
Pesquisa Acadêmica

**AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTI-HELMÍNTICO DO FÁRMACO
CINARIZINA EM *SCHISTOSOMA MANSONI*.**

MARIANA GODOI DE BRITO
BACHAREL EM BIOMEDICINA
UNIVERSIDADE GUARULHOS – UNG
Mrngodoi211@gmail.com

DANIEL BRENNEISEN ROQUINI
ESTUDANTE DE MESTRADO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENFERMAGEM
UNIVERSIDADE GUARULHOS – UNG
Daniel.roquini@outlook.com

MARCOS PAULO NASCIMENTO DA SILVA
MESTRE EM CIÊNCIAS
UNIVERSIDADE GUARULHOS
marcos.npdn@gmail.com

JOSUÉ DE MORAES
ORIENTADOR
UNIVERSIDADE GUARULHOS
moraesnpdn@gmail.com

**NÚCLEO DE PESQUISAS EM DOENÇAS NEGLIGENCIADAS -NPDN
UNIVERSIDADE GUARULHOS**

AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTI-HELMÍNTICO DO FÁRMACO CINARIZINA EM *SCHISTOSOMA MANSONI*.

RESUMO:

A esquistossomose é uma das Doenças Negligenciadas, que afeta mais de 200 milhões de pessoas em várias partes do mundo. Esta infecção é resultado de diferentes espécies de Schistosomas, como o *Schistosoma mansoni*, que é encontrado no hospedeiro próximo a veia porta no fígado ou também na região mesentérica. São nessas regiões que o parasita deposita uma quantidade significativa de ovos, para então eclodirem e assim liberar os miracídios. A partir disso, com o seu desenvolvimento, irá estimular o aparecimento de granulomas crônicos, especialmente no fígado, que acarretará na manifestação da doença, conhecida como esquistossomose. Para se combater esta patologia, há no mercado um único fármaco já conhecido, o praziquantel, que tem como suposta ação o bloqueio dos canais de cálcio, o que resultará na morte do verme. Contudo, novos estudos demonstram que há alguma resistência de novos parasitos tolerantes/resistentes. Diante dessa situação, são estudadas previamente novas alternativas terapêuticas com fármacos conhecidos para o tratamento de esquistossomose. A Cinarizina, um inibidor de receptores de histamina (H1), demonstrou o efeito em vermes adultos de *Schistosoma mansoni*. Com isso, o presente estudo tem com finalidade o estudo do efeito antiparasitário do anti-histamínico da Cinarizina em *Schistosoma mansoni* in vitro.

PALAVRAS-CHAVE: Antiparasitário; Anti-histamínico; *Schistosoma mansoni*.

1. INTRODUÇÃO:

A esquistossomose é uma das Doenças Negligenciadas em varias partes do mundo, onde são causada por agentes parasitários que acomete classes sociais pobres, moradia precoca, sem condições adequadas de trabalho, de educação e saneamento básico. Essa patologia acomete mais de 230 milhões de pessoas, o que resulta em milhares de mortes por ano, estabelecendo a manutenção do quadro de desigualdade, representando um obstáculo no desenvolvimento de países (SONG et al., 2016).

Essa doença é causada por helmintos, conhecidos como *Schistosoma mansoni*, *S. haematobium*, *S. japonicum*, *S. intercalatum* e *S. mekongi*. O *Schistosoma mansoni* esta presente em cerca de 50 países no continente africano e americano, no qual são conhecidas como esquistossomose mansônica (COLLEY et al., 2014).

Com grandes particularidades, o *Schistosoma mansoni* possui diversas fases e vive em hospedeiros e ambientes diferentes, tendo alta capacidade de adaptação, multiplicação e resistência. As fases do ciclo biológico são divididas em duas: no hospedeiro intermediário e hospedeiro definitivo. Durante as fases parasitárias, há dois períodos de vida livre: miracídio e cercaria (GRYSEELS et al., 2006; COLLEY et al., 2014). O *Schistosoma mansoni* realiza ciclo assexuado nos moluscos do gênero *Biomphalaria* e os espécimes adultos são encontrados nos vasos mesentéricos e no sistema porta hepático (SONG et al., 2016). A esquistossomose é diagnosticada através da detecção de ovos de parasitas em amostras de fezes ou através de técnicas sofisticadas utilizando anticorpos e ou antígenos detectados em amostras de sangue.

Atualmente, o tratamento mais eficaz tem sido a quimioterapia. Porém há um fármaco utilizado no controle desta patologia, conhecido como praziquantel. O praziquantel é administrado via oral em dose única, onde atuará contra todas as espécies de *Schistosoma*, contudo, os resultados com o uso desse fármaco têm sido menos promissores quanto o esperado, pois não atua na forma jovem do parasita, além de surgir preocupações quanto à resistência ao fármaco (FENWICK, WEBSTER, 2006; CIOLI et al., 2014).

Como o desenvolvimento de novos fármacos pode demorar para atingir o mercado, o nosso grupo iniciou novos estudos diante do quadro de dificuldade de formulações de novos fármacos esquistossomicidas e o tempo de liberação para o mercado, Com isso, nosso núcleo de pesquisa demonstrou que o anti-histamínico Cinarizina obteve atividade antiparasitária. Logo, é fundamental o uso das substâncias farmacológicas conhecidas e que já tem aprovação da agência reguladora, que juntamente com o praziquantel, possam ajudar no combate a esta patologia que assola metade da população mundial.

2. OBJETIVOS:

- Avaliar o efeito Anti-helmíntico do fármaco Cinarizina em *Schistosoma mansoni*.
- Determinar a Concentração Letal 50% (LC 50).

3. METODOLOGIA:

3.1 Animais

O ciclo de vida do parasita em laboratório é mantido em moluscos da Espécie *Biomphalaria glabrata*, onde são infectados com miracídios recém-eclodidos de ovos, através de uma técnica de exposição à luz realizada no Núcleo de Pesquisa em Doenças Negligenciadas (NPDN). Os camundongos SWISS recém-desmamados foram obtidos da empresa ANILAB ®. Espera-se um dia até que os animais se adaptem ao ambiente e após esse tempo iniciamos o procedimento. Os caramujos são expostos à luz, realizando assim a liberação de cercárias para infecção nos camundongos. Os camundongos foram infectados com 80 cercárias de *S. mansoni* (linhagem BH). Todos os animais foram mantidos sob condições ambientais controladas (temperatura 25 ° C, umidade 70%) e tiveram acesso à água filtrada e alimentada com ração para roedores. (MORAES, 2012; RODRIGUEZ-MORALES, 2012).

3.2. Dados do fármaco

Cinarizina

Classe	Anti-histaminico
Biodisponibilidade	64% - 80%
DL 50	-----
Meia vida	50 horas
Massa (g/mol)	368.524 g/mol
Log p	5.77
Geração	Segunda

Fonte: PubChem.

3.3. Comitê de Ética

Procedimentos envolvendo animais foram realizados de acordo com a legislação brasileira. O protocolo de manutenção do ciclo de vida de *S. mansoni* foi aprovado pelo comitê de ética local em testes em animais.

3.4. Avaliação de medicamentos in vitro

Vermes adultos (49 dias), recém recuperados de hospedeiros roedores, foram colocados em pares e lavados cuidadosamente em meio RPMI 1640 mantido a pH 7,5 com 25 mM de HEPES suplementado com 10% de soro fetal bovino e contendo 200 UI / mL de penicilina e estreptomicina 200 µg / mL. Após a lavagem, os esquistossomas foram incubados em uma placa de cultura de células de 24 poços posteriormente colocados em estufa, contendo o mesmo meio a 37 ° C em atmosfera com 5% de CO₂.

Os fármaco descrito utilizado para obter concentrações de teste finais de 50 a 12,5 µM (50, 25, 12,5µM) em placas de cultura com um volume final de 1 mL. Os parasitas foram mantidos por 72 horas e monitorados a cada 24 horas usando um microscópio invertido. O efeito do medicamento foi avaliado com ênfase nas mudanças na atividade motora dos vermes e na morte dos vermes. Mudanças no acasalamento e produção de ovos também foram avaliadas. Todos esses testes foram realizados em triplicatas

3.7. Análise microscópica do tegumento

Estudos de microscopia eletrônica de varredura (MEV) também foram realizados. Após o período de monitoramento ou mortalidade dos vermes eles foram fixados para a análise do tegumento. foram lavados duas vezes em solução salina tamponada com fosfato e fixados em 1 mL de solução de álcool FAA ou FAA - formalina - ácido acético. Os espécimes foram secos ao ar, montados em fita e banhados a ouro utilizando um dispositivo de revestimento por pulverização de mesa II (Denton Vacuum LLC, Moorestown, NJ). As amostras foram então visualizadas usando uma microscopia eletrônica de varredura JSM-6460LV de alta resolução JEOL (JEOL Ltd., Tokyo, Japan) 20 kV.

4. Resultados:

Table 1. *In vitro* effects of compounds against 49-day-old adult *Schistosoma mansoni*.

Group	Period of incubation (h)	Dead worms (%) ^a		Motor activity reduction (%) ^a			
				Slight		Significant	
		M	F	M	F	M	F
Control	24	0	0	0	0	0	0
	48	0	0	0	0	0	0
	72	0	0	0	0	0	0
0.5% DMSO	24	0	0	0	0	0	0
	48	0	0	0	0	0	0
	72	0	0	0	0	0	0
Praziquantel	24	100	100	0	0	100	100
2 μ M	48	100	100	0	0	100	100
	72	100	100	0	0	100	100
Cinarizina	24	60	60	0	0	60	60
	48	100	100	0	0	100	100
	72	100	100	0	0	100	100
50 μ M	24	100	0	0	100	100	0
	48	100	0	0	100	100	0
	72	100	0	0	100	100	0
25 μ M	24	100	0	0	100	100	0
	48	100	0	0	100	100	0
	72	100	0	0	100	100	0
12.5 μ M	24	30	0	0	0	30	0
	48	60	0	0	0	60	0
	72	100	0	0	0	100	0

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS:

O ensaio *in vitro* demonstrou que os esquistossomos incubados com o fármaco cinarizina apresentaram alterações em sua atividade motora e aumento na mortalidade de maneira dependente da concentração.

Imagens de microscopia eletrônica de varredura indicaram que a estrutura tegumentar estava alterada tanto em machos quanto em fêmeas de *S. mansoni* e intensificou-se progressivamente quando a concentração de cinarizina aumentou. Essas alterações morfológicas foram semelhantes às relatadas em estudos com outros compostos anti-helmínticos.

Esses resultados indicam que a cinarizina poderia ser um tratamento potencial para a esquistossomose, isoladamente ou em combinação com o praziquantel, e torná-lo promissor para o reposicionamento de fármacos e posteriormente estamos realizando demais estudos como o efeito anti-helmíntico *in vivo*.

6. AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi realizado com o apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP). Marcos P.N Silva foi bolsista de Mestrado da coordenação de aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Daniel Brenneisen Roquini é bolsista de Mestrado da coordenação de aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Josué de Moraes é bolsista Produtividade em Pesquisa do CNPq.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

World Health Organization. Schistosomiasis and soil transmitted helminthiases: number of people treated in 2016. Weekly Epidemiological Record 2017; 92: 749–760.

LAGO EM, XAVIER RP, TEIXEIRA TR et al. **Antischistosomal agents: state of art and perspectives.** Future MedChem 2018; 10: 89-120.

SILVA MP, de OLIVEIRA RN, et al. **Antiparasitic activity of nerolidol in a mouse model of schistosomiasis.** *Int J Antimicrob Agents* 2017; 50: 467-72.

deMORAESJ,deOLIVEIRARN,COSTAJP,JUNIORAL,deSOUZADP,FREITASRM,ALL
EGRETI SM, PINTO PL. 2014. **Phytol, a diterpene alcohol from chlorophyll, as a drug against neglected tropical disease schistosomiasis mansoni.** *PLoS Negl Trop Dis* 8:e2617.

SILVIA MP, OLIVEIRA GL, de CARVALHO RB, de SOUZA DP, FREITAS RM, PINTO PL, de MORAES J. 2014. **Antischistosomal activity of the terpenoid nerolidol.** *Molecules* 19: 3793-803.

SILVA, A.P.; SILVIA, M.P.; OLIVEIRA C.G.; MONTEIRO D.C.; PINTO P.L.; MENDONÇA R.Z.; COSTA JUNIOR J.S.; FREITAS R.M.; de MORAES J. **Garcinielliptone FC: antiparasitic activity without cytotoxicity to mammalian cells.** 2015. *Toxicol In Vitro* 29: 681-687, 2015.

