
Pesquisa Acadêmica

AVALIAÇÃO DO EFEITO ESQUISTOSSOMICIDA *IN VITRO* DA TELMISARTANA

ANA CAROLINA ARAUJO MENGARDA

ESTUDANTE DE MESTRADO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENFERMAGEM

UNIVERSIDADE GUARULHOS – UNG

ana.npdn@gmail.com

BIANCA CARLINI SILVA

ESTUDANTE DE BACHAREL EM BIOMEDICINA

UNIVERSIDADE GUARULHOS – UNG

carlinibianca@gmail.com

Marcos Paulo Nascimento Silva

MESTRE EM CIÊNCIAS

UNIVERSIDADE GUARULHOS – UNG

marcos.npdn@gmail.com

JOSUÉ DE MORAES

ORIENTADOR

UNIVERSIDADE GUARULHOS – UNG

moraesnpdn@gmail.com

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

Avaliação do efeito esquistossomicida *in vitro* da Telmisartana

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. Em face a importância do “reposicionamento de fármacos” ou “redefinição de fármacos”, o presente estudo tem por objetivo avaliar o efeito anti-helmíntico da Telmisartana, um medicamento utilizado para tratar hipertensão, 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 machos em 30% em um período de tempo imediato e 100% em 24 horas na concentração de 50 µM.

PALAVRAS-CHAVE: Esquistossomose; Anti-helmíntico; Anti-hipertensivo.

2. INTRODUÇÃO

Doenças negligenciadas ou doenças da “pobreza” são doenças infecciosas, em sua maioria parasitárias, que atingem em grande escala a população de baixa renda onde as condições de moradia, de trabalho, de educação, de serviços sanitários são inadequadas. Essas doenças acometem 1 bilhão de pessoas do mundo e contribuem para a manutenção do quadro de desigualdade países (MORAES, 2017).

A esquistossomose é uma doença parasitária, classificada como negligenciada, e é causada por helmintos do gênero *Schistosoma*. Existem três espécies que mais atingem os seres humanos, sendo elas, *Schistosoma mansoni*, *Schistosoma japonicum* e *Schistosoma haematobium*. Em nosso organismo, as espécies *S. mansoni* e *S. japonicum* atingem principalmente o sistema gastrointestinal enquanto o *S. haematobium* atinge principalmente o sistema urogenital (COLLEY et al., 2014).

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 na região nacional (AMARAL et al., 2006).

Levando em consideração o exposto e tomando como pauta as soluções existentes, somente a quimioterapia é dada como solução mais promissora para controle da doença e existe apenas um fármaco para tratamento da esquistossomose, o praziquantel (FENWICK; WEBSTER, 2006; CIOLI et al., 2014).

O praziquantel existe desde 1977 e é administrado oralmente em dose única (40 mg/kg a 60 mg/kg), atua contra todas as espécies do gênero *Schistosoma* que infectam o homem, além de ser eficaz na redução da morbidade (CIOLI et al., 2014). Contudo, o tema resistência tornou-se uma situação inquietante justificando o desenvolvimento de novos tratamentos para a doença.

Tendo em vista o baixo investimento por parte da indústria farmacêutica no desenvolvimento de novos fármacos para doenças negligenciadas, justificado pelo baixo lucro retorno, 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. Estudos recentes do nosso grupo mostraram o efeito anti-helmíntico do anti-inflamatório não esteroide diclofenaco de sódio (CARVALHO et al., 2014). E com base em estudos de triagem molecular virtual, atinou-se a doxazosina, um alfa bloqueador usado para tratar hipertensão arterial.

Alicerçado nos estudos de triagem molecular, o presente estudo tem como objetivo avaliar o efeito esquistossomicida da Telmisartana, um antagonista do receptor da angiotensina utilizado para tratar a hipertensão arterial.

3. OBJETIVO

O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito antiparasitário da Telmisartana em *Schistosoma mansoni*.

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 Telsartana na concentração de 50 µM. Posteriormente, o fármaco foi avaliado usando diferentes concentrações (25 µM e 12,5 µM) afim de obter a concentração letal 50% (CL₅₀) calculada de acordo com os estudos prévios do nosso grupo (CARVALHO et al., 2014; DE MORAES et al., 2015). 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 dos compostos 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 Telmisartana e avaliados por um período de 72 horas. Após a concentração de 50 µM, os vermes foram submetidos a concentrações de 25 e 12,5, 6,25, 3,12 e 1,56 µM. Porém somente nas concentrações de 50, 25 e 12,5 µM houve resultados de mortalidade dos vermes.

Na concentração inicial, 50 μM , houve mortalidade de 100% dos vermes a partir 24 horas. Na concentração de 25 μM houve 30% da mortalidade de vermes machos em efeito imediato, sendo o efeito analisado após a adição do fármaco; e 100% de mortalidade dos machos em 48 horas, e 100% de mortalidade das fêmeas em 24 horas. Enquanto que na concentração de 12,5 μM houve mortalidade de 100% dos vermes em 72 horas. Tais resultados estão descritos na **Tabela 1**.

Tabela 1. Avaliação da atividade esquistossomicida *in vitro* da Telmisartana.

Grupo	Período de incubação (h)	Morte dos vermes (%) ^a		Atividade motora reduzida (%) ^a			
				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 2 μM	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
Telmisartana 50 μM	Imediato	30	0	0	0	30	0
	24	100	100	0	0	100	100
	48	100	100	0	0	100	100
	72	100	100	0	0	100	100
Telmisartana 25 μM	Imediato	0	0	30	60	0	0
	24	30	100	60	0	30	100
	48	100	100	0	0	100	100
	72	100	100	0	0	100	100
Telmisartana 12,5 μM	Imediato	0	0	0	0	0	0
	24	0	0	100	100	0	0
	48	0	60	100	30	0	60
	72	100	100	0	0	100	100

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

As helmintíases representam um importante problema de Saúde Pública em diversos países. Particularmente, as esquistossomoses, denominadas também esquistossomíases ou bilharzioses, que está presente em mais de 50 países. O tratamento da doença, como dito anteriormente, é baseado em um único fármaco chamado praziquantel que é utilizado desde 1977; devido ao seu prolongado uso existem registros de resistência e tolerância do parasita ao fármaco. Por ser uma doença que atinge pessoas de baixa renda o investimento no desenvolvimento de novos fármacos é baixo, justificado pela indústria farmacêutica como um investimento sem lucro retorno.

Tendo em conta a questão de resistência e tolerância do parasita ao praziquantel e o baixo investimento no desenvolvimento de novos tratamentos, o reposicionamento de fármacos é a estratégia promitente para os casos de mortalidade e morbidade existente no país e no mundo. Assim, a descoberta de fármacos com atividade esquistossomicida 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 suma, os resultados do presente estudo mostraram o efeito anti-helmíntico da Telmisartana frente aos ensaios *in vitro* realizados. Diante dos resultados encontrados neste estudo, conclui-se que o fármaco Telmisartana apresentou uma atividade esquistossomicida *in vitro* em vermes adultos de *S. mansoni* promissoras. Portanto, este anti-hipertensivo pode ter aplicações anti-helmínticas contribuindo assim no desenvolvimento de novos tratamentos para a esquistossomose, entretanto, demais estudos são necessários, como o efeito *in vivo* e a análise morfológica do tegumento do parasita através 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). Marcos P. Nascimento foi 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. Supl. 1.

MORAES, J. **Doenças Negligenciadas: um problema socioeconômico.** Rev Saude. v. 10, p.5-6, 2017.

COLLEY, D. G.; BUSTINDUY, A. L.; SECOR, W. E.; KING, C. H. **Human schistosomiasis.** Lancet, v. 383, p. 2253-2264, 2014.

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.

FENWICH, A.; WEBSTER, J. P. **Schistosomiasis: challenges for control, treatment, and drug resistance.** Curr. Opin. Infect. Dis., v. 19, p. 577-582, 2006.

CIOLI, D.; PICA-MATTOCCIA, L.; BASSO, A.; GUIDI, A. **Schistosomiasis control: praziquantel forever?** Mol. Biochem. Parasitol., v. 195, p. 23-29, 2014.

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.

DE MORAES, J. **Natural products with antischistosomal activity.** Future Med Chem., v. 7, p. 801-820, 2015.

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.