

---

Pesquisa Acadêmica

# **AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTI-HELMÍNTICO *IN VITRO* DO TAMOXIFENO EM *SCHISTOSOMA MANSONI***

ANA CAROLINA ARAUJO MENGARDA

ESTUDANTE DE MESTRADO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENFERMAGEM

UNIVERSIDADE GUARULHOS – UNG

[ana.npdn@gmail.com](mailto:ana.npdn@gmail.com)

BIANCA CARLINI SILVA

BACHAREL EM BIOMEDICINA

UNIVERSIDADE GUARULHOS – UNG

[carlinibianca@gmail.com](mailto:carlinibianca@gmail.com)

THIAGO RAHAL MORAIS

DOUTOR EM CIÊNCIAS

UNIVERSIDADE GUARULHOS

[thiago\\_rahah@hotmail.com](mailto:thiago_rahah@hotmail.com)

JOSUÉ DE MORAES

ORIENTADOR

UNIVERSIDADE GUARULHOS

[moraesnpdn@gmail.com](mailto:moraesnpdn@gmail.com)

**NÚCLEO DE PESQUISA EM DOENÇAS NEGLIGENCIADAS - NPDN,  
UNIVERSIDADE GUARULHOS - UNG**

---

## **Avaliação do efeito anti-helmíntico *in vitro* do tamoxifeno em *Schistosoma mansoni***

### **1. RESUMO**

As doenças causadas por helmintos representam um importante problema para a saúde pública em diversos países. Dentre essas doenças destaca-se a esquistossomose, onde a falta de saneamento básico adequado contribui para a manutenção do ciclo do parasita. Infelizmente, o controle terapêutico dessa doença depende apenas de um fármaco, praziquantel. Perante a importância do “reposicionamento de fármacos” ou “redefinição de fármacos”, o presente estudo tem por objetivo avaliar o efeito anti-helmíntico da tamoxifeno, um medicamento utilizado para tratar câncer de mama, em *Schistosoma mansoni*. Os ensaios *in vitro* foram realizados utilizando machos e fêmeas com o intuito de analisar a viabilidade dos mesmos. Os resultados mostraram efeito anti-helmíntico promissor, tendo em vista a mortalidade dos vermes em 100% em um período de tempo imediato na concentração de 50  $\mu$ M.

**PALAVRAS-CHAVE:** Esquistossomose; Anti-helmíntico; Tamoxifeno; Reposicionamento.

### **2. INTRODUÇÃO**

As doenças causadas por helmintos representam um importante problema de Saúde Pública em diversos países. Particularmente, as esquistossomoses, denominadas também esquitossomíases ou bilharzioses, são doenças que, para o homem, têm como os principais agentes etiológicos as espécies *Schistosoma mansoni*, *S. haematobium*, *S. japonicum*, *S. intercalatum* e *S. mekongi*. *Schistosoma mansoni* está presente em mais de 50 países nos continentes africano e americano, onde determina uma infecção denominada esquitossomose mansônica (COLLEY et al., 2014).

O *Schistosoma mansoni* possui uma biologia muito interessante, pois passa por diversas fases e vive em hospedeiros e ambientes diversificados, com uma grande capacidade de adaptação, multiplicação e resistência. As fases do ciclo biológico do *S. mansoni* compreendem dois períodos de vida parasitária: um no hospedeiro intermediário e outro no hospedeiro

definitivo. Entre as fases parasitárias há dois períodos de vida livre em meio aquático: as fases de miracídio e cercária (GRYSEELS et al., 2006; COLLEY et al., 2014). *Schistosoma mansoni*, em geral, realizam ciclo assexuado nos moluscos do gênero *Biomphalaria*, enquanto que os espécimes adultos são encontrados nos vasos mesentéricos e no sistema porta de mamíferos em geral.

Do ponto de vista epidemiológico, a esquistossomose atinge uma grande massa da população mundial, sendo 200 milhões de pessoas atingidas e 800 milhões de pessoas possuem o risco de contrair a infecção. Esta doença é responsável por 280.000 a 500.000 mortes anualmente (STEINMANN et al., 2006). No Brasil, onde a espécie *Schistosoma mansoni* é prevalente, a esquistossomose é endêmica em 19 estados. Acredita-se haver, entre 6 e 8 milhões de indivíduos infectados e 26 milhões correm o risco de infecção em todo território nacional (AMARAL et al., 2006).

Atualmente a forma mais eficaz no tratamento da esquistossomose (COLLEY et al., 2014) é por meio de um único fármaco, o praziquantel (CIOLI et al., 2014). A droga existe desde 1977 e é administrada oralmente em dose única (40 mg/kg a 60 mg/kg), sendo empregada como antiparasitário de amplo espectro, têm ação contra todas as espécies do gênero *Schistosoma* que infectam o ser humano, além de ser eficaz na redução da morbidade (LAGO et al., 2018). Contudo, o possível surgimento de cepas fármaco-resistentes tornou-se um tema inquietante, justificando mais estudos para o desenvolvimento de novos tratamentos para a esquistossomose.

Tendo em vista a baixa viabilidade de investimento, por parte da indústria farmacêutica, no desenvolvimento de novos fármacos para doenças negligenciadas, a alternativa mais promissora encontrada é o “reposicionamento de fármacos” ou “redefinição de fármacos”. Esta abordagem tem como intuito a busca de novos tratamentos através de fármacos já aprovados e disponíveis no mercado.

Alicerçado nos estudos de triagem molecular, o presente estudo tem como objetivo avaliar o efeito anti-helmíntico do tamoxifeno, um modulador seletivo do receptor de estrógeno utilizado para tratar câncer de mama, em *Schistosoma mansoni*.

### **3. OBJETIVO**

O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito esquistossomicida *in vitro* do tamoxifeno.

### **4. METODOLOGIA**

Os ensaios *in vitro* com adultos de *S. mansoni* foram realizados com machos e fêmeas acasalados, cedidos pelo Instituto Adolfo Lutz. Os pares de vermes foram lavados 2 vezes com o meio RPMI 1640 contendo penicilina 200 U/ml, estreptomicina 200 µg/ml. Posteriormente, os parasitas acasalados foram transferidos em placas para cultura de células com 24 poços contendo, por poço, 1 casal de vermes em 2 ml do meio RPMI 1640 supracitado, porém suplementado com 10% de soro fetal bovino e tamponado com HEPES 25 mM. Inicialmente, na etapa de triagem, os vermes foram incubados com o fármaco tamoxifeno na concentração de 50 µM. Posteriormente, o fármaco foi avaliado usando diferentes concentrações (25 µM, 12,5 µM, 6,25 µM e 3,12 µM). Praziquantel 3 µM foi utilizado como controle positivo e poços contendo somente meio de cultura foram usados como controle negativo (MORAES, 2012).

As culturas de vermes adultos foram monitoradas por lupa. Para avaliar a toxicidade do fármaco sobre o *S. mansoni* foram considerados os seguintes parâmetros: atividade motora (motilidade), alterações morfológicas no tegumento e a capacidade reprodutiva (MORAES, 2012).

### **5. RESULTADOS PARCIAIS**

Nos ensaios *in vitro*, os parasitas adultos, foram submetidos a uma concentração de 50 µM do fármaco tamoxifeno e avaliados por um período de 72 horas. Após a concentração de 50 µM, os vermes foram submetidos a concentrações de 25, 12,5, 6,25, e 3,12 µM, na qual houve mortalidade dos vermes.

Na concentração inicial, 50  $\mu\text{M}$ , houve mortalidade de 100% dos vermes em tempo imediato de incubação; sendo o efeito analisado após a adição do fármaco. Na concentração de 25, 12,5 e 6,25  $\mu\text{M}$  houve 100% da mortalidade dos vermes em 24 horas. Enquanto em uma concentração de 3,12  $\mu\text{M}$  houve mortalidade de 30% das fêmeas em 24 horas e 60% dos machos em 48 horas. Tais resultados estão descritos na **Tabela 1**.

**Tabela 1.** Avaliação da atividade esquistossomicida *in vitro* do tamoxifeno.

| Grupo                         | Período de incubação (h) | Mortalidade dos vermes (%) |     | Redução da atividade motora (%) |    |              |     |
|-------------------------------|--------------------------|----------------------------|-----|---------------------------------|----|--------------|-----|
|                               |                          |                            |     | Leve                            |    | Significante |     |
|                               |                          | M                          | F   | M                               | F  | M            | F   |
| Controle                      | Imediato                 | 0                          | 0   | 0                               | 0  | 0            | 0   |
|                               | 24                       | 0                          | 0   | 0                               | 0  | 0            | 0   |
|                               | 48                       | 0                          | 0   | 0                               | 0  | 0            | 0   |
|                               | 72                       | 0                          | 0   | 0                               | 0  | 0            | 0   |
| 0.5% DMSO                     | Imediato                 | 0                          | 0   | 0                               | 0  | 0            | 0   |
|                               | 24                       | 0                          | 0   | 0                               | 0  | 0            | 0   |
|                               | 48                       | 0                          | 0   | 0                               | 0  | 0            | 0   |
|                               | 72                       | 0                          | 0   | 0                               | 0  | 0            | 0   |
| Praziquantel 5 $\mu\text{M}$  | Imediato                 | 100                        | 100 | 0                               | 0  | 100          | 100 |
|                               | 24                       | 100                        | 100 | 0                               | 0  | 100          | 100 |
|                               | 48                       | 100                        | 100 | 0                               | 0  | 100          | 100 |
|                               | 72                       | 100                        | 100 | 0                               | 0  | 100          | 100 |
| Tamoxifeno 50 $\mu\text{M}$   | Imediato                 | 100                        | 100 | 0                               | 0  | 100          | 100 |
|                               | 24                       | 100                        | 100 | 0                               | 0  | 100          | 100 |
|                               | 48                       | 100                        | 100 | 0                               | 0  | 100          | 100 |
|                               | 72                       | 100                        | 100 | 0                               | 0  | 100          | 100 |
| Tamoxifeno 25 $\mu\text{M}$   | Imediato                 | 0                          | 0   | 60                              | 30 | 0            | 0   |
|                               | 24                       | 100                        | 100 | 0                               | 0  | 100          | 100 |
|                               | 48                       | 100                        | 100 | 0                               | 0  | 100          | 100 |
|                               | 72                       | 100                        | 100 | 0                               | 0  | 100          | 100 |
| Tamoxifeno 12,5 $\mu\text{M}$ | Imediato                 | 0                          | 0   | 60                              | 30 | 0            | 0   |
|                               | 24                       | 100                        | 100 | 0                               | 0  | 100          | 100 |
|                               | 48                       | 100                        | 100 | 0                               | 0  | 100          | 100 |
|                               | 72                       | 100                        | 100 | 0                               | 0  | 100          | 100 |
| Tamoxifeno 6,25 $\mu\text{M}$ | Imediato                 | 0                          | 0   | 30                              | 0  | 0            | 0   |
|                               | 24                       | 100                        | 100 | 0                               | 0  | 100          | 100 |
|                               | 48                       | 100                        | 100 | 0                               | 0  | 100          | 100 |
|                               | 72                       | 100                        | 100 | 0                               | 0  | 100          | 100 |
| Tamoxifeno 3,12 $\mu\text{M}$ | Imediato                 | 0                          | 0   | 0                               | 0  | 0            | 0   |
|                               | 24                       | 30                         | 30  | 60                              | 60 | 30           | 30  |
|                               | 48                       | 60                         | 30  | 0                               | 0  | 60           | 30  |
|                               | 72                       | 60                         | 30  | 0                               | 0  | 60           | 30  |

M = macho; F = fêmea.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

No que concerne a questão de resistência e tolerância do parasita ao praziquantel, droga utilizada para o tratamento da esquistossomose, devido ao seu prolongado uso e ao cenário de negligência que encontra-se inúmeros cidadãos brasileiros em risco de contraírem a doença; uma vez que os mesmos não possuem condições adequadas de moradia, trabalho e saneamento básico, o reposicionamento de fármacos é a solução promitente para os casos de mortalidade e morbidade existente no país e no mundo. Assim, a descoberta de fármacos com atividade anti-*Schistosoma* em uso clínico para outras patologias poderia contribuir na seleção de terapias mais efetivas, reduzindo custos e tempo da pesquisa em novos fármacos para doenças negligenciadas.

Em resumo, os resultados do presente estudo mostraram o efeito anti-helmíntico do tamoxifeno frente aos ensaios *in vitro* realizados. Diante dos resultados obtidos, conclui-se que o fármaco tamoxifeno apresentou uma atividade esquistossomicida *in vitro* em vermes adultos de *S. mansoni* promissoras. Portanto, esta droga utilizada para tratar câncer de mama pode ter aplicações anti-helmínticas contribuindo assim no desenvolvimento de novos tratamentos para a esquistossomose, entretanto, demais estudos são necessários, como a avaliação do efeito *in vivo* e a análise morfológica do tegumento do parasita por meio de Microscopia Eletrônica de Varredura.

## 7. AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi realizado com o apoio financeiro de Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP). Ana C. Mengarda é bolsista de Mestrado da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES). Josué de Moraes é bolsista Produtividade em Pesquisa do Conselho Nacional de Desenvolvimento e Tecnológico (CNPq).

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMARAL, R. S.; TAUIL, P. L.; LIMA, D. D.; ENGELS, D. **An analysis of the impact of the Schistosomiasis Control Programme in Brazil**. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, v. 101, p. 79-85, 2006. Suppl. 1.
- CARVALHO, A. A.; MAFUD, A. C.; PINTO, P. L.; MASCARENHAS, Y. P.; DE MORAES, J. **Schistosomicidal effect of the anti-inflammatory drug diclofenac and its structural correlation with praziquantel**. Int. J. Antimicrob. Agents, In Press, 2014.
- CIOLI, D.; PICA-MATTOCCIA, L.; BASSO, A.; GUIDI, A. **Schistosomiasis control: praziquantel forever?** Mol. Biochem. Parasitol., v. 195, p. 23-29, 2014.
- COLLEY, D. G.; BUSTINDUY, A. L.; SECOR, W. E.; KING, C. H. **Human schistosomiasis**. Lancet, v. 383, p. 2253-2264, 2014.
- GRYSEELS, B.; POLMAN, K.; CLERINX, J.; KESTENS, L. **Human schistosomiasis**. Lancet, v. 368, p. 1106-1118, 2006.
- LAGO, E. M.; XAVIER R.; TEIXEIRA T.; SILVA L. M.; DA SILVA FILHO A. A.; DE MORAES J. **Antischistosomal agents: state of art and perspectives**. Future Med Chem, v. 10, p. 89-120, 2018.
- MORAES, J. **Antischistosomal natural compounds: present challenges for new drug screens**. In: RODRIGUEZ-MORALES, A J. ed. Current Topics in Tropical Medicine. InTech. Rijeka: p. 333-358, 2012.
- STEINMANN, P.; KEISER, J.; BOS, R.; TANNER, M.; UTZINGER, J. **Schistosomiasis and water resources development: systematic review meta-analysis, and estimates of people at risk**. Lancet Infect. Dis., v. 6, n. 7, p. 411-425, 2006.