

ATIVIDADE MALARICIDA DA QUERCETINA EM *Gallus gallus* L., 1758 IMUNOSSUPRIMIDOS INFECTADOS POR *Plasmodium* (*Bennettinia*) *juxtannucleare* VERSIANI E GOMES, 1941

USHA VASHIST¹; PATRÍCIA SILVEIRA²; ADALGISA CABRAL³; KÁTIA B. AMARAL³; GERALDO LUIZ G. SOARES⁴;
MARTA D'AGOSTO³

ABSTRACT:- VASHIST, U.; SILVEIRA, P.; CABRAL, A.; AMARAL, K.B.; SOARES, G.L.G.; D'AGOSTO, M. [Malaricide activity of the quercetin in *Gallus gallus* L., 1758 immunocompromised infected by *Plasmodium* (*Bennettinia*) *juxtannucleare* Versiani and Gomes, 1941]. Atividade malaricida da quercetina em *Gallus gallus* L., 1758 imunossuprimidos infectados por *Plasmodium* (*Bennettinia*) *juxtannucleare* Versiani e Gomes, 1941. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 17, supl. 1, p. 220-223, 2008. Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, BR 465 km 7, Seropédica, RJ 23690-000, Brasil. Email: usha@ufrj.br

The aim of this study was comparatively to evaluate the malaricide activity of the quercetin to the action of the chloroquine in *Gallus gallus* experimentally infected for *Plasmodium juxtannucleare* and immunocompromised. Thirty- four hens had been used, previously infected for *P. juxtannucleare* and immunocompromised by the administration of 26mg/kg of metilprednisolon 40mg/ml in the pectoral muscle. These had been divided in three groups: 1- control, 2- treated with chloroquine and 3- with quercetin. The administration of substances occurred way gavagem to four consecutive days. The malaricide action of the drugs was evaluated in agreement the parasitemia for *P. juxtannucleare* in blood smears, during 30 days after the infection. The groups that had received treatment with chloroquine and quercetin had presented significant reduction ($p < 0,01$ in both) of the parasitaemia comparative to the group control, it suggesting that the drugs had acted as malaricide in the infection for *P. juxtannucleare*.

KEY WORDS: Chickens, avian malaria, natural drugs.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a atividade malaricida da quercetina comparativamente à ação da cloroquina em *Gallus gallus* infectados experimentalmente por *Plasmodium juxtannucleare* e imunossuprimidos. Foram utilizadas 34 galinhas, previamente infectadas por *P. juxtannucleare* e imunossuprimidas por meio da administração de 26mg/kg de metilprednisolona 40mg/ml no músculo peitoral. Estas foram

dividas em três grupos: 1- controle, 2- tratado com cloroquina e 3- tratado com quercetina. A administração das substâncias ocorreu via gavagem por quatro dias consecutivos. A ação malaricida das drogas foi avaliada conforme a parasitemia por *P. juxtannucleare* em esfregaços sanguíneos, durante 30 dias após a infecção. Os grupos que receberam tratamento com cloroquina e quercetina apresentaram redução significativa ($p < 0,01$ em ambos) da parasitemia comparados ao grupo controle, sugerindo que as drogas atuaram como antimaláricos na infecção por *P. juxtannucleare*.

PALAVRAS-CHAVE: Galinhas, malária aviária, drogas naturais.

INTRODUÇÃO

Plasmodium (*Bennettinia*) *juxtannucleare* Versiani e Gomes, 1941 apresenta alta prevalência em *Gallus gallus* de criações rústicas no Brasil (MASSARD; MASSARD, 1981; MOTA, 1997; SOUZA, 1998, SANTOS-PREZOTO et al.,

¹ Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, BR 465, km 7, Seropédica, RJ 23690-000, Brasil. Email: usha@ufrj.br - Bolsista CAPES.

² Departamento de Parasitologia, Instituto de Ciências Biológicas (ICB), Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Avenida Antonio Carlos 6627, Pampulha, Belo Horizonte, MG 31270-901, Brasil.

³ Departamento de Zoologia, Instituto de Ciências Biológicas, (UFJF), Campus Universitário s/n, Juiz de Fora, MG 36036-330, Brasil.

⁴ Departamento de Botânica, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves, 9500, Porto Alegre, RS 91501-970, Brasil.

2004). A infecção por *P. juxtannucleare* pode causar quadro de anemia, febre, inapetência, aumento no tamanho de órgãos, distúrbios digestivos e neurológicos e em casos de alta parasitemia, prostração e morte (DHANAPALA, 1962; KRETTLI, 1972; MASSARD; MASSARD, 1981; SOUZA, 1998). Em criações comerciais a parasitemia foi relacionada à queda na produção de ovos (MASSARD, 1982).

As espécies aviárias de plasmódios foram muito utilizadas em estudo de biologia e testes de drogas malaricidas (MCGHEE, 1988). Com a descoberta de *P. berghei* Vincke e Lips, 1948 esse passou a ser mais utilizado no estudo da malária (LEVINE, 1973), devido à facilidade de manutenção de roedores em laboratório.

Entretanto, o estudo da biologia de *P. juxtannucleare* por meio de infecção experimental continua sendo amplamente realizado (VERSIANI; GOMES, 1941, 1943; DHANAPALA, 1962; KRETTLI, 1971; MASSARD; MASSARD, 1981; SOUZA, 1998; SOUZA, 2000, ELISEI, 2001), utilizando-se corticóides para a exacerbação da parasitemia (KRETTLI, 1971; SOUZA, 1998).

Várias drogas estão disponíveis para o tratamento da malária humana, como os derivados quinolínicos sintetizados a partir da molécula de quinina, extraída da casca da árvore *Chinona* sp., sendo a cloroquina, um dos antimaláricos mais importantes, devido ao seu baixo custo, alta eficácia e pequena toxicidade ao homem. Entretanto, essa droga apresenta atividade restrita aos estádios eritrocíticos e algumas espécies do gênero *Plasmodium*, como *P. falciparum* Welch, 1897 apresentam resistência a cloroquina em áreas endêmicas dessa espécie de plasmódio (KRETTLI et al., 2001).

Investigações farmacológicas têm demonstrado diversas atividades biológicas dos flavonóides, como a quercetina, que são substâncias polifenólicas presentes em várias espécies vegetais. Castro et al. (1996), observaram que a quercetina foi efetiva na redução da parasitemia por *P. berghei* em camundongos infectados experimentalmente.

Dada a importância da busca por novas opções de tratamento da malária, o presente trabalho teve por objetivo a investigação da quercetina como potencial malaricida, acompanhando-se o curso de infecções experimentais de *P. juxtannucleare* em *G. gallus*, da raça Leghorn branca, e tendo como parâmetro de comparação a droga mais frequentemente utilizada no combate da malária, a cloroquina.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 34 galinhas da raça Leghorn branca com 45 dias de idade, previamente infectadas por *P. juxtannucleare*, mantidas em gaiolas teladas e iluminação contínua, no laboratório de Protozoologia, Universidade Federal de Juiz de Fora, MG.

A alimentação foi manipulada, contendo canjiquinha, farelo de trigo, farelo de ossos, calcáreo cástico, cloreto de sódio e fubá grosso, livre de coccidiostáticos. Duas ou três vezes por semana as aves receberam couve, espinafre, rúcula, agrião, beterraba ou cenoura cozida e água *ad libitum*.

As aves foram imunossuprimidas por meio da administração de 26mg/Kg de metilprednisolona 40mg/ml no músculo peitoral, dose única e distribuídas nos seguintes grupos experimentais: grupo 1 - controle, grupo 2 - cloroquina e grupo 3 - quercetina. As drogas foram dissolvidas em solução aquosa de dimetilsulfóxido (DMSO) a 1%. A administração das substâncias ocorreu por quatro dias consecutivos, no mesmo horário, sendo que o grupo 1 recebeu apenas DMSO. O grupo 2 recebeu 50mg/kg de difosfato de cloroquina e o grupo 3, 50mg/Kg de dihidrato de quercetina cada dia. Todas as substâncias foram administradas via gavagem com o auxílio de sonda uretral nº 5, acoplada a seringa descartável de 3 ml.

O efeito malaricida das drogas testadas foi avaliado por meio da parasitemia de *P. juxtannucleare* em esfregaços sanguíneos realizados ao quinto, sétimo e nono dia pós-imunossupressão e, posteriormente, a cada três dias até o 30º dia. As amostras de sangue foram obtidas por perfuração da veia radial na asa e os esfregaços sanguíneos corados pelo método panótico rápido^a, examinados 100 campos em microscopia fotônica sob objetiva de imersão. Os parasitos foram quantificados e diferenciados em estágios trofozoítos, esquizontes e gametócitos. A parasitemia percentual de cada grupo foi calculada conforme Souza (1998). Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística, sendo realizado o teste de Kruskal-Wallis.

Este trabalho foi aprovado pela Comissão de ética da Universidade Federal de Juiz de Fora para a utilização de animais em pesquisas, protocolo de número 48/2003- CEA.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O grupo controle foi o que demonstrou maiores valores percentuais de parasitemia média, seguido pelos grupos quercetina e cloroquina (Figura 1). Esses resultados confirmaram a ação malaricida da cloroquina e sugerem que a quercetina também possui efeito redutor da parasitemia por *P. juxtannucleare*.

Os três grupos experimentais tiveram redução no número de parasitos ao longo do experimento. Os grupos tratados com

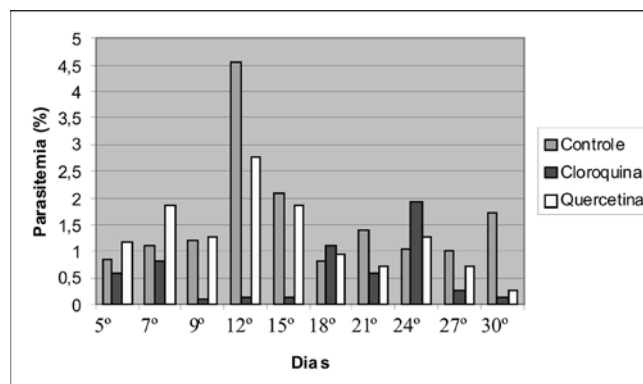


Figura 1. Parasitemia percentual por *Plasmodium juxtannucleare* em *Gallus gallus* nos grupos Controle, Cloroquina e Quercetina ao longo do experimento.

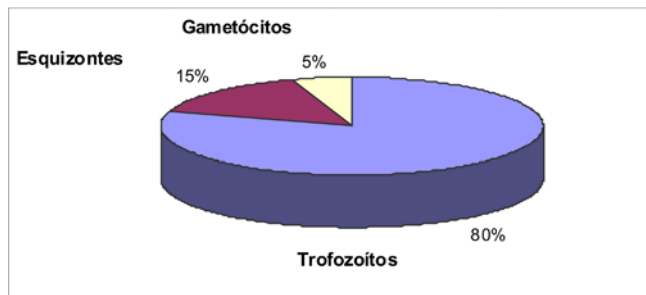


Figura 2. Porcentagem de estádios eritrocíticos de *Plasmodium juxtanucleare* encontrados em esfregaços sanguíneos de *Gallus gallus* ao longo do experimento.

cloroquina e quercetina apresentaram redução significativa ($p < 0,01$ em ambos) no número de parasitos. Esses resultados sugerem que as drogas, cloroquina e quercetina, atuaram como antimaláricos na infecção por *P. juxtanucleare*.

Os estádios eritrocíticos visualizados nos esfregaços sanguíneos foram trofozoítos, esquizontes e gametócitos, nessa ordem de predominância. Os gametócitos foram pouco visualizados (Figura 2).

A ordem de predominância dos estádios eritrocíticos de *P. juxtanucleare* registrada nesse trabalho concorda com outros estudos realizados tanto em condições naturais (SANTOS-PREZOTO et al., 2004) quanto experimentais (ELISEI et al., 2001).

O grupo controle foi o que apresentou maiores médias de trofozoítos, esquizontes e gametócitos.

Os picos máximos de parasitemia dos grupos controle e quercetina foram registrados ao 12º dia, fato atribuído ao efeito da imunossupressão por corticóide nas aves infectadas. Há registros de picos de parasitemia de *P. juxtanucleare*, após administração de corticóide na mesma dosagem desse experimento, ao 30º dia em galinhas de criação rústica (ELISEI et al., 2001). A diferença entre os picos de parasitemia pode ser atribuída à diferença na linhagem das aves ou às características das cepas de *P. juxtanucleare*. Em aves infectadas por *P. juxtanucleare* esplenectomizadas, Al-Dhabagh (1961) registrou rápido aumento da parasitemia com elevação máxima ao redor do 14º dia e mortalidade ao redor do 40º dia. Há que se considerar ser a esplenectomia um método invasivo para exacerbação da parasitemia com possibilidade de infecções secundárias.

Ao 30º dia do experimento foi registrado que as médias finais dos estádios parasitários nos grupos cloroquina e quercetina exibiram valores semelhantes, fornecendo um indicativo de que o flavonóide quercetina atuou com eficiência semelhante à da cloroquina que já é sabidamente eficaz contra outras espécies de plasmódio (PETERS, 1980) e possui ação malaricida contra sobre *P. juxtanucleare*.

Agradecimentos: Este estudo foi apoiado pela Granjas Planalto que ao fornecer as aves de boa linhagem possibilitou o sucesso desse experimento. Agradecemos a disponibilidade da Prof. Dra. Juliane Floriano Lopes, Universidade Federal

de Juiz de Fora, MG, por auxiliar a elaboração e execução estatística do estudo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AL DABAGH, M.A. Syntomatic partial paralysis in chicks with *Plasmodium juxtanucleare*. *Journal of comparative Pathology* v. 71, n. 1, p. 217-221. 1961.
- CASTRO, O.; BARRIOS, M.; CHINCHILLA, M.; GUERRERO, O. Chencial and biological evaluation of the effect of plant extract against *Plasmodium berghei*. *Revista de Biologia Tropical*, v. 44, n.1, p. 361-367. 1996.
- DHANAPALA, S.B. The occurrence of *Plasmodium juxtanucleare* Versiani & Gomes, 1941 in domestic fows in Ceylon. *Revista de Malariologia* v. 41, n. 1, p. 39-46. 1962
- ELISEI, C.; SOUZA, P. C. A.; MASSARD, C. L.; OLIVEIRA, C. S. Caracterización morfológica y morfométrica de *Plasmodium (Novyella) juxtanucleare* (Apicomplexa: Plasmodiidae). *Boletín Chileno de Parasitología*, v. 25, n. 1-2, p. 12-18, 2001.
- KRETLI, A.U. *Estudos sobre a prevalência, biologia e transmissão do Plasmodium juxtanucleare Versiani & Gomes, 1941*. 1971. 73p. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, 1971.
- KRETLI, A.U. *Plasmodium juxtanucleare* in the state of Minas Gerais, Brazil. Studies on its prevalence and some aspects of its biology. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v.14, n. 1, p. 235-245. 1972
- KRETLI, A.U.; ANDRADE-NETO, V.F.; BRANDÃO, M.G.L.; FERRARI, W.M.S. The search for new antimalarial drugs from plants used to treat fever and malaria or plants randomly selected: a review. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 96 n. 8, p. 1033-1042. 2001.
- LEVINE, N.D. *Protozoan Parasites of Domestic Animals and Man*. Minneapolis: Burgess Publishing Co., 1973. p. 270-274.
- MASSARD, C.L.; MASSARD, C.A. Aspectos biológicos do *Plasmodium (Novyella) juxtanucleare* Versiani & Gomes, 1941 em aves no Brasil. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v. 4, n. 3, p. 3-23. 1981.
- MASSARD, C.L. Caracterização do Parasitismo por *Plasmodium juxtanucleare* (Haemosporidida: Plasmodiidae) em criações de *Gallus gallus* da raça Leghorn Branca. *Arquivos da Universidade Federal do Rural do Rio de Janeiro*, v. 5, n. 2, p. 141-146. 1982.
- McGHEE, R.B.; WERNSDORFER, W.H.; MCGREGOR, I. 1988. Major animals models in malaria research. *Avian Malaria: Principles and Practice of Malariology*, v. 2, p. 1545-1567.
- MOTA, R.A. Variáveis hematológicas em *Gallus gallus domesticus*, Linnaeus, 1758, de criações rústicas da região metropolitana do Recife, naturalmente infectadas com *Plasmodium juxtanucleare* (Versiani & Gomes, 1941). *Ciência Veterinária nos Trópicos* v. 1, n.2, p. 76-80. 1998.
- PETERS, W. Chemotherapy of Malaria, In: KREIER, J.

- Malaria*. v.1, New York: Academic Press, 1980. p. 145-283.
- SANTOS-PREZOTO, H.H.; D'AGOSTO, M.; DAEMON, E. Prevalência e variação dos estádios eritrocíticos do *Plasmodium* (*Novyella*) *juxtannucleare* em *Gallus gallus* sob condições naturais, no período de um ano. *Parasitologia Latino americana* v.59, n.1, p. 14-20. 2004.
- SOUZA, P.C.A. *Malária aviária: Parasitismo por Plasmodium* (*Novyella*) *juxtannucleare* Versiani & Gomes, 1941 em *Gallus gallus* L. de criações rústicas, nas mesorregiões do estado do Rio de Janeiro e aspectos clínicos e patológicos de sua infecção experimental. 1998. 137f. Tese (doutorado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica. 1998
- VERSIANI, V.; GOMES, B.F. Sobre um novo hematozoário de galinha, *Plasmodium juxtannucleare* (nota prévia). *Revista Brasileira de Biologia*, v. 1, n.1 p. 231-233. 1941.
- VERSIANI, V.; GOMES, B.F. *Plasmodium juxtannucleare*, parasita de galinha doméstica (notas adicionais). *Revista Brasileira de Biologia*, v. 3, n.1 p.113-117. 1943.

Recebido em 30 de abril de 2008.

Aceito para publicação em 14 de setembro de 2008.