

PERFIS FARMACOCINÉTICOS NO TRATAMENTO DA MALÁRIA PELO PLASMODIUM VIVAX NA AMAZÔNIA BRASILEIRA

Amanda Gabryelle Nunes Cardoso MELLO

MELLO, Amanda Gabryelle Nunes Cardoso **Perfis farmacocinéticos no tratamento da malária pelo plasmodiumvivax na amazônia brasileira.** Projeto de investigação científica, do Curso de Farmácia – Centro Universitário Fibrá, Belém, 2023.

Quantificar os níveis séricos dos fármacos em pacientes infectados por *P. vivax* na amazônia brasileira, visando a identificar possíveis prognósticos com a resposta terapêutica utilizada no tratamento desse tipo de malária, foi o objetivo desta pesquisa. O estudo é de natureza transversal, descritivo e analítico. Foi aprovado pelo Comitê de Ética da Faculdade de Medicina da Universidade Federal Fluminense (FMUFF), sob o parecer nº 6.506.160.. Ao longo do tratamento antimalárico, foram registrados os níveis sérios de Cloroquina; e os níveis sérios de Primaquina. Sabe-se que se estima que mais da metade da população mundial vive em áreas de risco para malária, resultando em milhares

de mortes, embora esses óbitos venham diminuindo consideravelmente desde 2005. O padrão de endemicidade da malária e o risco de contrair a doença no Brasil são medidos pelo Índice Parasitário Anual (IPA), em que os municípios são categorizados em elevado (IPA \geq 50 casos/1.000 habitantes), médio (IPA entre 10 e 50 casos/1.000 habitantes), baixo (IPA entre 1 de 10 casos/1.000 habitantes) e muito baixo (IPA $<$ 1 caso/1.000 habitantes). Um quantitativo de 36 municípios localizados em 5 dos 9 estados da Amazônia Legal (AC, AM, AP, PA, RO e RR) foram classificados como de alto risco no ano de 2019. Além da heterogeneidade, a sazonalidade da malária apresenta-se diferente em cada estado da Amazônia e está relacionada com outros fatores que influenciam a proliferação de mosquitos como precipitação, temperatura, umidade e nível da água, propiciando picos de transmissão. No Brasil, durante o ano de 2017, o número de casos de malária subiu 50%, chegando a 194 mil ocorrências, apesar de seis anos de queda até 2016, no período de transição entre as estações úmida e seca. No ano de 2019, foram notificados 157.454 casos, sendo 89,3% (141.127) deles autóctones de malária por *P. vivax* e 10,7% (16.327) dos casos por *P.*

falciparum e malária mista. Também foi registrado, no ano de 2020, um total de 145.188 casos de malária. Comparando com o ano anterior, houve uma redução de 7,8%. Diferente do observado em relação ao total de casos notificados, o número de malária por *Plasmodium falciparum* e mista aumentou no período, sendo registrados 23.757 casos, e, para *P. vivax*, 121.420. No período de janeiro a junho de 2021, foram notificados 57.374 casos, uma redução de 12,5% em relação ao mesmo período do ano anterior, quando foram registrados 65.558 casos. Em 2020, observou-se um aumento da letalidade por malária, registrando 10 óbitos na região extra-amazônica, porém, na região amazônica, foram 34, expressando um aumento de 30,8%. Houve redução de 39% até o final de 2016, com perspectiva de queda ainda maior nos anos seguintes, após a aprovação da emenda constitucional que congela por duas décadas os gastos públicos federais. O Programa Nacional de Controle da Malária (PNCM) também, ao perder recursos humanos, gerou grande impacto no planejamento e na supervisão das ações de controle em escala nacional. Os municípios amazônicos, por sua vez, com sua arrecadação dizimada pela crise econômica, não dispõem

dos recursos financeiros e humanos exigidos para enfrentar a malária. Soma-se a isso a pandemia da Covid-19, que direcionou gastos públicos e restringiu o acesso aos centros de saúde, afetando o combate à malária em todo o mundo, resultando no registro de 241 milhões de pessoas infectadas e 627 mil mortes, uma alta de 69.000 mortes e 14 milhões de casos em 2020. Além disso, a quantidade escassa de estudos sobre a eficácia terapêutica antimalárica, principalmente fora do continente africano e com a malária causada pelo *P. vivax*, faz necessário o retorno das medidas de combate à doença para que os ganhos conquistados nas últimas décadas não sejam perdidos com a pandemia do coronavírus. No Pará, foram registrados 36.890 casos, sendo 96% ocasionada por *P. vivax*. Anajás, na Ilha de Marajó, que é um dos municípios com maior índice da doença no estado, notificou 2.407 casos até junho do mesmo ano, sendo 2.295 ocasionados por esta espécie e 112 de malária mista. No ano de 2019, também foram registrados 37 óbitos, sendo 26 na região Amazônica e 11 na região extra-amazônica. Isso se deve ao fato de essa doença ser incomum em áreas que não são endêmicas e à demora da suspeição de tratamento adequado. Embora

o número de óbitos na região extra-amazônica tenha sido menor em 2020, em relação a 2019, houve um aumento de 61,9% na letalidade pela doença devido ao baixo número de casos notificados, atingindo uma letalidade de 3,3 óbitos para cada 100 casos notificados. Considerando os óbitos por *P. falciparum* e malária mista, em 2019 foram registrados 3 óbitos por esta espécie parasitária, enquanto em 2020, 8 óbitos. As equipes de saúde locais, com a chegada de milhares de refugiados venezuelanos a Roraima, provenientes de áreas com intensa transmissão de malária, também ficaram sobrecarregadas. Vários fatores são considerados para a escolha do antimalárico, como: espécie de plasmódio infectante, pela especificidade dos esquemas terapêuticos; idade do paciente, pela maior toxicidade dos antimaláricos às crianças e idosos; histórico anterior de malária, pela possibilidade de resistência; gravidez e comorbidades, condições de maior risco para a forma grave da doença e de reações adversas; padrões de resistência aos antimaláricos na área; e a capacidade operacional dos serviços de saúde. Características farmacocinéticas, como a baixa biodisponibilidade com consequente variação das concentrações sanguíneas e a

meia vida de eliminação terminal dos fármacos, que, quanto mais prolongada maior será a probabilidade de persistirem concentrações subterapêuticas no plasma humano, também são variáveis importantes na resistência do parasito. Foram coletadas amostras de sangue previamente confirmadas por diagnóstico microscópico e molecular como monoinfecção pelo *P. vivax*, provenientes do município de Porto Grande no estado do Amapá. Este município está localizado na região central do estado, a 108 quilômetros de Macapá, criado pela Lei Nº 3, de 1º de maio de 1992. Tem uma população estimada em 19.669 habitantes e uma área de 4.421 km². No ano de 2017, foi o terceiro município que mais registrou malária, em todo o estado, com 1858 casos, sendo o período de 2018 e 2019 em que atingiu o segundo lugar dentre os 16 municípios do estado, com 2250 e 1550 casos, respectivamente, representando uma grande dificuldade das ações de combate e controle da doença devido à grande dispersão. Dados preliminares até 01.09.2021 mostram que o município de Porto Grande é o local mais prevalente de casos de malária do estado do Amapá. A IPA indica que o município esteve classificado em alto risco para contrair malária nos últimos cinco anos, tendo registrado o maior

IPA em 2018 (104,7 casos/1000 habitantes) e uma linha de tendência variando ao longo dos anos, mantendo o município sempre entre o segundo (anos 2018 e 2019) e terceiro (anos 2017, 2020 e 2021). Um total de 20 pacientes participou do estudo. A inclusão dos pacientes foi realizada a partir do diagnóstico positivo pelo exame da gota espessa para monoinfecção por *P. vivax*, de ambos os sexos, com idade entre 18 e 65 anos, com temperatura axilar $\geq 37,^{\circ}\text{C}$ ou história de febre nas últimas 24 horas, com capacidade de ingerir os medicamentos e que aceitaram ou foram autorizados a participar do estudo, e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE). Foram excluídos os que apresentarem síndrome febril não oriunda da infecção malárica, aqueles que fizeram uso de antimaláricos nas oito semanas anteriores ao tratamento, os que apresentaram quadro de malária grave ou agravamento no decorrer do estudo, aqueles com malária mista, grávidas ou suspeita de gravidez, comorbidades, reconhecida alergia ou outras reações adversas à Primaquina ou à Cloroquina e aqueles que se recusaram a assinar o TCLE. Os pacientes foram tratados de acordo com o esquema de primeira linha recomendado pela

OMS e adotado pelo Ministério da Saúde, constituído pela administração concorrente de Cloroquina 10mg/kg no dia 0 e 7.5mg/kg nos dias 1 e 2 e Primaquina (0.5mg/kg/d por 7 dias, como comprimidos contendo 13.2-mg de fosfato de primaquina. A dose de Primaquina foi ajustada ao peso e a idade do paciente seguindo as recomendações do Ministério da Saúde. Todas as doses dos medicamentos foram supervisionadas. Além disso, os pacientes foram observados por 30 minutos após ingestão dos fármacos para monitorização da ocorrência de reações adversas. Seguindo as orientações do Manual de Vigilância da Resistência a Antimaláricos da OMS, os pacientes foram convidados a retornar para avaliação laboratorial nos dias D7, D14, D21 e D28. Foram coletadas 100 amostras de sangue venoso (5 mL) por punção venosa em tubos contendo EDTA como anticoagulante, antes da introdução dos antimaláricos (D0), sete (D7), quatorze (D14), vinte e um (D21) e vinte e oito (D28) dias do início do tratamento. Os pacientes foram divididos em dois grupos: (1) primoinfectados; (2) histórico de progresso de malária. As concentrações séricas de e carboxiprimaquina foram determinadas por CLAE (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, Perkin Elmer

TotalChrom v6.2.0.0.1 with LC InstrumentControl, Austrália) em fase reversa e validado no Laboratório de Toxicologia da Universidade Federal do Pará (UFPA). Os spots de papel de filtro foram cortados em pequenas peças e transferidos para tubos de centrífuga de polipropileno (FALCON) com 1,5 mL de ácido clorídrico (HCl 0,1N). Foi agitado, por 20 minutos, em agitador mecânico. As amostras ficaram em repouso, durante 24 horas, para aumentar a eficácia da extração. Após esse período, os tubos foram transferidos para banho de ultrassom por uma hora. Em seguida, o papel de filtro foi retirado com auxílio de palito de madeira e adicionado 0,5 mL de NaOH 2M (hidróxido de sódio), 100 µL de padrão interno (quinina 2 mg/mL) e 5 mL de metil-terc-butil-eter. Os tubos foram agitados em vórtex por 30 segundos e, novamente, agitados por 15 minutos em agitador e centrifugados, em seguida, a 2000 rpm por 15 minutos (centrífuga Benfer® série BF 3774). Por último, houve a separação da camada orgânica, que foi evaporada a temperatura ambiente. O resíduo foi ressuspendido com 100 mL de água ultrapura (pH=3,5), agitado em vórtex por 30 segundos e injetado no CLAE. O volume de injeção foi 50 µL. A quantificação das concentrações de

Primaquina e carboxiprimaquina foi realizada por comparação dos tempos de retenção e espectros de UV-Visível dos picos observados nos cromatogramas das amostras de concentração plasmática com padrões do fármaco e seu metabólito. Tanto os padrões quanto as amostras foram injetados sob as mesmas condições cromatográficas, na coluna Perkin Elmer Brownlee SPP C18 (150x4,6 mm; 2,7 cm), a temperatura da coluna foi 30 °C; fluxo de 1,0 mL.min⁻¹ em modo de eluição isocrática de 50% de metanol (solução A) e 50% água ultrapura (solução B - acidificada com ácido fórmico 0,1%). O comprimento de onda foi 254nm por meio do detector Detector de Arranjo de Diodos (DAD). O tempo de análise foi de 15 minutos e a Primaquina e carboxiprimaquina eluíram em 5 min e 13 min, respectivamente. Os dados foram avaliados utilizando o programa estatístico SPSS version 16.0 for Windows (SPSS Inc. H Chicago, IL, USA). O nível de significância adotado foi de 95% ($p < 0.05$). Em todas as correlações, foram considerados estatisticamente significantes valores de $p < 0.05$. As comparações entre casos e controles foram realizadas com o auxílio de modelos de regressão logística, com ajuste para covariáveis não-genéticas tais

como sexo e idade. Para Primaquina, observou-se que os níveis sanguíneos apresentaram valores médios semelhantes nos dias 3 e 7, com leve redução no dia 7. No D14 não houve detecção dos fármacos, o que indicou uma rápida biotransformação deste após a administração. Entretanto foi observado um aumento significativo no metabólito do fármaco, a carboxiprimaquina, passando de 267 ng/mL no dia 3 para 397 ng/mL no dia 7, sugerindo uma metabolização ativa da Primaquina. No dia 14, a concentração diminuiu para 89 ng/mL, mas ainda foi detectada, indicando uma persistência do metabólito no organismo. Ressalta-se que, no dia 0, antes do início do tratamento, não houve detecção de nenhuma das substâncias. De acordo com os resultados, os níveis de Primaquina foram semelhantes em diferentes dias de análise, evidenciando que o fármaco não se acumula nos tecidos corporais. No entanto diferenças significativas foram observadas nas concentrações de carboxiprimaquina ao longo do tratamento, com picos no sétimo dia (D7). As concentrações plasmáticas de Cloroquina e Desetilcloroquina forneceram informações importantes sobre a farmacocinética dessas substâncias durante o tratamento antimalárico, conforme

recomendado pelo Ministério da Saúde. A ausência de concentrações detectáveis no dia 0 era esperada, considerando que o tratamento não havia sido iniciado, somente após a análise das amostras coletadas dias 3, 7 e 14 foi possível determinar dados significativos acerca da absorção e eliminação do fármaco e seu produto metabolizado. Notou-se um elevado aumento nas concentrações plasmáticas de cloroquina no dia 3, ao mesmo tempo que a Desetilcloroquina mostrou um padrão semelhante. A Desetilcloroquina continua apresentando uma média detectável no dia 7, fato que a Cloroquina ainda possui metabolitos detectáveis até o 10º dia. E ao final no dia 14, ambas as substâncias não foram detectadas indicando sua eliminação total do organismo. As concentrações dos fármacos Cloroquina e Primaquina demonstraram que ambos são eliminados rapidamente pelo organismo. No entanto, frações dos principais metabolitos, Desetilcloroquina e Carboxiprimaquina, respectivamente, permanecem por dias e em processo de eliminação mais lento. Assim, os resultados do estudo foram importantes para ampliar a compreensão do comportamento farmacocinético da Primaquina e Cloroquina, bem como sua eficácia

terapêutica, destacando que sejam necessárias revisões periódicas de sua concentração plasmática e seus principais metabolitos para assegurar a eficácia ao tratamento com antimaláricos e evitar a resistência aos medicamentos e falhas terapêuticas.