

Efeitos de doses elevadas da terbinafina e itraconazol em ratos Wistar

Ana Raquel Mano Meinerz^{*1}, Marlete Brum Cleff¹, Patrícia da Silva Nascente²,
Márcia de Oliveira Nobre³, Luiz Filipe Damé Schuch², Tatiana de Ávila Antunes²,
Melissa O. Xavier², Mário Carlos Araújo Meireles², João Roberto de Braga Mello¹

¹Departamento de Veterinária Preventiva, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul,
²Departamento de Veterinária Preventiva, Universidade Federal de Pelotas, ³Departamento de Clínica Veterinária,
Universidade Federal de Pelotas

Levando em consideração a importância da itraconazol e da terbinafina na terapia antifúngica, o estudo tem como objetivo avaliar os efeitos de altas doses de itraconazol (100 mg/kg) e terbinafina (250 mg/kg) em ratos albinos wistar através das análises das enzimas hepáticas (ALT e ALP), hemograma completo e estudo histopatológico de diferentes órgãos. Os fármacos foram administrados pela via oral, uma vez ao dia, por um período de 30 dias, quando foi coletado sangue e realizado a necrópsia dos animais experimentais. Os valores detectados das enzimas hepáticas e do hemograma foram compatíveis aos índices fisiológicos para a espécie estudada não sendo observadas diferenças estatísticas entre os grupos experimentais. A histopatologia não revelou nenhuma anormalidade, porém 25% dos animais tratados com terbinafina morreram imediatamente após a administração do fármaco. Com esses resultados concluiu-se que as doses administradas dos fármacos não alteraram as enzimas hepáticas avaliadas, assim como o hemograma, sendo, no entanto, necessários mais estudos que possibilitem considerar doses elevadas da terbinafina e itraconazol como alternativa terapêutica viável para o tratamento de micoses sistêmicas.

Unitermos

- Antifúngicos
- Itraconazol
- Terbinafina
- Micoses

*Correspondência:

A. R. M. Meinerz
Departamento de Veterinária
Preventiva
Universidade Federal de Pelotas
Caixa Postal 354 - Campus
Universitário
96010-900 - Pelotas - RS, Brasil
E-mail: rmeinerz@bol.com.br

INTRODUÇÃO

Os fármacos antifúngicos disponíveis são, ainda, em número limitado, sendo que as principais famílias de antifúngicos compreendem os poliênicos, azólicos, tiocarbamatos, alilaminas, derivados morfolínicos, 5-fluorocitosina e griseofulvina. Os agentes antifúngicos, na sua maioria, produzem efeitos tóxicos, devido aos fungos compartilharem, com a célula do hospedeiro humano, o caráter

eucariota, com conseqüentes similaridades bioquímicas e fisiológicas, que limitam muito o arsenal terapêutico (Odds, 2003; Catalán, Montejo, 2006). Os iodetos foram as primeiras substâncias utilizadas na terapia antifúngica, tanto nos homens quanto nos animais, especialmente no tratamento da esporotricose, representando uma alternativa eficaz e de baixo custo. Porém, os preparados contendo iodo tiveram seu uso limitado devido aos freqüentes efeitos tóxicos, especialmente na espécie felina (Coskun *et al.*, 2004).

O itraconazol, antifúngico do grupo dos triazóis, emergiu como uma alternativa terapêutica eficaz, com reduzidos efeitos colaterais em relação aos outros antifúngicos, sendo introduzido, em 1992, para o tratamento da aspergilose, histoplasmose e blastomicose, ampliando, posteriormente, o seu espectro de ação frente a diversas espécies de fungos patogênicos. As vantagens relacionadas ao fármaco levaram ao intenso uso, sendo, atualmente, um dos antifúngicos mais utilizados nas clínicas médicas humana e veterinária. Entretanto, devido, principalmente, ao seu uso indiscriminado têm sido observados freqüentes relatos de isolados fúngicos resistentes, conseqüentemente falhas terapêuticas e remissão de enfermidades micóticas (Kauffman *et al.*, 2000; Pierad *et al.*, 2000; Rochette *et al.*, 2003; Schubach *et al.*, 2004; Catalán, Montejo, 2006).

A terbinafina, antifúngico do grupo das alilaminas, tem amplo espectro de ação *in vitro* e *in vivo* frente a fungos responsáveis por micoses superficiais e sistêmicas. O fármaco apresenta natureza lipofílica e queratofílica, o que leva ao seu acúmulo no tecido adiposo e queratinoso. Devido a essas características é considerado o antifúngico de eleição para o tratamento das dermatofitoses e onicomicoses (Hay, 1999; Perez, 1999; Ryder, 1999; Jessup *et al.*, 2000; Darkes *et al.*, 2003).

O itraconazol e a terbinafina possuem entre si particularidades relacionadas ao mecanismo de ação e toxicidade que devem ser consideradas. Ambos agem inibindo enzimas envolvidas com a síntese do ergosterol, porém a terbinafina atua mais precocemente na cadeia da biossíntese tendo um efeito primário fungicida, enquanto o itraconazol provoca a inibição de enzimas dependentes do citocromo P-450, com efeito, primariamente fungistático. A interação do itraconazol com o citocromo P-450 pode causar alterações nas enzimas hepáticas e a inibição do sistema enzimático dos mamíferos, como os envolvidos com a síntese dos hormônios esteróides e prostaglandinas, que são dependentes deste citocromo (Doncker, 1999; Jaham *et al.*, 2000; Pierad *et al.*, 2000).

Os principais efeitos colaterais descritos para terbinafina e itraconazol envolvem, principalmente, o sistema gastrointestinal, sendo os mais comumente relatados náuseas, vômitos, dor e desconforto abdominal. Devido aos fármacos serem metabolizados no fígado, podem ser observadas alterações nas enzimas hepáticas. Estudos demonstraram que a concentração hepática do itraconazol é até três vezes maior que os níveis plasmáticos, sendo recomendada a monitoração das enzimas hepáticas durante o tratamento com o fármaco (Amichai, Grunwald, 1998; Catalán, Montejo, 2006).

Considerando a importância do itraconazol e terbinafina na terapia antifúngica, assim como o reduzido

número de antifúngicos disponíveis para o tratamento das micoses sistêmicas, o estudo teve como objetivo avaliar os efeitos desses fármacos em animais experimentais administrando doses maiores do que as recomendadas.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados 40 ratos norvergicus (*Rattus rattus*), albinos, linhagem Wistar, com oito semanas de idade, machos e com peso médio de 300 g. Os animais foram alojados no Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas (UFPeL), sendo mantidos em condições constantes de umidade, temperatura e ciclo de claro e escuro, recebendo dieta de acordo com o peso corporal e água “ad libitum” durante o período experimental.

Os animais foram distribuídos em quatro grupos experimentais: Grupo tratado terbinafina (os quais foram administrados 250 mg/kg de terbinafina diluída em uma solução contendo 1% de Tween 20 e 5% de DMSO); grupo tratado itraconazol (administrando 100 mg/kg de itraconazol diluído em água destilada estéril) e os grupos diluente terbinafina e diluente itraconazol, em que foram administrados os respectivos diluentes de cada fármaco.

A administração dos fármacos e diluentes foi realizada uma vez ao dia, pela via oral com o auxílio de uma sonda orogástrica, durante o período de 30 dias, em todos os animais experimentais. Durante o estudo, os animais foram avaliados, a fim de observar alterações físicas e/ou comportamentais.

No final do período experimental foi coletado sangue através de punção-cardíaca, para a realização do hemograma completo e perfil hepático. As enzimas hepáticas (Alanina aminotransferase-ALT e Fosfatase alcalina-ALP) foram analisadas através do Kit comercial Lab-test, executado de acordo com as normas do fabricante, com a posterior leitura em aparelho espectrométrico. Os exames laboratoriais foram realizados no laboratório de Patologia Clínica da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas-UFPeL.

Após a coleta de sangue, os animais foram sacrificados através de anestesia profunda e necropsiados, sendo coletados órgãos do sistema digestório, rins, gânglios e tecido subcutâneo. Os órgãos colhidos para o exame histopatológico foram acondicionados em formol a 10%, sendo, posteriormente, incluídos em parafina e processados, utilizando-se coloração de HE (Hematoxilina-Eosina) e PAS (Ácido Periódico-Schiff), para posterior análise histopatológica.

Foi realizada análise de variância através do teste ANOVA e a comparação entre médias pelo teste de Tukey a 0,05 de significância, utilizando o programa Statistix 8.0,

para estimar as alterações referentes ao hemograma completo, assim como das enzimas hepáticas avaliadas, nos animais submetidos ao tratamento antifúngico.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados referentes às análises da Alanina Aminotransferase (ALT) e Fosfatase Alcalina (ALP) nos animais pertencentes a todos os grupos experimentais, apresentaram valores dentro dos limites normais para a espécie estudada (Harkness, Wagner, 1995; Farias *et al.*, 2000), não existindo diferenças significativas entre os tratamentos, confirmado pelo teste de Tukey a 0,05 de significância (Tabela I). Em relação à análise histopatológica dos órgãos e tecidos coletados para necrópsia, não foram evidenciadas quaisquer alterações, em todos os grupos experimentais avaliados, assim como nos gânglios analisados (Figura 1).

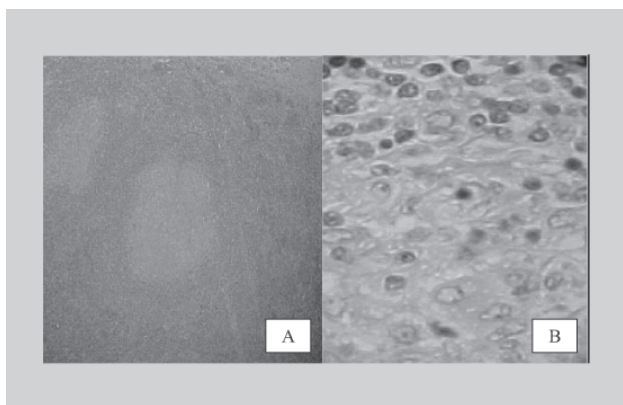


FIGURA 1 - Corte histológico de linfonodo poplíteo de animais do grupo tratado itraconazol com presença de linfócitos, macrófagos e fibroblastos em coloração de PAS (100X-A e 400X-B).

As doses preconizadas para terbinafina no tratamento de micoses superficiais correspondem a 250 mg, enquanto que para o itraconazol são de 100 mg a 400 mg/dia para micoses cutâneas e sub-cutâneas (De Pauw *et al.*, 2000). Neste estudo, as altas doses administradas dos fármacos não provocaram alteração na função hepática, assim como

não produziram efeitos tóxicos para os hepatócitos durante o período estudado.

Em se tratando da terbinafina, tem-se descrito relação entre as concentrações disponíveis do fármaco conforme o diluente utilizado. Kan e Bennet (1988) observaram que a terbinafina diluída em uma solução com 1% Tween 20 e 5% DMSO em água destilada resultou em maiores níveis plasmáticos do fármaco. Estudos têm demonstrado que a ação da terbinafina é dose-dependente, alcançando concentrações maiores no plasma quando administrada em doses elevadas (Hosseini-Yeganeh, McLachlan, 2002; Chapman *et al.*, 2004). O efeito semelhante tem sido observado com o itraconazol, que, quando administrado em doses maiores, resulta no aumento das concentrações plasmáticas, ocorrendo, conseqüentemente, uma ação mais efetiva do fármaco. O declínio dos níveis plasmáticos a valores inferiores a 6 µg/mL foi relacionado com a redução da atividade e a falhas terapêuticas (Pierard *et al.*, 2000).

Os efeitos hepatotóxicos provocados pela terbinafina são de rara ocorrência, sendo que a elevação da ALT, AST e da bilirrubina ocorre em menos de 10% dos pacientes. Embora disfunção hepática não seja um sinal clínico relevante de intoxicação, têm sido relatados casos de pacientes que desenvolveram hepatotoxicidade, com o aumento transitório das enzimas hepáticas, normalizando com a interrupção do tratamento (Amichai, Grunwald, 1998; Brustein *et al.*, 2004).

Em relação ao itraconazol, o aumento temporário das enzimas hepáticas é o efeito colateral mais frequentemente descrito em humanos, sendo geralmente, reversível e transitório. Porém, o uso de altas doses por um período prolongado aumenta a eliminação do fármaco no soro, o que pode contribuir para a toxicidade hepática. (Amichai, Grunwald, 1998; Pierard *et al.*, 2000; Odds, 2003).

Quanto aos resultados correspondentes ao hemograma, eritrograma (hematócrito, hemoglobina e contagem de hemácia) e leucograma (leucócitos, neutrófilos e linócitos) resultaram em níveis fisiológicos para a espécie estudada (Harkness, Wagner, 1995), tanto em relação à terbinafina como para o itraconazol (Tabela II), não havendo diferenças significativas entre os tratamentos, confirmado pelo teste de Tukey a 0,05 de significância.

TABELA I - Valores referentes aos níveis da Alanina aminotransferase (ALT) e Fosfatase Alcalina (FA) dos animais experimentais submetidos a administração dos fármacos antifúngicos e seus respectivos diluentes

Enzimas avaliadas	TT	DT	TI	DI
ALT (UI/L)	30 -36	20 -42	26 -45	29 - 45
ALP (UI/L)	39,2 - 50,7	38 - 72,1	40 - 50,7	42,4 - 64,3

TT-tratado terbinafina; DT-diluente terbinafina; TI-tratado itraconazol; DI-diluente itraconazol.

TABELA II - Valores referentes a série branca e série vermelha dos animais experimentais submetidos à administração dos fármacos antifúngicos e seus respectivos diluentes

Parâmetros avaliados	TT	DT	TI	DI
Contagem de células vermelhas (x10 µL)	6,6-7,0	7,0-7,5	6,5-8,0	6,5-7,5
Hemoglobina (g/dL)	12-15	12,5-14	14-15	13,5-15
Hematócrito (%)	38-40	39-40	38-42	38-40
Plaquetas (x10 µL)	650-720	660-700	600-730	640-700
Contagem de células brancas (x10 µL)	6,0-9,0	7,0-9,0	6,0-9,5	6,5-9,0
Neutrófilos (x10 µL)	2,0-3,0	2,5-3,0	1,9-3,2	2,0-3,5
Linfócitos (x10 µL)	6,0-7,5	6,5-7,0	6,5-8,0	6,0-7,0
Volume de sangue total (mL/kg)	55-60	58-60	56-59	55-63

TT-tratado terbinafina; DT-diluyente terbinafina; TI-tratado itraconazol; DI-diluyente itraconazol

Durante o período experimental foram evidenciadas alterações físicas no grupo tratado-terbinafina como: distensão abdominal, salivação prévia à administração do fármaco, redução de apetite e agressividade. No decorrer do estudo, 25% (5/20) destes animais vieram ao óbito imediatamente após sondagem oral, não sendo evidenciadas alterações na análise histopatológica. Provavelmente, os óbitos ocorreram devido aos efeitos colaterais descritos para o fármaco, o que poderia favorecer a falsa- via na passagem da sonda. A mudança de comportamento, provavelmente, foi devida ao desconforto provocado pela ação do fármaco. Kan e Bennet (1988) também registraram a morte por falsa- via em animais experimentais quando administraram terbinafina associada aos mesmos diluentes utilizados neste estudo.

CONCLUSÃO

A administração de altas doses de terbinafina e itraconazol não ocasionou alterações no hemograma, nas enzimas hepáticas e no exame histopatológico dos animais experimentais, necessitando, no entanto, análises complementares que contribuam aos avanços dos estudos da terapia antimicótica, especialmente nas micoses sistêmicas, em que altas doses de fármacos antifúngicos são requeridas.

ABSTRACT

Effects of high doses of terbinafina and itraconazole in Wistar rats

Taking into account the importance of the itraconazole and terbinafina in the antifungal therapy, the study has as objective evaluate the effects of high itraconazole doses (100 mg/kg) and terbinafina (250 mg/kg) in rats albino Wistar through the analyses of the hepatic enzymes (ALT

and ALP), complete blood count and histopathologic study of different organs. The drugs were administered orally once a day, for a period of 30 days, when blood was collected and accomplished the necropsy of the experimental animals. The detected values of the hepatic enzymes and of the blood count were compatible to the physiologic indexes for the studied species with no statistical differences among the experimental groups. The histopathologic exam did not reveal any abnormality, however 25% of the treated with terbinafina died immediately after the administration of the drug. With those results we concluded that the administered doses of the drugs did not alter the appraised hepatic enzymes, as well as the blood count. However, more studies are needed to consider high doses of the terbinafina and itraconazole as viable treatment alternative for systemic mycosis.

UNITERMS: Antifungal. Itraconazole. Terbinafina. Mycosis.

REFERÊNCIAS

- AMICHAÏ, B; GRUNWALD, M. H. Adverse drug reactions of the new oral antifungal agents-terbinafina, fluconazole and itraconazole. *Int. J. Dermat.*, v. 37, p. 410-415,1998.
- BURSTEIN, Z; VILDÓSOLA, H; LOZANO, Z; VERONA, R; VARGAS, G. Hepatitis tóxica colestásica por terbinafina: reporte de caso. *Rev. Gastroenter.*, v. 24, p. 357-362, 2004.
- CATALÁN, M.; MONTEJO, J. C. Antifúngicos sistêmicos. *Rev. Iberoam. Micol.*, v. 23, p. 39-49, 2006.
- DE PAUW, B. E. New antifungal agents and preparation. *Inter. J. Antimicrob. Agents*, v. 16, p. 147-150, 2000.

- CHAPMAN, S. W.; PAPPAS, P.; KAUFFMAN, C.; SMITH, E. B.; DIETZE, R.; TIRABOSCHI-FOSS, N.; RESTREPO, A.; BUSTAMANTE, A B.; OPPER, C.; EMADY-AZAR, S.; BACHI, R. Comparative evaluation of the efficacy and safety of two doses of terbinafine (500 and 1000 mg/day) in the treatment of cutaneous or lymphocutaneous sporotrichosis. *Mycoses*, v. 47, p. 62-68, 2004.
- COSKUN, B.; SARAL, Y.; AKPOLAT, N.; ATASEVEN, A.; ÇICEK, D. Sporotrichosis successfully treated with terbinafine and potassium iodide: case report and review of the literature. *Mycopathologia*, v. 158, p. 53-56, 2004.
- DARKES M. J, SCOTT, L. J, GOA, K. L. Terbinafine: a review of its use in onychomycosis in adults. *Am. J. Clin. Dermatol.*, v. 4, n. 1, p. 39-65, 2003.
- DONCKER, P. Itraconazole and terbinafine in perspective: from petri dish. *J. Eur. Acad. Dermat. Venerol.*, v. 12, p. 10-16, 1999.
- FARIAS, E. A.; FONTES, P. R. O.; RHODEN, C. R.; LUCAS, M. L.; LEAL, M. L. M.; SABEDOTTI, E. L. A. Acompanhamento de um modelo de indução de cirrose em ratos mediante a videolaparoscopia. *Acta Cirurg. Bras.*, v. 15, p. 163-167, 2000.
- HARKNESS, J. E.; WAGNER, J. E. The biology and medicine of rabbits and rodents. Baltimore: Williams and Williams, 1995. 372 p.
- HAY, R. J. Therapeutic potential of terbinafine in subcutaneous and systemic mycoses. *Br. J. Dermatol.*, v. 141, p. 36-40, 1999.
- HOSSEINI-YEGANEH, M.; McLACHLAN, A. Physiologically based pharmacokinetics model for terbinafine in rats and humans. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v. 46, p. 2219-2228, 2002.
- JAHAM, C.; PARADES, M.; PAPICH, M. G. Antifungal dermatologic agents: azoles and allylamines. *Anim. exot. small mag.*, v.22, n.6, p.548-558, 2000.
- JESSUP, C. J.; RYDER, N. S.; GHANNOUM, M. A. An evaluation of the *in vitro* of terbinafine. *Med. Micol.*, v.38, n.2, p. 155-159, 2000.
- KAN, V. L.; BENNETT, J. E. Efficacies of four antifungal agents in experimental murine sporotrichosis. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v. 32, n. 11, p. 1619-23, 1988.
- KAUFFMAN, C. A.; HAJJEH, R.; CHAPMAN, S. W. Practice Guidelines for the management of patients with sporotrichosis. *Clin. Infect. Dis.*, v. 30, p. 684-687, 2000.
- ODDS, F. C. Antifungal agents: their diversity and increasing sophistication. *Mycologist*, v. 17, p. 51-55, 2003.
- PEREZ, A. Terbinafine: broad new spectrum of indications in several subcutaneous and systemic and parasitic diseases. *Mycoses*, v. 42, p. 111-114, 1999.
- PIERARD, G. E.; ARRESE, J. E.; PIERARD-FRANCHIMONT, C. Itraconazole. *Expert Opin. Pharmacother.*, v. 1, n. 2, p. 287-304, 2000.
- ROCHETTE, F; ENGELLEN, M; VANDEN BOSSCHEM, H. Antifungal agents of use in animal health-practical applications. *J. Vet. Pharmacol.*, v. 26, p. 31-53, 2003.
- RYDER, N. S. Activity of terbinafine against serious fungal pathogens. *Mycoses*, v. 42, p. 115-119, 1999.
- SCHUBACH T. M. P, SCHUBACH, A. O, KAMOTO BARROS, T. M. B. L, FIGUEIREDO, F. B, CUZZI, T, FIALHO-MONTEIRO, P. C, REIS, R. S; PEREZ, M. A. Evaluation of an epidemic of sporotrichosis in cats: 347 cases (1998–2001). *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v. 224, p. 1623-1629, 2004.

Recebido para publicação em 30 de julho de 2006.

Aceito para publicação em 29 de março de 2007.