

VACINA POLIVALENTE ANTI-HELMINTOS?

Naftale Katz, pesquisador titular da Fiocruz, diretor do Centro de Pesquisas René Rachou - Fiocruz e perito da Organização Mundial de Saúde

A esquistossomose é uma endemia parasitária causada por helmintos do gênero *Schistosoma* que acomete 200 milhões de pessoas em mais de 70 países. No Brasil, 8 milhões são infectados, com distribuição em vastas regiões, desde Belém do Pará até o norte do Paraná, com dois focos isolados em Santa Catarina. As principais zonas endêmicas estão situadas na Região Nordeste e em Minas Gerais (figura 1). Apenas uma espécie é responsável por esta parasitose no Brasil - o *Schistosoma mansoni*. O ciclo evolutivo é mantido por seu principal hospedeiro definitivo, o homem (embora acometa também roedores silvestres, gado etc.), e por hospedeiros intermediários, caramujos do gênero *Biomphalaria*. Em todos os estados brasileiros há pelo menos uma das três espécies hospedeiras do *S.mansoni*, a saber: *B.glabrata*, *B.straminea* e *B.tenagophila* (figura 2). Portanto, potencialmente a esquistossomose ainda poderá expandir-se muito. Admite-se que a esquistossomose tenha sido introduzida no Brasil pelos escravos africanos. Embora os mesmos estivessem infectados pelo *S.mansoni* e pelo *S.haematobium*, a falta do hospedeiro intermediário para esta segunda espécie impossibilitou que o *S.haematobium* se instalasse nas Américas. É através das fezes do homem infectado que saem os ovos do *S.mansoni* (cada fêmea põe aproximadamente 300 ovos por dia, podendo ser eliminados até 15.000 ovos por grama de fezes). Estes ovos em contato com água eclodem liberando o miracídeo, embrião que nada velocemente em busca do caramujo. Após penetrá-lo, transforma-se em esporocisto primário e, depois, secundário. Trinta dias após a infecção do molusco, larvas bifurcadas chamadas cercárias saem e nadam muito ativamente. Encontrando o homem, penetram pela pele, caem na circulação sanguínea e/ou linfática e após 30 dias vão se alojar nos vasos mesentéricos. No hospedeiro definitivo, ocorre diferenciação dos sexos, sendo que a fêmea, de maior tamanho (1,2mm) e

mais fina, vai se alojar no cano ginecóforo do macho para, então, iniciar a postura nos vasos sanguíneos na submucosa do intestino. Os ovos atravessam a parede do intestino (por via mecânica e auxiliados por enzimas proteolíticas) e caem na luz, onde misturados às fezes saem para o ambiente, fechando o ciclo do parasita.

Já na fase de penetração das cercárias, o homem pode apresentar o quadro de dermatite cercariana, representado por coceiras e urticárias. Com o passar das semanas, aparecem febre, tosse seca e posteriormente diarreia, inapetência e emagrecimento. Esta forma aguda pode ser branda, moderada, ou mesmo muito severa, levando o paciente a perder muitos quilos e ficar adinâmico. A semelhança do quadro clínico com várias outras doenças dificulta muito o diagnóstico. Na fase crônica, a infecção acomete principalmente intestinos e fígado, e na forma grave, intestinos, fígado e baço (hepatoesplenomegalia). Devido à fibrose, no fígado se desenvolve circulação colateral, que leva ao aparecimento de varizes esofágicas, que não raramente rompem, levando à hemorragias intensas, que podem ser fatais.

Embora estas três formas, a intestinal, hepatointestinal e hepatoesplênica, sejam as mais frequentes, ovos e/ou vermes do *S.mansoni* já foram encontrados em praticamente todos os órgãos e tecidos do corpo humano, como testículos, ovários, medula espinhal, cérebro, rins, pulmões, pâncreas etc.

Como pode ser facilmente apreendido do ciclo evolutivo acima descrito, a esquistossomose só se instala onde as condições de saneamento básico são precárias. Infelizmente, no Brasil apenas 80% dos municípios têm água e menos de 40% têm esgotos em condições satisfatórias. A esquistossomose é portanto uma doença criada por maus hábitos do homem e por condições socioeconômicas desfavoráveis.

O diagnóstico é relativamente fácil e rápido, utilizando-se o método de Kato-Katz (Katz e cols., 1972) para o exame microscópico das fezes. Este método, reco-

mendado pela Organização Mundial da Saúde, é amplamente utilizado em inúmeros países da África, Ásia e das Américas. Entretanto, em muitos municípios das regiões brasileiras mais carentes, a inexistência do microscópio limita a realização do diagnóstico parasitológico das fezes. Para o tratamento, hoje em dia, estão disponíveis duas drogas (oxamniquine e praziquantel), ambas administradas por via oral em dose única, que são relativamente bem toleradas, com baixa toxicidade, e que apresentam bom percentual de cura (em torno de 80% para adultos e de 70% para crianças abaixo de 15 anos).

Dito isto, e se o diagnóstico é relativamente fácil e as drogas existentes ativas, por que a esquistossomose continua a ser problema sanitário importante?

Seria necessário que o Sistema de Saúde do país reconhecesse que o controle desta endemia merece prioridade e investimentos de monta e de longo prazo.

O controle deve ser considerado sob dois aspectos, ou seja, o da morbidade e o da transmissão. Para o controle da morbidade, que visa a diminuir o aparecimento de casos de formas graves (hepatoesplênica), o diagnóstico e o tratamento são suficientes. Já para o controle da transmissão, que é o ideal a ser buscado, pois visa a interromper o ciclo evolutivo do parasita, apenas o tratamento das populações infectadas não é suficiente. São necessárias obras de engenharia sanitária, levando água para as casas e possibilitando adequada eliminação dos dejetos, impedindo que os mesmos contaminem os recursos hídricos, além de obras que modifiquem o meio ambiente. Outra medida importante é a educação para saúde, fazendo com que as populações residentes em zonas endêmicas não apenas tenham consciência do problema, mas que modifiquem o comportamento (Katz, 1980).

O argumento "economicista", para não priorizar obras do saneamento básico, é que somos um país em desenvolvimento e sem recursos financeiros para esta empreitada. Esta é apenas uma "meia" verdade. Embora, o investimento inicial seja realmente de grande monta para fornecer às populações água e esgoto em boas condições, o resultado obtido a médio e longo prazos será muito melhor e mais barato do que o diagnóstico e tratamento repetidos, pois as pessoas tratadas e curadas podem se reinfectar. Considere-se ainda que as obras de engenharia sanitária previnem não apenas a esquistossomose, mas muitas outras doenças de veiculação hídrica, como, por exemplo, hepatites, gastroenterites, salmoneloses, giardoses etc. No fim, resultados melhores e com menos custo.

Nos últimos anos, grandes esforços (e verbas) vêm sendo despendidos pelos organismos internacionais (a OMS incluída) e institutos de pesquisa visando a descobrir

uma vacina que poderia, através da imunização preventiva, impedir que as pessoas se infectassem durante o contato com águas poluídas, seja para o trabalho diário, lazer, manobras militares etc.

Embora consideremos que o caminho mais adequado seja o do saneamento básico associado ao tratamento específico para o controle da esquistossomose, fomos (e somos) obrigados a reconhecer a dificuldade política e econômica no momento do uso destas medidas nos países subdesenvolvidos, e assim sendo, a vacina seria uma alternativa como instrumento complementar de controle.

Recordo-me quando há quase 20 anos, em visita ao laboratório da dra. Míriam Tendler no Instituto Oswaldo Cruz (Fiocruz), no Rio de Janeiro, a mesma ofereceu-me um coelho que, segundo ela, estava "quente", isto é, estava produzindo uma grande quantidade de anticorpos, pois havia sido inoculado com antígenos de vermes adultos de *S.mansoni*. Como o animal iria ser sacrificado, pois já havia sido sangrado várias vezes para obtenção de anti-soro que ela estava utilizando para conhecer os antígenos existentes nos vermes, sugeri que fosse inoculado com cercárias, a fim de verificar se estava "vacinado". Qual não foi nossa agradável surpresa quando, 60 dias após a infecção experimental, nenhum verme foi recuperado. Este foi o início de uma longa jornada, de muitos trabalhos publicados, de duas teses que a dra. Tendler defendeu sob minha orientação, de centenas de experiências, de marchas e contra-marchas, até chegarmos ao pedido de patente feito em 1995 de um antígeno recombinante, denominado Sm 14: Sm de *Schistosoma mansoni* e 14 representando o peso molecular aproximado em quilodaltons.

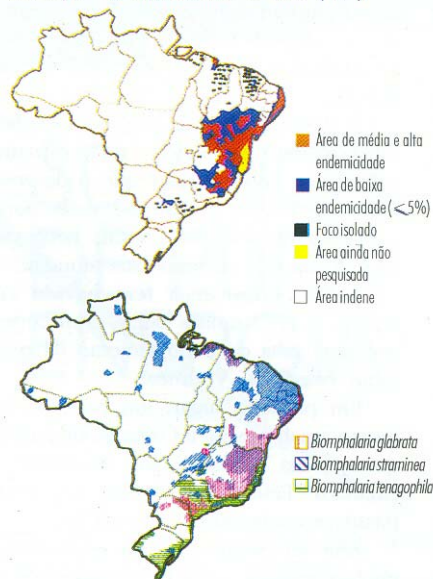
Os primeiros trabalhos (início da década de 80) foram feitos com os antígenos denominados SE que eram obtidos colocando os vermes adultos em uma solução salina tamponada por dez dias. Após centrifugação, o SE foi administrado, em três doses, associado ao antígeno completo de Freund (ACF) e induziu uma proteção acima de 90% em coelhos e em torno de 50% em camundongos albinos suíços. O fracionamento do SE em cromatografia em

Estrutura de Sm 14



coluna de Sephadex G-100 permitiu o isolamento de uma fração F1, que associado ao ACF também apresentou alto percentual de proteção em coelhos, semelhante ao obtido com SE. Através da técnica de "western blot", soros de coelhos imunizados com F1 reconheceram várias frações antigênicas de pesos moleculares entre 60 e 116kda (Tendler e cols., 1982). Alguns anos mais tarde, Míriam Tendler vai aos Estados Unidos da América fazer um curso de imunologia, organizado pelo dr. Alan Sher, importante pesquisador no campo da esquistossomose, que também descreveu um antígeno protetor, a paramiosina (Sm 97). Neste curso, havia como exercício em uma das aulas práticas fazer clonagem de antígenos. Junto com a dra. Mo Klinkert,

Distribuição da esquistossomose no Brasil (1995).



Distribuição dos caramujos, hospedeiros intermediários do *S.mansoni*, no Brasil

Míriam fez várias clonagens, sendo que uma foi posteriormente seqüenciada e descrita como Sm 14 (Moser et al., 1991). Trata-se de uma proteína da família FABP ("fatty acid-binding protein") que parece ser comum em invertebrados.

Com a chegada do dr. Andrew Simpson, vindo da Inglaterra para trabalhar no Centro de Pesquisas René Rachou - Fiocruz, tornou-se possível a expressão do Sm 14.

As muitas experiências feitas com diferentes linhagens de camundongos mostraram que a rSm 14 (Sm 14 recombinante) apresentava taxa de proteção à infecção desafiante em torno de 50-60% (figura 3).

Em 1992, Hillyer e colaboradores, pesquisadores radicados em Porto Rico, demonstraram que uma fração antigênica de baixo peso molecular (Fh 15) isolada da *Fasciola hepatica* apresentava proteção contra as infecções por *S.mansoni* ou *F.hepatica* (Rodrigues e cols., 1992)

A fasciolose é uma das mais importantes doenças parasitárias de ruminantes domésticos, causando perdas econômicas severas em dezenas de países em todo o

mundo, devido à mortalidade e redução na produção de carne e de leite. O homem apenas ocasionalmente é infectado.

Dado o grau de homologia entre a Sm 14 e a Fh 15 ($\pm 44\%$), a sugestão lógica foi ensaiar a imunização com o rSm 14 na infecção experimental de *F.hepatica* em camundongos. Os resultados repetidamente mostraram proteção total. De fato, em nenhum dos camundongos imunizados com rSm 14 as metacercárias de *F.hepatica* desenvolveram-se até vermes adultos, e não houve alteração no fígado dos animais vacinados, ao contrário do encontrado no grupo de camundongos-controle (não-imunizados), cuja infecção produziu intenso desarranjo na estrutura hepática.

Em 1994, foram iniciados processos visando a patentear este antígeno promissor. Com o apoio do dr. Carlos Morel, então presidente da Fiocruz, e sob a coordenação técnica de Maria Celeste Emerick, da Gestão Tecnológica da Fiocruz, foram encaminhados ao INPI no Brasil e a mais dez países os pedidos de patente. As patentes já foram concedidas na Nova Zelândia, Espanha e Itália. Como "efeito colateral", e após mais de dez anos de discussão, conseguimos também um Ato da Presidência da Fiocruz que prevê para os inventores de produtos patenteados participação nos lucros auferidos pela instituição. Este deverá ser um grande incentivo para que os pesquisadores despertem para a importância de terem patenteadas suas descobertas.

Mais recentemente, um grupo de pesquisadores de Montevidéu, liderado pelo dr. Alberto Nieto, descreveu outro antígeno de peso molecular semelhante, com homologia ao Sm 14, no helminto *Echinococcus granulosis*, importante causador da hidatidose, doença que acomete ovinos, bovinos, porcinos e também o homem.

Ensaio serão realizados na Austrália em ovinos e em gado infectados experimentalmente com *F.hepatica*. Caso os resultados sejam semelhantes àqueles obtidos em camundongos, será confirmada a disponibilidade de uma vacina de grande importância sanitária e econômica.

Como prosseguimento, estudos deverão ser realizados em voluntários humanos e posteriormente em zonas endêmicas de esquistossomose.

Os ensaios experimentais até agora realizados evidenciam que o Sm 14 é imunogênico e capaz de estimular a imunidade protetora contra a infecção pelo *S.mansoni* e *F.hepatica*. Seria interessante determinar se o Sm 14 também protegeria contra outras espécies de *Schistosoma* (*japonicum*, *haematobium*, *bovis*). De fato, a possibilidade de uma vacina que tenha múltipla atividade contra helmintos, e que possa ser utilizada na veterinária e no homem, apresenta-se como importante progresso na imunoprofilaxia.