
Pesquisa Acadêmica

**ESTUDO DO EFEITO ANTI-PARASITÁRIO DO FÁRMACO
PROMETAZINA EM *SCHISTOSOMA MANSONI*.**

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 PESQUISA EM DOENÇAS NEGLIGENCIADAS - NPDN,
UNIVERSIDADE GUARULHOS – UNG**

ESTUDO DO EFEITO ANTI-PARASITÁRIO DO FÁRMACO PROMETAZINA EM *SCHISTOSOMA MANSONI*.

RESUMO:

A esquistossomose é uma doença parasitária causada por vermes trematódeos do gênero *Schistosoma*. A transmissão da doença foi relatada em mais de 70 países e a única droga eficaz conhecida para combater a esquistossomose é o praziquantel.

No entanto, o composto não tem a mesma eficácia contra a fase juvenil do verme. O ensaio in vitro demonstrou que os esquistossomos incubados com o fármaco prometazina apresentaram alterações em sua atividade motora e aumento na mortalidade de maneira dependente da concentração.

Além disso, dada à importância do tegumento do esquistossomo como alvo de drogas, permitiram avaliarmos a superfície de vermes expostos à prometazina.

Contudo existe uma dificuldade em desenvolver novos fármacos esquistossomicidas portanto uma das estratégias mais promissoras seria o reposicionamento de fármacos .

Palavras chave: Antiparasitário; Anti-histamínico; *Schistosoma mansoni*.

1. INTRODUÇÃO:

A esquistossomose é uma doença parasitária causada por vermes trematódeos do gênero *Schistosoma*. A transmissão da doença foi relatada em mais de 70 países. A esquistossomose é prevalente em áreas tropicais e subtropicais, especialmente em países pobres, sem acesso a saneamento básico. Estima-se que mais de 90 % dos que necessitam de tratamento para a esquistossomose vivem na África. (WHO, 2017)

É uma doença de grande importância em saúde pública que causa cerca de 200 mil mortes por ano no mundo, sendo assim a segunda infecção parasitária mais letal, atrás apenas da malária. No Brasil, a esquistossomose é endêmica em 19 estados. Acredita-se haver, no território nacional,

entre 6 e 8 milhões de indivíduos infectados e 26 milhões correm o risco de infecção. (AMARAL et al 2006).

Existem 2 formas principais de esquistossomose - intestinal e urogenital - causadas por 5 principais espécies, sendo as intestinais o *Schistosoma mansoni*, *Schistosoma japonicum*, *Schistosoma mekongi* e *Schistosoma guineenses*, e a urogenital causada por *Schistosoma haematobium*. Os sintomas da esquistossomose no organismo são causados pela reação ovos dos vermes. A esquistossomose intestinal pode resultar em dor abdominal, diarreia e sangue nas fezes. O aumento do fígado é comum em casos avançados e é frequentemente associado a um acúmulo de líquido na cavidade peritoneal e à hipertensão dos vasos sanguíneos abdominais. Em tais casos, também pode haver aumento do baço. A esquistossomose é diagnosticada através da detecção de ovos de parasitas em amostras de fezes ou urina. Anticorpos e ou antígenos detectados em amostras de sangue ou urina também são indicações de infecção. (WHO, 2017)

O único fármaco conhecido para combater a esquistossomose é o praziquantel. Acredita-se que atue bloqueando os canais de cálcio no verme adulto, causando contrações e aumento da atividade muscular, consequentemente há uma separação do verme com o tecido do hospedeiro e acaba sendo deslocado das veias mesentéricas para o fígado onde elas ser expulso. No entanto, o composto não tem a mesma eficácia contra a fase juvenil do verme. Há relatos de resistência e tolerância à droga, portanto, a dependência de apenas um medicamento gera uma ameaça considerável à saúde pública. Usar o reposicionamento de drogas é uma boa alternativa para se obter novas possibilidades de tratamento. (LAGO, 2018).

Os anti-histamínicos são geralmente usados para aliviar alergias. Essas drogas são amplamente utilizadas no tratamento de febre, rinite alérgica, conjuntivite e urticária. Existem quatro tipos de receptores de interação com histamina atualmente conhecidos, (HR) 1, (HR) 2, (HR) 3, e (HR) 4. Sabe-se que até agora apenas drogas que interagem com receptores (HR) 1 e (HR) 2 foi aprovado para uso em humanos, sendo estas drogas mais efetivas para o tratamento de alergias em geral. Essas drogas são divididas em primeira e segunda geração, sendo a (HR) 1 mais relacionada à mediação da contração do músculo liso, aumento da permeabilidade vascular, prurido, geração de prostaglandinas, diminuição da condução atrioventricular acompanhada de taquicardia e ativação dos reflexos vagais, funcionando como bons alvos para ações antialérgicas e mediadas por (HR) 2 da histamina na secreção de ácido gástrico sendo os melhores alvos para drogas anti-úlceras. (METZ, 2011).

Devido à dificuldade de descobrir novas drogas esquistossomicidas, e a quantidade de tempo para serem liberadas para o consumidor, uma boa alternativa foi usar o reposicionamento de fármacos. Neste estudo foi demonstrado que o anti-histamínico Prometazina obteve atividade antiparasitária, tanto na mortalidade e motilidade quanto na redução da oviposição. Nesse sentido, é fundamental o uso dessas substâncias farmacológicas e toxicológicas já conhecidas e que já obtiveram a aprovação das agências reguladoras, para que, juntamente com o praziquantel, possam auxiliar no combate a essa doença que atinge grande parte da população mundial.

2. OBJETIVOS:

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

3. METODOLOGIA:

3.1 Animais

Mantém um ciclo de moluscos do gênero *Biomphalaria* em laboratório, onde são infectados com miracídeos 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[®] para estudos in vivo. 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 animais foram infectados com 80 cercárias de *S. mansoni* (linhagem BH). Todos os camundongos 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)

3.2. Dados do fármaco

Prometazina

Classe		Anti-histaminico
Biodisponibilidade		13% e 49%
DL 50		255 m g/kg em camundongos
Meia vida		1 hora e 30 minutos a 3 horas
Massa (g/mol)		284,421
Log p		4.52
Geração		Primeira

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 (SILVA et al., 2014; de MORAES et al., 2014).

3.5. Análise microscópica do tegumento

Estudos de microscopia eletrônica de varredura (MEV) também foram realizados. O objetivo deste estudo foi observar se a prometazina pode causar alterações após o período de monitoramento ou mortalidade dos vermes e foram fixados para a análise do tegumento. Eles foram extraídos das veias mesentéricas e fígado como descrito acima e 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 ou Glutaldeído. 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) at an acceleration voltage of 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			
			Slight		Significant	
			M		M	
			F		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
	48	100	100	0	0	100	100
	72	100	100	0	0	100	100
2 μ M	24	100	100	0	0	100	100
	48	100	100	0	0	100	100
	72	100	100	0	0	100	100
Prometazina	24	100	100	0	0	100	100
	48	100	100	0	0	100	100
	72	100	100	0	0	100	100
50 μ M	24	100	60	0	0	100	60
	48	100	60	0	0	100	60
	72	100	100	0	0	100	100
25 μ M	24	100	60	0	0	100	60
	48	100	60	0	0	100	60
	72	100	100	0	0	100	100
12.5 μ M	24	0	100	100	0	0	100
	48	60	100	100	0	60	100
	72	100	100	0	0	100	100

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS:

O ensaio in vitro demonstrou que os esquistossomos incubados com o fármaco prometazina 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 prometazina aumentou. Essas alterações morfológicas foram semelhantes às relatadas em estudos com outros compostos anti-helmínticos.

Esses resultados indicam que a prometazina poderia ser um tratamento potencial para a esquistossomose, isoladamente ou em combinação com o praziquantel, e torná-lo promissor para o reposicionamento de farmacos.

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) Josué de Moraes é bolsista Produtividade em Pesquisa do CNPq.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

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

LAGO E.M; XAVIER R.P; TEIXEIRA T.R; et al. **Antischistosomal agents: state of art and perspectives.** Future Med Chem 2018; 10: 89-120.

SILVA M.P; de OLIVEIRA R.N; et al. **Antiparasitic activity of nerolidol in a mouse model of schistosomiasis.** *Int J Antimicrob Agents* 2017; 50: 467-72.

de MORAES J; de OLIVEIRA R.N; COSTA J.P; JUNIOR A.L; de SOUZA D.P; FREITAS R.M; ALLEGRETI S.M; PINTO P.L. 2014. **Phytol, a diterpene alcohol from chlorophyll, as a drug against neglected tropical disease schistosomiasis mansoni.** *PLoS Negl Trop Dis* 8: e2617.

SILVIA M.P; OLIVEIRA G.L; de CARVALHO R.B; de SOUZA D.P; FREITAS R.M; PINTO P.L; de MORAES J. 2014. **Antischistosomal activity of the terpene 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.

