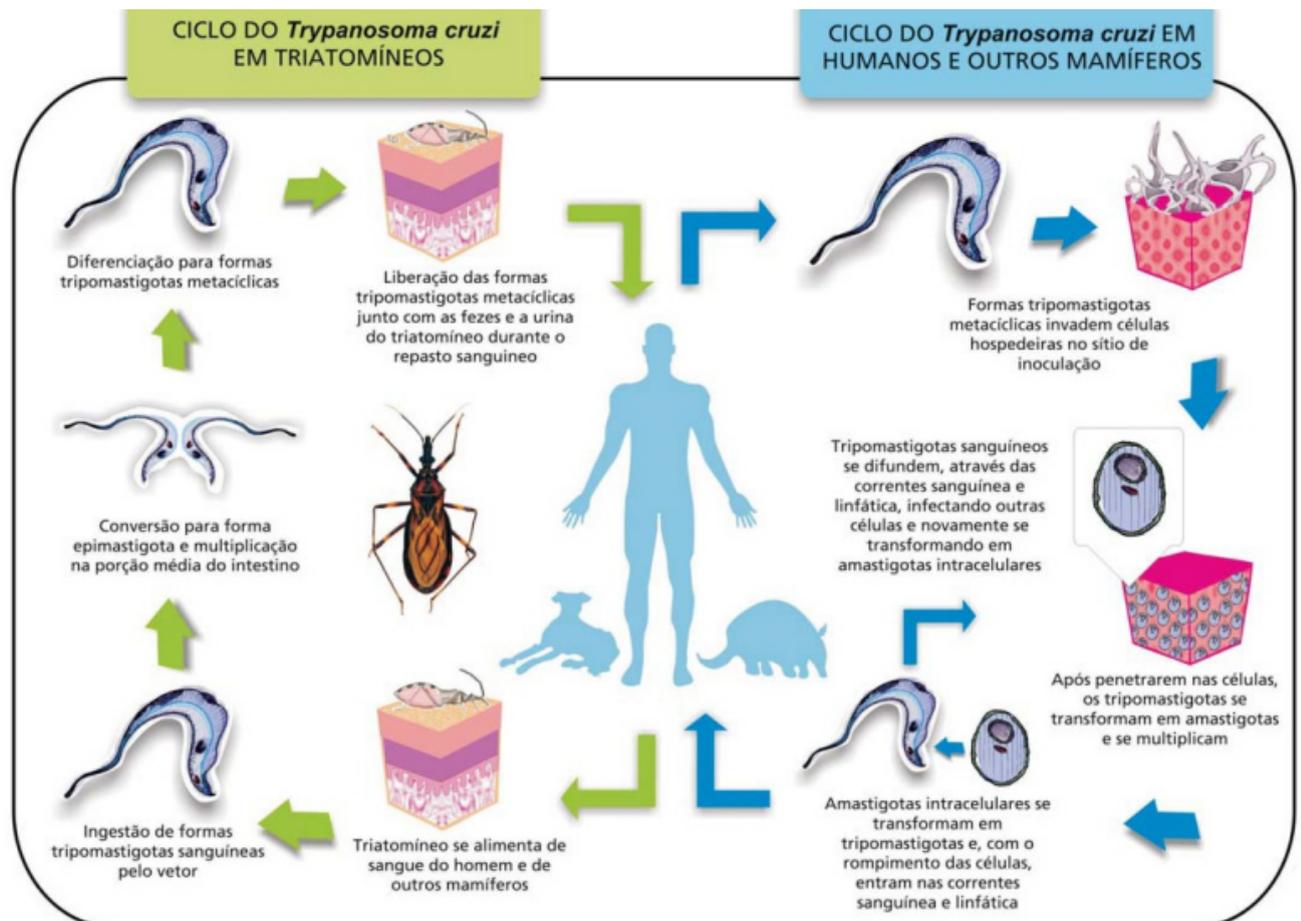


Fonte: Estudo de Microscopia Óptica por Carvalho, 2017. (Fiocruz)

O ciclo biológico do *T. cruzi* (Figura 4) no triatomíneo começa quando o barbeiro ingere o sangue dos animais infectados com a forma tripomastigotas do parasito, que ao chegar no estômago se transforma na forma esferomastigotas. E em seguida, os parasitos migram para o intestino, se transformando na forma epimastigotas e se multiplicando. Após, migram para o reto e se transformam em tripomastigotas, onde são eliminados junto com as fezes e a urina do triatomíneo (Jansen *et al.*, 2000).

Sendo assim, o ciclo se prossegue na forma tripomastigotas e epimastigotas, que após eliminadas são inoculadas na pele ou nas mucosas do vertebrado. Na forma tripomastigota, pode penetrar e se desenvolver em todos os tipos de células, exceto eosinófilo e neutrófilo. Já a forma epimastigotas, são facilmente fagocitadas e digeridas. Após a penetração, a forma tripomastigota inicia seu processo de transformação para forma amastigota, onde um vacúolo formado inicialmente é rompido e a forma amastigota se encontra em contato direto com as estruturas citoplasmáticas. Cerca de 35 horas após, o processo de divisão binária se inicia e prossegue por, aproximadamente, 14 dias, onde no quinto dia têm-se o início do processo sincrônico das duas formas (amastigotas e tripomastigotas). Após a transformação, adquirem um flagelo, que consegue romper a célula através de movimentos intensos, levando a infecção de outras células, podendo atingir a corrente sanguínea e todo o organismo. (Jansen *et al.*, 2000).

Figura 4 - Ciclo de transmissão vetorial do *T. cruzi*

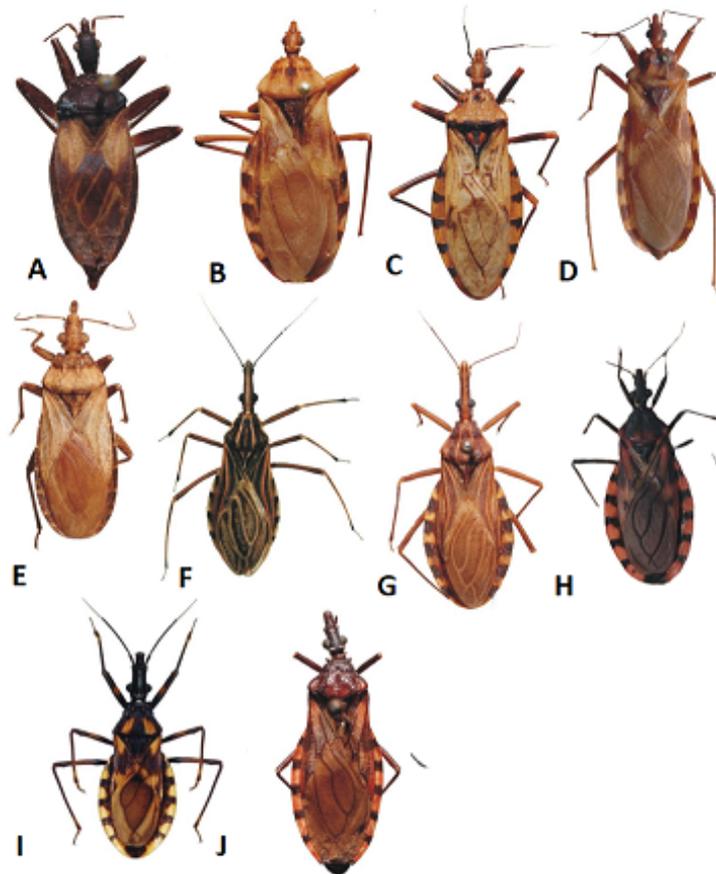


Fonte: infográfico: Nevício Ribeiro, ICICT/Fiocruz. Extraído de Dale *et al.*, 2019.

1.2. TRANSMISSÃO

A via de transmissão clássica é a forma vetorial, essa é dependente do vetor invertebrado hematófago: o triatomíneo, ou popularmente conhecido por “barbeiro” ou “bicudo” (Figura 5) (Rassi Jr, 2010). A transmissão pode, ainda, ocorrer pela ingestão da forma infectante do parasito (tripomastigota metacíclica) junto a alimentos, por via congênita, acidentes laboratoriais, doação de órgãos e transfusão sanguínea (Rassi *et al.*, 2010) sendo as duas últimas as mais comuns por disseminar a doença de Chagas nos Estados Unidos e Europa (Requena-Mendez *et al.*, 2015; Hoetz, 2018). Entre os anos 2000 e 2013, a transmissão oral acidental (alimentos contendo macerado do triatomíneo) representava maior porcentagem nos indivíduos infectados, de acordo com o boletim epidemiológico do Ministério da Saúde de 2015 (Santos, 2019).

Figura 5 - Diferentes espécies de triatomíneos encontrados no Brasil



Fonte: Representação das espécies mais recorrentes do estado de Minas Gerais, Brasil. A) *C. pilosa*; B) *P. diasi*; C) *P. geniculatus*; D) *P. lutzi*; E) *P. tertius*; F) *R. domesticus*; G) *R. neglectus*; H) *T. arthurneivai*; I) *T. melanica*; J) *T. wygodzinskyi*. Adaptação de Jurberg *et al.*, 2014, Atlas iconográfico dos triatomíneos do Brasil.

A mudança nos números e porcentagens dos tipos de transmissão do agente etiológico, mesmo após mais de 110 anos de descoberta da doença, se dá devido às ações contra o vetor no passado, às mudanças ambientais, da condição socioeconômica da população e da sua instalação urbana em ambientes previamente rurais (Prata, 2001; WHO, 2022; Dias & Matos, 2013), podendo também ser considerado as limitações dos diagnósticos nos países não endêmicos, possuindo assim sua subnotificação e também o fluxo migratório (Mendonça *et al.*, 2019).

1.3. QUADRO CLÍNICO

Após a infecção pelo protozoário são descritas duas fases para a doença, uma delas a fase aguda onde não se observam, com frequência, óbitos e sintomatologia intensa, embora possam ocorrer eventualmente pela presença de intenso parasitismo sanguíneo e tecidual (Laranja *et al.*, 1956; Higuchi *et al.*, 2003). Nesta fase a doença está associada a altos níveis de parasitemia e sintomas leves.

Após alguns meses, os indivíduos infectados passam para a fase crônica, na qual os parasitos não são mais detectáveis pela microscopia do sangue periférico (Santos *et al.*, 2012). Nesta fase crônica, é quando o sistema imune consegue controlar a replicação do parasito, proporcionando uma queda expressiva no parasitismo. A maioria dos indivíduos nesta fase encontram-se em uma forma clínica oligossintomática denominada indeterminada, no entanto, pode haver a evolução para quadros sintomáticos levando ao desenvolvimento das formas cardíaca ou digestiva (Prata, 2001).

Ainda não são totalmente elucidados os mecanismos que levam os pacientes a desenvolverem as formas sintomáticas da doença de Chagas embora alguns fatores pareçam estar relacionados como via e carga parasitária do inóculo, a gravidade na fase inicial da infecção, a resposta imune do hospedeiro e a variabilidade genética do parasito (Dvorak, 1984; Vago *et al.*, 1996).

1.4. BENZONIDAZOL

O benzonidazol (BNZ) é um medicamento produzido pelo Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco - LAFEPE, Recife, Brasil e Laboratorio ELEA, Buenos Aires, Argentina (Coura & Castro, 2002; Castro *et al.*, 2006). É um composto ativo com reconhecida atividade tripanocida (Souza *et al.*, 2017). Possui atividade satisfatória na fase aguda da doença de Chagas apresentando cura parasitológica em até 80% dos pacientes tratados (Cruz-Zetina, 2012). Sendo sua principal limitação, a sua menor atividade antiparasitária na fase crônica da doença (Santos, 2012). Embora descoberto há mais de 40 anos, ainda existem grandes preocupações relacionadas com a frequência de efeitos colaterais graves, incluindo dermatite alérgica, intolerância gastrointestinal, anorexia, perda de peso e distúrbios do sono (Viotti *et al.*, 2009; Rial *et al.*, 2017), baixa eficácia de cura e dependência da fase em questão para maior eficiência esses fármacos não representam uma estratégia terapêutica ideal (Coura & Castro, 2002; Castro *et al.*, 2006). Diante deste contexto, uma investigação da literatura sobre o tema pode nos levar a respostas de alguns questionamentos a respeito da terapêutica do benzonidazol.

2. JUSTIFICATIVA

Devido ao extenso uso do BNZ na tentativa de eliminar o parasito, refletem em seus distintos padrões biológicos e na resistência às tentativas para eliminar o parasito. Nota-se que existe uma divergência de resultados na literatura envolvendo estudos imunológicos, farmacológicos, moleculares e parasitológicos associados ao *T. cruzi* em modelo experimental. Mesmo ciente destas questões, tem-se buscado justificar dados obtidos em laboratório, através dos modelos experimentais principalmente, com a terapêutica do benznidazol, utilizada em seu processo de inflamação. Neste sentido, a presente revisão avalia a interferência do benznidazol na terapêutica da inflamação ocasionada pela doença de Chagas (ou pelo *T. cruzi*).

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GERAL

Identificar, na base de dados do PubMed, os principais achados relativos à interferência do benzonidazol na terapêutica e na inflamação ocasionada pela doença de Chagas.

3.2. OBJETIVO ESPECÍFICO

Para que o objetivo geral seja alcançado, temos os seguintes objetivos específicos:

1. Descrever sobre a interferência da terapêutica na inflamação;
2. Discutir sobre a influência da terapêutica na inflamação causada pela doença de Chagas.

4. METODOLOGIA

O projeto é um estudo de natureza bibliográfica, onde os artigos selecionados foram pesquisados na base de dados do site de busca Pubmed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>), realizando uma seleção de palavras-chave para a pesquisa. Essa escolha se baseou em nosso objetivo, na interferência no tratamento da inflamação na doença de Chagas, sendo assim, utilizou como palavras-chave: Benzonidazol, Inflamação e Doença de Chagas. A partir desse cruzamento foram encontrados 158 artigos, os quais selecionados e limitados por um período de 10 anos, entre janeiro de 2011 e março de 2021, encontrando 125 artigos; por idioma, apenas português e inglês; e exclusão de artigos de revisão. Assim, foi realizada a análise dos títulos e resumos dos artigos, para aqueles que tiveram informações relevantes sobre o tema do trabalho e puderam ser levados em consideração. Os artigos analisados foram apenas os que não tiveram associação do benzonidazol com outros medicamentos e que não se restringiam à temporalidade dos trabalhos nem no impacto das revistas científicas. Dessa maneira, foram selecionados 30 artigos com base nos títulos e nos resumos a fim de obter informações relevantes e que possam correlacionar os trabalhos selecionados sobre o tema da doença de Chagas junto ao processo inflamatório, para que assim a temática fosse orientada para descrever sobre a interferência da terapêutica escolhida, o benzonidazol, diante do processo de inflamação causada pelo *T. cruzi*.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. DOENÇA DE CHAGAS

5.1.1. Quadro Clínico

Após a infecção pelo protozoário, a doença de Chagas é caracterizada por duas fases, sendo a fase aguda e a fase crônica, que apresentam diferentes formas clínicas (Jesus *et al.*, 2021). A fase aguda, costuma ser assintomática, embora possam ocorrer, eventualmente, os sintomas leves devido aos altos níveis de parasitismo sanguíneo e tecidual, como um mal-estar, febre, linfadenopatia, esplenomegalia leve, miocardite e meningoencefalite. Tendo sua ocorrência prevalente na infância e com taxa de mortalidade de 5% - 10% (Laranja *et al.*, 1956; Higuchi *et al.*, 2003; Pérez-Molina, 2009).

Após 2 a 4 meses da infecção, os indivíduos passam para a fase crônica, na qual os parasitos não são mais detectáveis pela microscopia do sangue periférico (Santos *et al.*, 2012). Possui um período latente, conhecido como fase crônica indeterminada, sendo uma forma clínica oligossintomática com duração entre 10 e 30 anos, mas pode durar a vida toda. Nesta fase, quando o sistema imune consegue controlar a replicação do parasito, proporcionando uma queda expressiva no parasitismo, havendo a descontinuação da parasitemia, sendo possível a detecção dos anticorpos IgG através dos testes imunológicos (Pérez-Molina, 2009; Aguiar *et al.*, 2012). No entanto, aproximadamente 30 a 40% dos indivíduos presentes nesta fase, podem ter evolução para quadros sintomáticos, conhecido como fase crônica sintomática, apresentando manifestações clínicas, levando ao desenvolvimento das formas cardíaca ou digestiva, que podem levar à morte (Prata, 2001; Pérez-Molina, 2009; Cevey *et al.*, 2015; Jesus *et al.*, 2021).

5.1.1.1. Processo inflamatório

Os primeiros estudos sobre a resposta imune na doença de Chagas começaram pela resposta humoral, onde há a detecção de anticorpos reativos, que é importante para identificação das infecções. Esses anticorpos reativos a epitopos de galactose, que mediam a lise na formas tripomastigotas, foram encontrados no soro dos pacientes crônicos e denominados “anticorpos líticos” (AL), presente em níveis mais elevados, o que sugere um papel protetor. Outras classes de anticorpos foram

encontradas, capazes de estimular a proliferação dos linfócitos T e B nos pacientes chagásicos, principalmente na estimulação das células B CD5+, referente aos processos autoimunes, o que sugerem que os anticorpos têm influência na evolução da doença de Chagas, preferencialmente pelo fato da destruição tecidual dos portadores da doença na fase crônica, que está associado ao infiltrado inflamatório.

Os estudos da fase aguda referentes às respostas imunes, de Menezes (2017), sugeriram que possui uma “natureza independente de linfócitos T”, o que caracteriza na expansão da ativação do monócitos e das células B, relacionado a baixa resposta dos linfócitos, isso devido a baixa expressão do receptor para Interleucina 2 (IL-2). Já na fase crônica possui um aumento da resposta celular, como células T CD4 + e CD8 +, elevando a expressão de HLA-DR e baixando CD28. Essa elevação está associada à expressão de fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e Interleucina-10 (IL-10). Isso porque, durante a infecção, as citocinas como interferon gama (IFN- γ), fator de necrose tumoral alfa (TNF), fator de crescimento transformador β (TGF- β), interleucina-12 (IL-12), IL-4 , IL-10, IL-17 e IL-6 são liberados após ativação de macrófagos e linfócitos T, que desempenham um papel na progressão e na evolução da doença, havendo estudos que mostram alteração na expressão e atividade de transportadores. (Abrahamsohn, 2017; Jesus, et. al., 2021).

Tanto a IL-6 quanto a IL-10 induzem a ativação dos fatores de transcrição ativados por tirosinas quinases (STAT3), onde a IL-6 é pró-inflamatória e a IL-10 é anti-inflamatória. E a IL-10 junto ao *T. cruzi* promovem a fosforilação de STAT3 e regulam a expressão do supressor de sinalização de citocinas (SOCS3), já que essa sendo assim, impedem a translocação nuclear de NF- κ B e a fosforilação de ERK1/2 (Cevey, et. al., 2019).

O IFN- γ e o TNF- α são primordiais para ocorrer o controle do parasitismo, sendo potentes ativadores de macrófagos, de funções como a produção de radicais intermediários de oxigênio (ROI) e de nitrogênio (RNI). Sendo o IFN- γ a principal citocina responsável na fase aguda e por manter os níveis baixos na fase crônica (Abrahamsohn, 2017; Menezes *et. al.*, 2017; Jesus *et. al.*, 2021). Sendo assim, as interações podem influenciar a farmacocinética dos medicamentos, havendo a interação medicamentosa e inflamatória (Abrahamsohn, 2017; Jesus *et. al.*, 2021).

Acredita que o local da produção das citocinas IL-15 e IL-7 possa contribuir para a sobrevivência das células T CD8 + no tecido cardíaco. Além de sugerir a

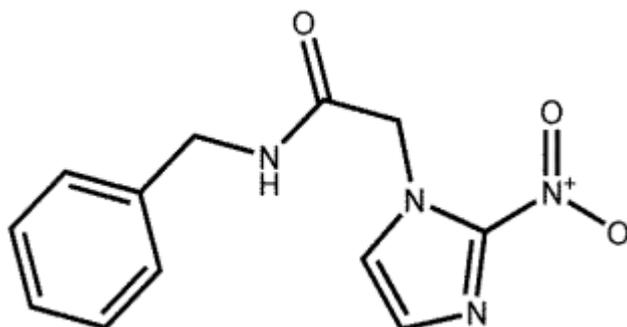
existência simultânea da reatividade celular anti e pró-inflamatória diante o estímulo antigênico do parasito e do hospedeiro (Abrahamsohn, 2017; Menezes *et. al.*, 2017).

Porém, os mecanismos que levam os pacientes a desenvolverem as diferentes formas da doença de Chagas não são totalmente elucidados, embora alguns fatores parecem estar relacionados com a via e a carga parasitária do inóculo, a gravidade durante sua fase inicial, a resposta imune do hospedeiro e a variabilidade genética do parasito (Dvorak, 1984; Vago *et. al.*, 1996). Havendo dois mecanismos que podem explicar o desenvolvimento da doença, são a hipótese da autoimunidade, que se aplica aos pacientes crônicos, devido a aparente ausência de parasitos nos tecidos, onde sugere uma resposta inflamatória nos tecidos do hospedeiro; E estudos recentes reforçam a hipótese de persistência do parasito, onde há presença do mesmo nos tecidos danificados dos pacientes crônicos cardíacos e digestivos (Aguilar *et. al.*, 2012).

5.2. BENZONIDAZOL (BNZ)

O benzonidazol (BNZ) é um composto químico de 2-nitroimidazol, com fórmula química 2-Nitro-N-(fenilmetil)-1H-imidazol-1-acetamida (Figura 6), sendo um pó cristalino e levemente amarelado, com significativa atividade tripanocida (Souza *et al.*, 2017; FB 6ª Ed, 2019). Possui atividade significativa na fase aguda da doença de Chagas e apresenta cura parasitológica de até 80% nos pacientes tratados (Cruz-Zetina, 2012). Sendo sua principal limitação, a sua menor atividade antiparasitária na fase crônica da doença (Santos, 2012). Autores afirmam um uso duvidoso do fármaco na fase crônica da doença de Chagas, mesmo alguns estudos demonstrando vantagem clínica (Pérez-Molina *et al.*, 2009).

Figura 6 - Estrutura do benzonidazol



Fonte: Autoria própria através do chemdraw.

Os primeiros registros de ensaios publicados com este fármaco foram por Richle no ano de 1973, que avaliou a atividade antichagásica do BNZ em camundongos infectados pelo *T. cruzi* e *in vitro*, obtendo resultados expressivos com relação à supressão da parasitemia. A partir de então, alguns pesquisadores avaliaram a eficácia do fármaco em modelos animais experimentais, clinicamente na fase aguda e crônica e associado a outros fármacos (Boainaim, Rassi, 1979; Ianni, Mady, 1998; Coura, 2009; Dias *et al.*, 2009).

Embora descoberto há mais de 40 anos, ainda existem grandes preocupações relacionadas com a frequência de efeitos colaterais graves, incluindo dermatite alérgica, intolerância gastrointestinal, anorexia, perda de peso, distúrbios do sono, baixa eficácia de cura e dependência da fase em questão para maior eficiência esse fármaco não representa uma estratégia terapêutica ideal (Coura & Castro, 2002; Castro *et al.*, 2006; Viotti *et al.*, 2009; Rial *et al.*, 2017). Autores descreveram diferentes tratamentos com o BNZ com redução parasitária e diminuição dos efeitos colaterais, porém sem diminuir as lesões. Por isso, é necessário ainda encontrar doses mais baixas com eficácia para uma melhor resposta clínica ao paciente (Rial, *et al.*, 2017; Caldas *et al.*, 2019).

5.2.1. Tratamento e posologia

O BNZ é o fármaco de primeira escolha e é o único disponível mundialmente para o tratamento da fase aguda da doença de Chagas, sendo recomendado em todos os casos de infecção da doença de Chagas. No mercado foi iniciado através da empresa Roche, com nome comercial de Rochagan®. Mas desde 2003 a patente foi cedida para o Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco (LAFEPE), sendo exclusivo a produção e distribuição (Coura, 2009). No Brasil, há comercialização de duas formulações em comprimidos de liberação imediata: uso adulto de 100 mg e de uso pediátrico de 12,5 mg (Bula Benzonidazol). O tratamento de adultos e crianças requer duas administrações ao dia (12 horas de intervalo entre as doses), durante 30 ou 60 dias, de acordo com o peso corporal do paciente. No adulto entre 5 a 7 mg/Kg do peso corporal; e na criança menor de 12 anos entre 5 a 10 mg/Kg do peso corporal (Tabela 1) (Bula Benzonidazol; Soares Sobrinho *et al.*, 2007; Medeiros, 2010).

O longo período de tratamento, contribui com a série de efeitos adversos causados e assim, contribui com o abandono da terapia. Além disso, a resistência

de algumas cepas ao fármaco e a baixa eficácia na fase crônica tornam ainda mais difícil o tratamento desta parasitemia (Castro *et al.*, 2006; Dias *et al.*, 2009).

Tabela 1 - Resumo de categorias de dose por peso ponderal para comprimidos de benzonidazol

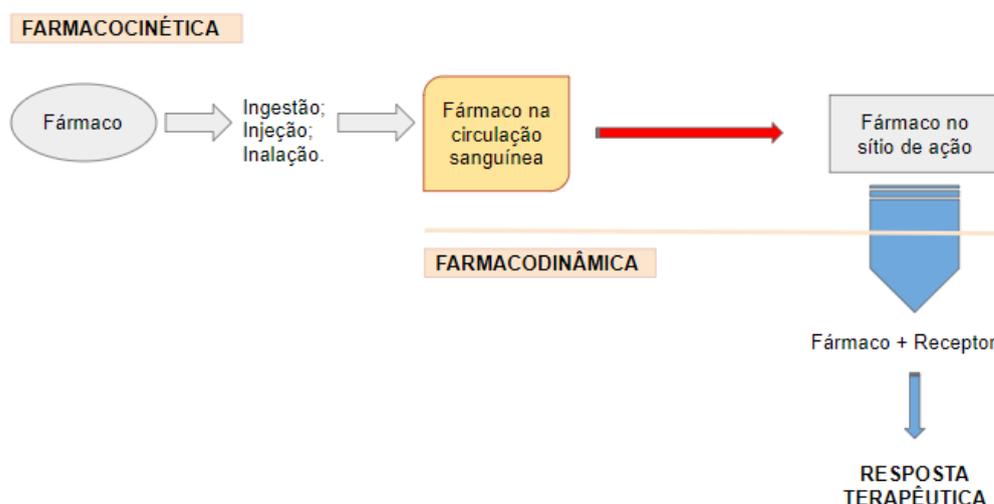
Peso em Kg	Dose recomendada (5 a 10 mg/Kg)
2,5 até 5 Kg	1 comprimido de 12,5 mg em duas doses diárias por 60 dias
acima de 5Kg até 10 Kg	2 comprimidos de 12,5 (25 mg) em duas doses diárias por 60 dias (dose total diária de 50 mg)
acima de 10 Kg até 15Kg	3 comprimidas de 12,5 (35,7 mg) em duas doses diárias por 60 dias (dose total diária de 75 mg)

Fonte: Bula do Benzonidazol - modelo de bula para profissionais da saúde.

5.2.2. Farmacocinética

Embora descoberto há mais de 40 anos, a farmacocinética ainda é restrita na literatura científica. E segundo Raaflaub e Ziegler (1979), com estudo em 6 voluntários, a farmacocinética se dá através da absorção pelo trato gastrointestinal de forma rápida e praticamente total, com níveis plasmáticos alcançados entre 2 a 4 horas de 2,2 a 2,8 µg/mL e sua meia-vida de eliminação ($t_{1/2\beta}$) sendo de 12 horas, variando entre 10,5 e 13,6 horas (Figura 7). O fármaco se encontra de forma inalterada, mas rapidamente eliminado pela urina e fezes (Bula Benzonidazol).

Figura 7 - Relação entre Farmacocinética e Farmacodinâmica.



Fonte: Adaptação de Davanço, 2015.

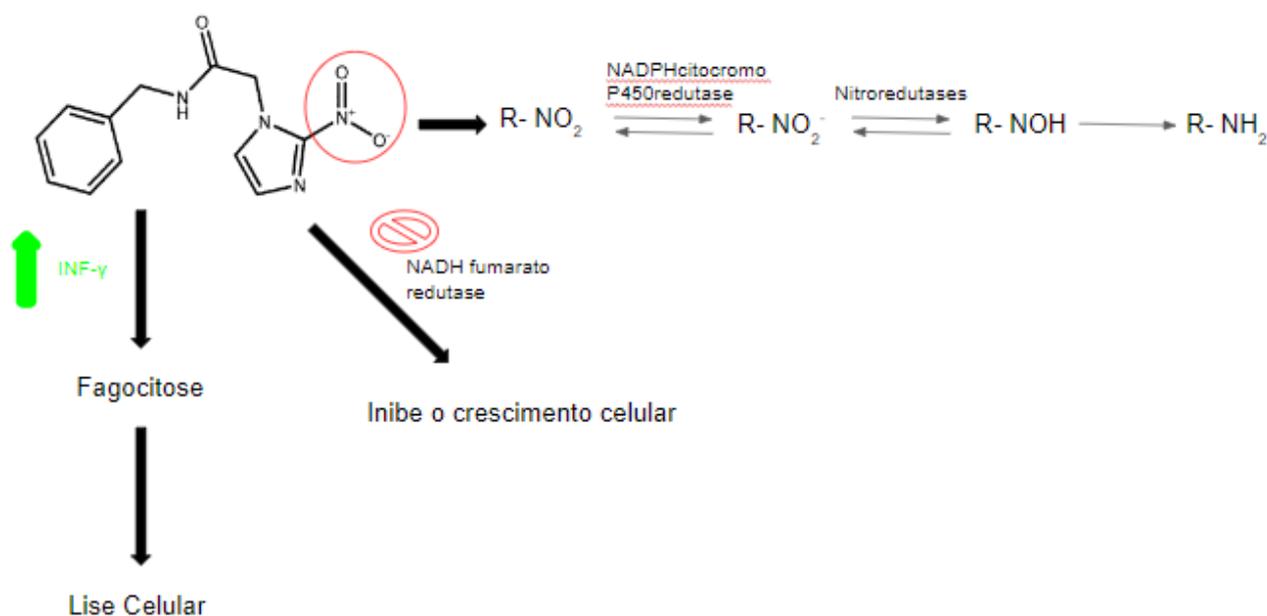
5.2.3. Mecanismo de ação

Seu mecanismo de ação não é bastante claro. Evidências recentes indicam que o mecanismo de ação age por meio de radicais livres nitrogenados por nitro-redutases, envolvendo modificações covalentes das macromoléculas ou outras interações de intermediários de nitro-redução. E esses radicais podem danificar o DNA do parasito, gerando bases oxidadas e quebras de fitas de DNA, além de oxidar células e exercer efeito inibitório na síntese de proteínas e do RNA nas células do parasito. (Bula Benzonidazol; Coura, 2000; Rajão, 2014). Na presença de oxigênio os radicais são convertidos em radicais livres e devido a falta de atividade desintoxicante do parasito, o torna sensível. (Pérez Molina, 2009).

Segundo Rajão e seus colaboradores (2014), o BNZ atua através do seu grupo nitro (NO_2), que é reduzido ao grupo amino (NH_2) pelas enzimas nitro-redutases que atuam nesse sistema NO_2 , formando então, os radicais livres e metabólitos eletrofílicos, sem formar espécies reativas do oxigênio. Após essa formação, a reação é catalisada pela NADPH P450 redutase (citocromo) formando um intermediário radicalar (R-NO_2^-) para então formar a hidroxilamina (R-NHOH). (Figura 8). Acredita-se que esse radical nitro formado estaria atuando no efeito tripanocida através da ligação covalente com o parasito pelo DNA (Castro & Diaz de Toranzo, 1988; Urbina, 2002).

Outros mecanismos de ação do fármaco citados, seria pelo aumento da fagocitose que atua na elevação da produção de $\text{IFN-}\gamma$, que causa a lise celular. E havendo evidência de que o fármaco atue na inibição enzimática NADH-fumarase redutase, que bloqueia o crescimento do parasito (Figura 8) (Rajão, 2014; Romanha, 2002).

Figura 8 - Esquema dos mecanismos de ação do Benznidazol



Fonte: Adaptação de Davanço, 2015.

5.2.4. Formulações do BNZ

Como já citado nesta presente revisão, o tratamento com BNZ requer algumas administrações ao longo do dia durante 60 dias. Com isso, esse longo período do tratamento associada a constante administração no dia trazem consigo uma elevada taxa de abandono da terapêutica e a presença dos eventos adversos contribuem ainda mais para tal interrupção. Havendo crescentes casos de infecção da doença de Chagas em crianças, a divisão de comprimidos se tornou uma prática comum com a ideia de ajustar essas doses administradas para as crianças, o que leva a fragmentos de comprimidos desiguais, um regime de dosagem incerto e também contribui com a diminuição da adesão do paciente e modificação do desempenho do fármaco. A junção destes fatores mais à resistência de algumas cepas e a baixa eficácia na fase crônica, tornam o tratamento ainda mais difícil (Castro *et al.*, 2006; Dias *et al.*, 2009; Souza *et al.*, 2017).

Frente a esse cenário, alguns pesquisadores caracterizaram e desenvolveram novas formulações do BNZ a fim de possibilitar melhorias no tratamento da Doença de Chagas. Para tal desenvolvimento, é de extrema importância o conhecimento das propriedades físico-químicas do fármaco, pois traz o planejamento racional de uma

nova forma farmacêutica. Assim, deve-se iniciar com a caracterização do princípio ativo a fim de otimizar os parâmetros de qualidade da forma farmacêutica final.

Segundo Maximiano e seus colaboradores (2010), o BNZ é um fármaco pouco hidrossolúvel e classificado como classe 4 no Sistema de Classificação Biofarmacêutica, o que sugere uma absorção limitada ou variável. Havendo um interesse considerável no desenvolvimento de estratégias para melhorar a taxa de dissolução e aumentar a disponibilidade como Souza e seus colaboradores (2017) propuseram em seu estudo, uma vez que essa baixa solubilidade em água, limita a produção das soluções orais e com isso restringe os co-solventes e surfactantes, que precisam ser adicionados nas formulações.

As soluções de BNZ eram desenvolvidas por co-solvência com um líquido capaz de dissolver o composto. Essa formulação à base de polietilenoglicol 400 (PEG 400), mais adição de etanol e de tampão biftalato de potássio, aumentou a solubilidade do BNZ em até 10 mg/mL. Segundo Souza *et al.* (2017), esses resultados foram promissores e possibilitaram desenvolver solução não etílica no pH neutro, devido ao uso pediátrico.

Com isso, as técnicas de dispersões sólidas (SD) são as mais utilizadas a fim de melhorar a biodisponibilidade de fármacos, o que aumenta a solubilidade e a dissolução. Essa técnica consiste em homogeneizar o fármaco disperso em matriz biologicamente inerte, podendo se utilizar diferentes tipos de carreadores para a preparação de SD, como o polietilenoglicol, que é um dos mais utilizados (Rowe *et al.*, 2003).

5.2.4.1. Desenvolvimento de outras formas farmacêuticas

Um estudo de pré-formulação utilizando propilenoglicol, polietilenoglicol, etanol, álcool benzílico, éter dietilenoglicol monoetílico e tensoativos como o polissorbato 40 e 80 e dioctilsulfosuccinato de sódio como agente solubilizante para o BNZ, foi desenvolvido por Souza e seus colaboradores (2017) a fim de aumentar a solubilidade do fármaco de 0,23 até 10 mg/mL e não tiveram resultados de toxicidade contra o parasito ou as células *in vitro* quando testado a 1%. Essa análise foi realizada utilizando a metodologia de superfície de resposta (RSM) e o modelo previu que a solubilidade aumentaria na presença da PEG 400 (100%) e PEG400/PPG (50%/50%). Isso porque o BNZ, como já citado, é um composto apolar necessitando de solventes menos polares.

Como discutido no tópico anterior deste projeto, uma abordagem de qualidade deve ter o conhecimento das propriedades físico-químicas e um design de delineamento para poder desenvolver uma formulação final a fim de otimizar e controlar sua produção com qualidade. Sendo a polaridade do soluto e solvente um fator chave na determinação, pois o fato hidrofóbico do BNZ pode ocorrer a formação de agregados ou precipitados do fármaco. Isso leva aos altos valores de coeficientes de partição ($\log P$) indicarem uma melhor solubilidade em solventes polares para BNZ como mostra Souza e seus colaboradores (2017) em seus relatos, onde utilizaram softwares, conseguindo uma previsão para soluções de BNZ com quantidades dos solventes sugeridas por modelos e avaliadas quanto à solubilidade do fármaco. Sendo o valor ótimo encontrado de 18,38 mg/mL correspondendo aos seguintes valores dos fatores de influência: PEG 400: 0,85, PPG: 0,15 e W: 0,00.

Visando o grande número de crianças infectadas pelo *T. cruzi* e a falta de formas farmacêuticas que atendem essa demanda, Souza e seus colaboradores (2017) propuseram a criação de uma forma farmacêutica líquida, obtendo através de um sistema cossolvente otimizado sendo preparada com PEG 400 e PPG como os agentes solubilizantes; sal sódico de metilparabeno como conservante e o sabor cereja, que foi o mais agradável e mascarou o amargor do BNZ, segundo este estudo citado. Como resultados, conseguiram uma solubilidade de 18,38 mg/mL, o que representa 80 vezes do valor inicial e uma formulação estável a 4 ± 2 °C, 25 ± 2 °C e 45 ± 2 °C, com teor de fármaco adequado e sem variabilidade significativa. Além disso, a formulação reduziu tanto a parasitemia quanto a mortalidade. Assim, essa abordagem deve ser considerada para avaliação e disponibilidade.

Também foi possível permitir desenvolver através de técnicas de caracterização, com objetivo de diminuir a cristalinidade do BNZ em suas SD, segundo Palmeiro-Roldán e colaboradores (2014). Foram preparadas por métodos de evaporação de solvente através de liofilização com dois carreadores: Hidroxipropilcelulose de baixa substituição (L-HPC) e desoxicolato de sódio (NaDC). Sendo utilizados as técnicas de Microscopia eletrônica de varredura (SEM); Difração de pó de raios X (XRPD) e de Calorimetria exploratória diferencial (DSC). Como resultados obtiveram a SD de BNZ:L-HPC na proporção de 1:3 (p/p → SD-1:3L-HPC) melhorando a taxa de dissolução do BNZ em 85% no tempo de 5 minutos, em comparação com a matéria-prima BNZ, de 23% em 5 minutos. Mas, as formulações de NaDC mostraram uma liberação prolongada, de 24% em 30 min,

isso devido ao processo de agregação de ácido desoxicólico. Estudos *in vivo* realizados em um modelo murino da doença de Chagas mostraram que a formulação que atingiu a maior supressão de parasitemia em uma dose baixa de 25mg/kg/dia após cinco dias de tratamento foi SD-1:3 L-HPC, de 60% de supressão de parasitemia versus 33% de supressão exercida pelo BNZ, sugerindo que os sistemas BNZ:L-HPC aumentam a biodisponibilidade do fármaco.

A fim de diminuir os efeitos adversos causados pela terapêutica hoje utilizada, Cevey e colaboradores (2016), realizaram um estudo onde propuseram uma dose mínima efetiva. Eles avaliaram 500 camundongos a partir do 5º dia de infecção e separados por diferentes grupo foram tratados com BNZ em concentrações desde a dose baixa até uma dose alta, sendo elas: 10mg/Kg/dia como a dosagem menor, 25 mg/Kg/dia uma dosagem média e 100 mg/Kg/dia, sendo essa considerada a dosagem alta pelo estudo e a usual nos dias atuais. Assim, tiveram resultados eficazes em sua ação comparando a dosagem menor com a dosagem usual perante a ação tripanocida no 7º dia de infecção, mas no 13º dia a dosagem baixa não apresentou efeito ao ser comparado. Em ambas as dosagens possuíram taxa de sobrevivência semelhante, podendo ser observada a redução na taxa parasitária tecidual na análise histopatológica, além do não aparecimento de células inflamatórias e nem ninhos de amastigotas.

As baixas doses de BNZ também foram estudadas por Rial e colaboradores em 2017, a fim de demonstrar a importância do uso de nanoformulações para tal tratamento. As dosagens utilizadas foram 10, 25 e 50 mg/Kg/dia de BNZ e obtiveram resultados semelhantes aos de Cevey *et al.* (2016), com dano inflamatório em níveis mais baixos e semelhante as dosagens de 25 e 50 mg/Kg/dia.

Com isso, os resultados apresentados com as dosagens de 25mg/Kg/dia em ambos os estudos trouxeram resultados positivos a fim de incentivar mais estudos nessa área para que haja uma dosagem minimamente efetiva e com segurança esperada.

5.2.5. Benzonidazol na inflamação

O objetivo da terapêutica do BNZ é a redução dos níveis inflamatórios no paciente, tendo a capacidade de inibir a via NF - κ B, que é o fator nuclear kappa B, um complexo proteico que desempenha funções de transcrição. A eliminação da carga parasitária tecidual também atenua a reação inflamatória e, segundo Cevey

(2016), normaliza a atividade da creatina quinase e leva também a ativação de STAT3 e regulação positiva de SOCS3 (Cevey *et al.*, 2019).

Cevey e colaboradores (2016), já propuseram diferentes pesquisas a fim de estudar o BNZ, suas dosagens e também sua ação inflamatória. Como já citado no tópico anterior, o estudo com uma dosagem menor para tal ser efetiva, também pode contribuir para uma imunomodulação na fase crônica e uma ampla mudança da resposta imune nos pacientes na fase cardíaca, onde macrófagos são estimulados com os lipopolissacarídeos (LPS), sendo tratados com alta concentração. Alguns relatos citados nesses estudos demonstraram o efeito inibitório do BNZ na produção de óxido nítrico (NO), que depende o óxido nítrico sintetase-2 (NOS2) pelos macrófagos e assim, determinaram a expressão desses marcadores inflamatórios e das citocinas, como IL-6, IL-10 e TNF- α . Sendo utilizada uma concentração de 15 μ M de BNZ e estimulado com 10 mg/L de LPS foi observada essa produção dependente de NO e os níveis baixos de IL-6 e IL-10, possível nas culturas com imunofluorescência, através da inibição por via NF - κ B após o estímulo inflamatório, assim tendo o seu inibidor, I κ B α , diminuído. Sendo restaurado com a estimulação de LPS.

Em 2019, Cevey e colaboradores, estudaram os mecanismos envolvidos nas propriedades anti-inflamatórias do BNZ através da via IL-10/STAT3/SOCS3, onde utilizaram método *in vivo* em modelo de cultura estimulando com LPS, que aumentando tanto a expressão de SOCS3 quanto a fosforilação de STAT3. Para este estudo, realizou a dissociação dos efeitos antiparasitários e anti-inflamatórios do BNZ. Assim, realizaram um silenciamento de SOCS3, o que demonstrou a inibição do fármaco na expressão de TNF- α , IL-6 e liberação de NO, mas não pode impedir a fosforilação de IKK nem a degradação de I κ B α , o que questionou a dependência de IL-10 para tal degradação, sendo comprovada quando houve adição exógena de IL-10 que restaurou os efeitos e o aumento de SOCS3 estimulado por LPS depende da via IL-6 de ativação de STAT3. Assim vemos que IL-6 induz a resposta pró-inflamatória e a IL-10 a resposta anti-inflamatória, que junto ao *T. cruzi* promovem a fosforilação de STAT3 e regulam a expressão SOCS3, já que essa impede a translocação nuclear de NF- κ B e a fosforilação de ERK/MAPK. Além disso, foi possível ver a importância da IL-10 na modulação da resposta, que vem sendo amplamente descrita na resposta inflamatória como mediador do mecanismo anti-inflamatório do BNZ.

6. CONCLUSÃO

O tratamento com BNZ além de reduzir a carga parasitária no paciente chagásico pelo dano causado no DNA do parasito, também possui ação no sistema imune por intermédio da resposta inflamatória com grande relevância de IL-6 e IL-10. Sendo assim, observamos que essas interações podem influenciar a farmacocinética do medicamento.

Adicionalmente, o tratamento usual descrito, leva a efeitos colaterais graves, culminando em elevada taxa de abandono da terapêutica. Neste sentido, estudos com formulações e dosagens menores têm apresentado resultados positivos, o que se faz necessário para que possamos incentivar mais estudos nesse cenário, a fim de requerer uma nova posologia.

7. REFERÊNCIAS

ABRAHAMSOHN, Ises de Almeida *et al.* **Citocinas**: citocinas na doença de chagas: uma perspectiva pessoal sobre três décadas de pesquisa. Citocinas na doença de Chagas: uma perspectiva pessoal sobre três décadas de pesquisa. Disponível em: <http://chagas.fiocruz.br/doenca/resposta-imune/#>. Acesso em: 09 abr. 2022;

AGUIAR, Camila *et al.* Serological profiles and evaluation of parasitaemia by PCR and blood culture in individuals chronically infected by *Trypanosoma cruzi* treated with benznidazole. **Tropical Medicine & International Health**, Campinas - Sp, v. 17, n. 3, p. 368-373, dez. 2011. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3156.2011.02936.x><http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-3156.2011.02936.x>;

ALVARENGA, Nelson J.; BRONFEN, Elisabeth. Metaciclologênese do *Trypanosoma cruzi* como parâmetro de interação do parasita com o triatomíneo vetor. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [S.L.], v. 30, n. 3, p. 247-250, jun. 1997. [Http://dx.doi.org/10.1590/s0037-86821997000300012](http://dx.doi.org/10.1590/s0037-86821997000300012);

BRASIL. Farmacopéia Brasileira 6ª Edição - Volume II - Monografias. Insumos Farmacêuticos e Especialidades. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA)**. Brasília, 2019. Atualizado em janeiro de 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/farmacopeia/farmacopeia-brasileira/insumos-farmacuticos-e-especialidades.pdf/view>;

BULA BENZNIDAZOL - Modelo de bula para profissionais da saúde. **Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco S/A - LAFEPE. Indústria Brasileira.** Farmacêutico Responsável: Leduar Guedes de Lima;

CALDAS, Ivo Santana *et al.* Parasitaemia and parasitic load are limited targets of the aetiological treatment to control the progression of cardiac fibrosis and chronic cardiomyopathy in *Trypanosoma cruzi*-infected dogs. **Acta Tropica**, [S.L.], v. 189, p. 30-38, jan. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2018.09.015>;

CAMPI-AZEVEDO, A.C. *et al.* Etiological treatment of Chagas disease patients with benznidazole lead to a sustained pro-inflammatory profile counterbalanced by modulatory events. **Immunobiology**, [S.L.], v. 220, n. 5, p. 564-574, maio 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.imbio.2014.12.006>;

CARVALHO, Técia Ulisses de *et al.* **Organização Estrutural**: microscopia óptica. Estudo microscopia óptica. **Fiocruz**. 2017. Disponível em: <http://chagas.fiocruz.br/parasita/organizacao-estrutural/>. Acesso em: 29 maio 2022;

CASTRO, José A. *et al.* Toxic Side Effects of Drugs Used to Treat Chagas' Disease (American Trypanosomiasis). **Human & Experimental Toxicology**, [S.L.], v. 25, n. 8, p. 471-479, ago. 2006. SAGE Publications. <http://dx.doi.org/10.1191/0960327106het653oa>;

CEVEY, Ágata. C. *et al.* IL-10/STAT3/SOCS3 Axis Is Involved in the Anti-inflammatory Effect of Benznidazole. **Frontiers in immunology**, 10, 1267. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01267>;

CEVEY, Ágata. C. *et al.* Low-dose benznidazole treatment results in parasite clearance and attenuates heart inflammatory reaction in an experimental model of infection with a highly virulent Trypanosoma cruzi strain. **International Journal For Parasitology: Drugs and Drug Resistance**, Argentina, v. 6, n. 1, p. 12-22, dez. 2015. <https://doi.org/10.1016/j.ijpddr.2015.12.001>;

CHAGAS, Carlos *et al.* Nova tripanozomíaze humana: estudos sobre a morfologia e o ciclo evolutivo do schizotrypanum cruzi n. gen., n. sp., agente etiológico de nova entidade morbida do homem. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, [S.L.], v. 1, n. 2, p. 159-218, ago. 1909. <http://dx.doi.org/10.1590/s0074-02761909000200008>;

COURA, José Rodrigues *et al.* Present situation and new strategies for Chagas disease chemotherapy: a proposal. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, [S.L.], v. 104, n. 4, p. 549-554, jul. 2009. [Http://dx.doi.org/10.1590/s0074-02762009000400002](http://dx.doi.org/10.1590/s0074-02762009000400002);

CRUZ-ZETINA, Guillermo *et al.* Decreased Intensity of Inflammation in Benznidazole-Treated Mice Inoculated with *Trypanosoma cruzi* Stocks from Mexico and Persistence of Circulating Parasites. **The American Journal Of Tropical Medicine And Hygiene**, [S.L.], v. 87, n. 4, p. 671-674, 3 out. 2012. American Society of Tropical Medicine and Hygiene. <http://dx.doi.org/10.4269/ajtmh.2012.11-0519>;

DALE, Carolina *et al.* **O complexo *Triatoma brasiliensis***: atualizações sobre o principal vetor da doença de chagas no nordeste do Brasil. Atualizações sobre o principal vetor da Doença de Chagas no nordeste do Brasil. 2019. Disponível em: http://www.fiocruz.br/ioc/media/Cartilha_Triatoma_brasiliensis_2019.pdf. Acesso em: 29 maio 2022;

DIAS, Joao Carlos Pinto *et al.* Seventy years of the Chagas disease Bambui Project: celebration and perspectives. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [S.L.], v. 46, n. 5, p. 533-535, set. 2013. <http://dx.doi.org/10.1590/0037-8682-0175-2013>;

DIAS, Luiz C. *et al.* Quimioterapia da doença de Chagas: estado da arte e perspectivas no desenvolvimento de novos fármacos. **Química Nova**, [S.L.], v. 32, n. 9, p. 2444-2457, set. 2009. <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422009000900038>;

DVORAK, James A. *et al.* The natural heterogeneity of *trypanosoma cruzi*: biological and medical implications. **Journal Of Cellular Biochemistry**, [S.L.], v. 24, n. 4, p. 357-371, 1984. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/jcb.240240406>;

FRANCISCO, Amanda Fortes *et al.* Assessing the Effectiveness of Curative Benznidazole Treatment in Preventing Chronic Cardiac Pathology in Experimental Models of Chagas Disease. **Antimicrobial Agents And Chemotherapy**, [S.L.], v. 62, n. 10, out. 2018. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/aac.00832-18>;

GONZÁLEZ, Mariela Natacha *et al.* Granulocyte colony-stimulating factor partially repairs the damage provoked by *Trypanosoma cruzi* in murine myocardium. **International Journal Of Cardiology**, [S.L.], v. 168, n. 3, p. 2567-2574, out. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijcard.2013.03.049>;

GRUENDLING, Ana Paula *et al.* Impact of Benznidazole on Infection Course in Mice Experimentally Infected with *Trypanosoma cruzi* I, II, and IV. **The American Journal Of Tropical Medicine And Hygiene**, [S.L.], v. 92, n. 6, p. 1178-1189, 3 jun. 2015. American Society of Tropical Medicine and Hygiene. <http://dx.doi.org/10.4269/ajtmh.13-0690>;

HOTEZ, Peter. **Doença de Chagas**: Os novos números. Disponível em: <https://speakingofmedicine.plos.org/2015/03/03/chagas-disease-new-numbers/>. Acesso em: 25 maio 2022;

IANNI, Barbara Maria *et al.* Terapêutica da forma crônica da doença de chagas. É eficaz o tratamento etiológico? **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, [S.L.], v. 70, n. 1, p. 59-61, jan. 1998. <http://dx.doi.org/10.1590/s0066-782x1998000100012>;

JANSEN, Ana Maria *et al.* A Ecologia e a Complexidade dos Ciclos de Transmissão do *Trypanosoma cruzi* na Natureza. In: ARAÏJO-JORGE, Tania C. de *et al.* **Doença de Chagas**: manual para experimentação animal. 20. ed. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2000. Cap. 3. p. 33-38. Disponível em: <https://static.scielo.org/scielobooks/cdbjg/pdf/araujo-9788575413937.pdf>. Acesso em: 23 mar. 2022;

JESUS, Suzana Marques de *et al.* Pharmacokinetics of Benznidazole in Experimental Chronic Chagas Disease Using the Swiss Mouse–Berenice-78 *Trypanosoma cruzi* Strain Model. **Antimicrobial Agents And Chemotherapy**, [S.L.], v. 65, n. 2, jan. 2021. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/aac.01383-20>;

JURBERG, José *et al.* **Atlas iconográficos dos triatomíneos do Brasil**: vetores da doença de chagas.. Vetores da doença de Chagas.. 2014. Disponível em: http://www.fiocruz.br/ioc/media/Atlas_triatomico_jurberg.pdf. Acesso em: 29 maio 2022;

LAMBERTUCCI, Flavia *et al.* Benznidazole, the trypanocidal drug used for Chagas disease, induces hepatic NRF2 activation and attenuates the inflammatory response in a murine model of sepsis. **Toxicology And Applied Pharmacology**, [S.L.], v. 315, p. 12-22, jan. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.taap.2016.11.015>;

MAXIMIANO, Flávia Pires *et al.* Caracterização físico-química do fármaco antichagásico benznidazol. **Química Nova**, [S.L.], v. 33, n. 8, p. 1714-1719, 2010. <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422010000800018>;

MEDEIROS, Flavia Patricia Morais de *et al.* **Potenciais formulações com o benznidazol para tratamento de crianças com a doença de Chagas**. 2010. 191 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências Farmacêuticas, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2010;

MENDONÇA, Andréa A. S. *et al.* Concomitant exercise training attenuates the cardioprotective effects of pharmacological therapy in a murine model of acute infectious myocarditis. **Life Sciences**, [S.L.], v. 230, p. 141-149, ago. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lfs.2019.05.059>;

MENEZES, Cristiane A. S. *et al.* **Resposta Imune**: a resposta imunológica dos portadores da doença de chagas. A resposta imunológica dos portadores da doença de Chagas. 2017. Disponível em: <http://chagas.fiocruz.br/doenca/resposta-imune/>. Acesso em: 09 abr. 2022;

MURCIA, Laura *et al.* Treatment of Infected Women of Childbearing Age Prevents Congenital Trypanosoma cruzi Infection by Eliminating the Parasitemia Detected by PCR. **The Journal Of Infectious Diseases**, [S.L.], v. 215, n. 9, p. 1452-1458, 14 fev. 2017. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/infdis/jix087>;

OLIVEIRA-SILVA, Jaquelline Carla Valamiel de *et al.* Experimental benznidazole treatment of Trypanosoma cruzi II strains isolated from children of the Jequitinhonha Valley, Minas Gerais, Brazil, with Chagas disease. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, [S.L.], v. 110, n. 1, p. 86-94, fev. 2015. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/0074-02760140260>;

PALMEIRO-ROLDÁN, R., *et al.*, Desenvolvimento de novas formulações de benznidazol: caracterização físico química e avaliação in vivo na redução da parasitemia na doença de Chagas, **Int J Pharmaceut** (2014), <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2014.06.015>;

PEREZ-MOLINA, José A. *et al.* Use of benznidazole to treat chronic Chagas' disease: a systematic review with a meta-analysis. **Journal Of Antimicrobial Chemotherapy**, [S.L.], v. 64, n. 6, p. 1139-1147, 9 out. 2009. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/jac/dkp357>;

PÉREZ-MOLINA, José A *et al.* Chagas disease. **The Lancet**, [S.L.], v. 391, n. 10115, p. 82-94, jan. 2018. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736\(17\)31612-4](http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736(17)31612-4);

PRATA, Aluizio *et al.* Clinical and epidemiological aspects of Chagas disease. **The Lancet Infectious Diseases**, [S.L.], v. 1, n. 2, p. 92-100, set. 2001. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099\(01\)00065-2](http://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099(01)00065-2);

RAAFLAUB, J.; & ZIEGLER, W. H. Single-dose pharmacokinetics of the trypanosomide benznidazole in man. **Arzneimittelforschung**, v. 29, p. 1611-1614, out. 1979;

RAJÃO, Matheus Andrade *et al.* Unveiling Benznidazole's mechanism of action through overexpression of DNA repair proteins in *Trypanosoma cruzi*. **Environmental And Molecular Mutagenesis**, [S.L.], v. 55, n. 4, p. 309-321, 18 dez. 2013. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/em.21839>;

RASSI, Anis. Tratamento etiológico da doença de Chagas. **Arq. Brasileira de Cardiologia**, [s. l.], v. 38, n. 4, p. 277-281, 1982;

RIAL, M S *et al.* Efficacy of continuous versus intermittent administration of nanoformulated benznidazole during the chronic phase of *Trypanosoma cruzi* Nicaragua infection in mice. **Journal Of Antimicrobial Chemotherapy**, [S.L.], v. 75, n. 7, p. 1906-1916, 10 abr. 2020. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/jac/dkaa101>;

RIAL, Marcela S. *et al.* Elucidating the impact of low doses of nano-formulated benznidazole in acute experimental Chagas disease. **Plos Neglected Tropical Diseases**, [S.L.], v. 11, n. 12, dez. 2017. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0006119>;

RIAL, Marcela S. *et al.* In vitro studies and preclinical evaluation of benznidazole microparticles in the acute *Trypanosoma cruzi* murine model. **Parasitology**, [S.L.], v. 148, n. 5, p. 566-575, 10 dez. 2020. Cambridge University Press (CUP). <http://dx.doi.org/10.1017/s0031182020002310>;

ROMANHA, Alvaro J. *et al.* Experimental Chemotherapy against *Trypanosoma cruzi* infection: essential role of endogenous interferon γ in mediating parasitologic cure. **The Journal Of Infectious Diseases**, [S.L.], v. 186, n. 6, p. 823-828, 15 set. 2002. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1086/342415>;

ROWE, R. C. *et al.* Handbook of pharmaceutical excipients. London: **Pharmaceutical Press**, 2003;

SANTOS, Breno Luiz P. **From the parasite to the host pathogenesis**: the historical and biological aspects beyond the *trypanosoma cruzi* infection. 2019. 67 f. TCC (Graduação) - Curso de Ciências Biológicas, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2019;

SANTOS, F. M. *et al.* Cardiomyopathy prognosis after benznidazole treatment in chronic canine Chagas' disease. **Journal Of Antimicrobial Chemotherapy**, [S.L.], v. 67, n. 8, p. 1987-1995, 7 maio 2012. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/jac/dks135>;

SCALISE, María L. *et al.* Promising Efficacy of Benznidazole Nanoparticles in Acute *Trypanosoma cruzi* Murine Model: in-vitro and in-vivo studies. **The American Journal Of Tropical Medicine And Hygiene**, [S.L.], v. 95, n. 2, p. 388-393, 3 ago. 2016. American Society of Tropical Medicine and Hygiene. <http://dx.doi.org/10.4269/ajtmh.15-0889>;

SOARES SOBRINHO, José Lamartine *et al.* Delineamento de alternativas terapêuticas para o tratamento da doença de Chagas. **Revista de Patologia Tropical**, [S.L.], v. 36, n. 2, p. 3-5, 28 set. 2007. Universidade Federal de Goiás. <http://dx.doi.org/10.5216/rpt.v36i2.1783>;

SOUZA, H. F. S. *et al.* Desenvolvimento e avaliação in vitro / in vivo de uma nova forma de dosagem líquida de benznidazol usando uma abordagem de qualidade desde o projeto. **A European Journal: Tropical Medicine and International Health**, Brasil, v. 22, n. 12, p. 1514-1522, dez. 2017. <https://doi.org/10.1111/tmi.12980>;

TROCHINE, Andrea *et al.* Benznidazole Biotransformation and Multiple Targets in *Trypanosoma cruzi* Revealed by Metabolomics. **Plos Neglected Tropical Diseases**, [S.L.], v. 8, n. 5, maio 2014. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0002844>;

URBINA, Julio A. *et al.* Recent Clinical Trials for the Etiological Treatment of Chronic Chagas Disease: advances, challenges and perspectives. **Journal Of Eukaryotic Microbiology**, [S.L.], v. 62, n. 1, p. 149-156, 13 nov. 2014. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/jeu.12184>;

VAGO, Annamaria R *et al.* PCR detection of *Trypanosoma cruzi* DNA in oesophageal tissues of patients with chronic digestive Chagas' disease. **The Lancet**, [S.L.], v. 348, n. 9031, p. 891-892, set. 1996. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736\(05\)64761-7](http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736(05)64761-7);

VELÁSQUEZ, Clara Vásquez *et al.* IL-17A, a possible biomarker for the evaluation of treatment response in *Trypanosoma cruzi* infected children: a 12-months follow-up study in bolivia. **Plos Neglected Tropical Diseases**, [S.L.], v. 13, n. 9, set. 2019. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0007715>;

WEN, Jian-Jun *et al.* Proteome Expression and Carbonylation Changes During *Trypanosoma cruzi* Infection and Chagas Disease in Rats. **Molecular & Cellular Proteomics**, [S.L.], v. 11, n. 4, abr. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1074/mcp.m111.010918>;

WHO - **Doença de Chagas (também conhecida como tripanossomíase americana)**. Atualizada em abril de 2022. Disponível em: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-\(american-trypanosomiasis\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-(american-trypanosomiasis)). Acesso em: 20 maio 2022.