



## IMUNOMODULADORA DA SANGUINARINA SOBRE AS CITOCINAS IL-6, TNF- $\alpha$ E IFN- $\gamma$ NA ESQUISTOSSOMOSE MANSONI EXPERIMENTAL

Souza, JGE<sup>1</sup>; Santos, MLMF<sup>1</sup>; França, WWM<sup>2</sup>; Gonçalves, MTV<sup>2</sup>; Cruz Filho, IJ<sup>3</sup>; Araújo, HDA<sup>4</sup>; Lorena, VMB<sup>5</sup>; Aires, AL<sup>1</sup>; Nascimento, WRC<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Recife - PE.

<sup>2</sup> Programa de Pós-graduação em Medicina Tropical da UFPE, Recife - PE.

<sup>3</sup> Programa de Pós-graduação em Morfotecnologia da UFPE, Recife - PE.

<sup>4</sup> Departamento de Bioquímica e Fisiologia da UFPE, Recife - PE.

<sup>5</sup> Departamento de Imunologia, Instituto de Pesquisa Aggeu Magalhães, Fiocruz, Recife - PE.

<sup>6</sup> Área Acadêmica de Medicina Tropical, UFPE, Recife - PE.

**Eixos temáticos:** Infecções helmínticas



XIV CICLO DE PALESTRAS  
PARASITOLOGIA EM FOCO

RESUMO  
SIMPÓSIO DE DOENÇAS  
INFECCIOSAS E PARASITÁRIAS  
VIGILÂNCIA EM DOENÇAS INFECTOPARASITÁRIAS:  
UMA VISÃO MULTIDISCIPLINAR

A esquistossomose, causada por *Schistosoma mansoni*, permanece um grave problema de saúde pública, sendo o Praziquantel (PZQ) o único fármaco disponível para o tratamento. Entretanto, a ausência de ação profilática e o surgimento de cepas tolerantes justificam a busca por novas alternativas terapêuticas. Este estudo avaliou o efeito imunomodulador da sanguinarina (SA), alcaloide da família Papaveraceae, sobre as citocinas pró-inflamatórias IL-6, TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  em modelo murino de esquistossomose experimental. Camundongos Swiss Webster foram infectados com 50 cercárias de *S. mansoni* e tratados com SA (2,5 mg/kg a cada 12 h ou dose única de 5 mg/kg/dia) ou PZQ (50 mg/kg/dia), durante diferentes fases do ciclo parasitário. As células esplênicas foram cultivadas na ausência de estímulo (MEIO), com antígenos solúveis de verme adulto (SWAP), de ovo (SEA), com sanguinarina (SANG) e Concanavalina A (ConA). As citocinas foram quantificadas por citometria de fluxo. Observou-se que a SANG reduziu significativamente a produção de TNF- $\alpha$  em relação aos estímulos com SEA, SWAP e MEIO, indicando efeito anti-inflamatório. Para IL-6, houve menor produção nos grupos tratados com SA, especialmente quando submetidos ao estímulo de SANG, demonstrando atenuação da resposta inflamatória sistêmica. A produção de IFN- $\gamma$  também foi reduzida nos grupos tratados com SA em comparação ao grupo tratado com PZQ, tanto sob estímulo de SANG quanto de ConA, sugerindo modulação da resposta Th1. Esses achados reforçam a ação imunorreguladora da sanguinarina, capaz de reduzir mediadores inflamatórios associados à patogênese da esquistossomose e apontam seu potencial como agente adjuvante ou alternativo ao tratamento convencional.

**Palavras-chave:** *Schistosoma mansoni*; sanguinarina; imunomodulação; citocinas; inflamação hepática.

**Agências Financiadoras:** Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE) – APQ-1181–4.03/22.

## INTRODUÇÃO

A esquistossomose é uma doença tropical negligenciada que afeta aproximadamente 236 milhões de pessoas em todo o mundo, representando uma ameaça constante para mais de 700 milhões que residem em regiões tropicais e subtropicais do planeta. No Brasil, a única espécie encontrada é a *S. mansoni*, sendo que 19 estados, incluindo Pernambuco, são endêmicos, com uma distribuição de 5 a 8 milhões de casos. Pernambuco é o estado com o maior número de óbitos e internações hospitalares, acarretando grandes perdas sociais e econômicas (Brasil, 2019). O tratamento e controle da esquistossomose depende unicamente do Praziquantel (PZQ), droga disponível desde a década de 70 e ainda amplamente empregada. PZQ é seguro e eficaz contra todas as espécies de *Schistosoma* spp., entretanto, não tem ação profilática e não atua contra estágios imaturos, sendo eficaz apenas contra vermes adultos. Além disso, o surgimento de cepas resistentes e/ou tolerantes ao PZQ preocupa as comunidades médica e científica para a urgente necessidade de novas alternativas terapêuticas e com atividade imunomoduladora. A sanguinarina (SANG), é um alcaloide encontrado nas espécies de plantas da família Papaveraceae. O efeito parasitário da sanguinarina foi visto contra parasitas de importância médica e veterinária, incluindo o *S. mansoni* (Silva et al., 2024). O perfil de citocinas pró-inflamatórias do tipo Th2 desempenha um papel crucial na cronificação da esquistossomose, processo caracterizado pelo surgimento de lesões granulomatosas hepáticas e intestinais com subsequente fibrose. A síntese de citocinas anti-inflamatórias que regulam tanto a via Th1 quanto a Th2 pode ser estimulada por alcalóides (Khadem et al., 2014). Não existem estudos que reportem o efeito de SANG sobre a imunorregulação e a reação inflamatória granulomatosa na esquistossomose. Considerando a importância das citocinas pró-inflamatórias no processo granulomatoso e fibrogênico da esquistossomose, este estudo objetivou investigar o efeito imunorregulador da SANG sobre os níveis de IL-6, TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  produzidas *in vitro* por esplenócitos de camundongos infectados por *S. mansoni* e tratados *in vivo* com SANG.

## MATERIAIS E MÉTODOS/METODOLOGIA

A Sanguinarina (SANG) e praziquantel (PZQ) foram obtidos da Sigma Chemical, St. Louis, MO, USA. O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal do Centro de Biociências-UFPE (nº 0084/2020). Camundongos (fêmeas Swiss Webster, ~28±2g, 30 dias de idade), foram fornecidos e mantidos no biotério do iLIKA em ambiente controlado, livre acesso a ração (Labina® /Purina) e água. Os camundongos foram infectados com 50 cercárias pela via percutânea com a cepa de *S. mansoni* (BH, Belo Horizonte – Brasil), mantida no moluscário da disciplina de Parasitologia da UFPE. Os animais foram divididos em 5 grupos ( $n=6$ ): Grupo 1 (G1) – tratados com SANG (5 mg/kg/dia) em dose única; Grupo 2 (G2) - tratados com SANG (2,5 mg/kg a cada 12 h); o Grupo 3 (G3) – foi tratado com PZQ (50 mg/kg/dia). Os grupos de tratamento receberam as drogas ao 45º dia após a infecção. O Grupo 4 (G4), recebeu apenas solução salina fisiológica estéril (controle negativo) durante todo o experimento (1º a 49º dia). O Grupo 5 (G5) – Foram animais não infectados e não tratados e receberam apenas salina. Todos os animais foram mantidos nas condições de criação e foram eutanasiados no 55º dia após a infecção. Os baços foram coletados e as células esplênicas foram cultivadas ( $5 \times 10^6$  células/mL), em tubos de cultura de 8mL e submetidas a estímulo antigênico com extratos solúveis de verme adulto (SWAP - 10 $\mu$ g/mL), antígenos solúveis do ovo (SEA- 10 $\mu$ g/mL), sanguinarina (SANG- 20 $\mu$ g/mL), controle positivo (ConA- 5ng/mL) e controle negativo (MEIO – Ausência de estímulo). Os tubos foram

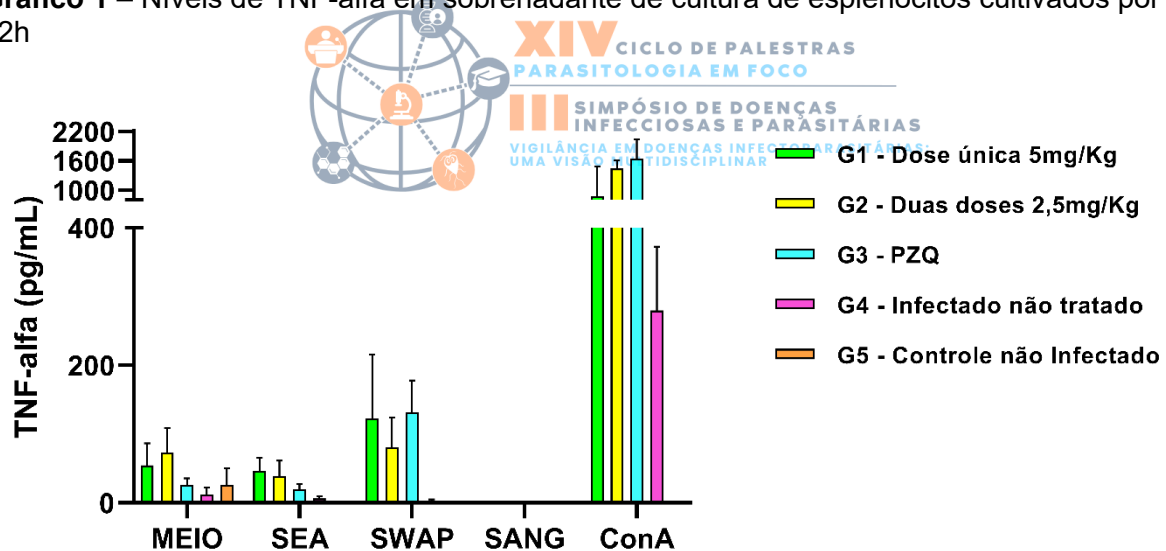


incubados a 37°C em estufa de CO<sub>2</sub> umidificada, no intervalo de 72h. As amostras de cultura foram submetidas à detecção das citocinas. As concentrações de IL-6, TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  foram determinadas por citometria de fluxo (CBA, BD Biosciences). A análise dos dados foi realizada por meio do Graphpad Prism 5 (GraphPad Software, Inc., La Jolla - CA, EUA) e os resultados expressos como média  $\pm$  desvio padrão (DP). Por meio da análise de variância unidirecional (ANOVA), em adição com teste de Tukey para comparações múltiplas post hoc, as diferenças estatísticas serão determinadas com  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

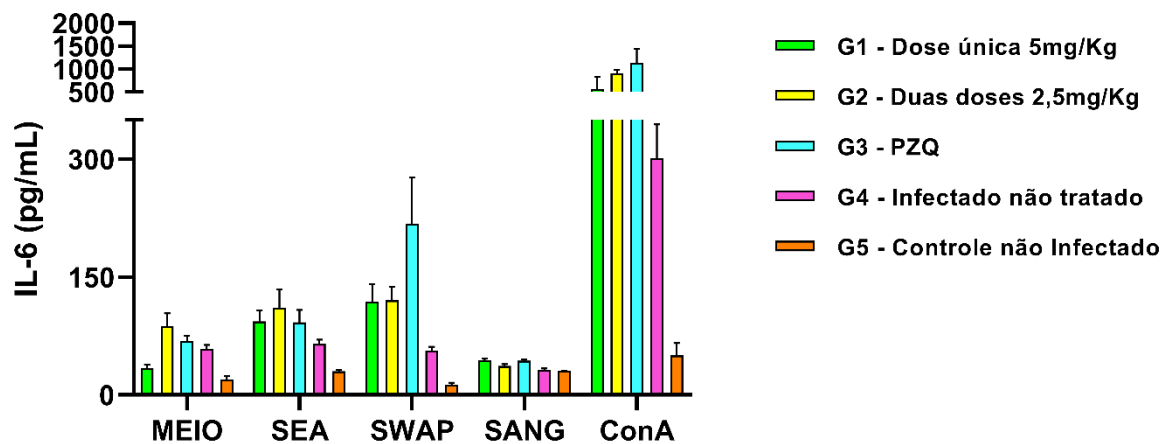
A SANG tem sido reportada como uma molécula com propriedades anti-inflamatórias. Diversos trabalhos apontam efeito de regulação imunológica tanto *in vitro* quanto *in vivo* (Huang et al., 2024). Em nosso modelo de estudo, as células de camundongos cultivadas em SANG tiveram a produção de TNF- $\alpha$  atenuada em comparação com o MEIO, SEA e SWAP, com diferença significativa (Gráfico 1).

**Gráfico 1** – Níveis de TNF-alfa em sobrenadante de cultura de esplenócitos cultivados por 72h



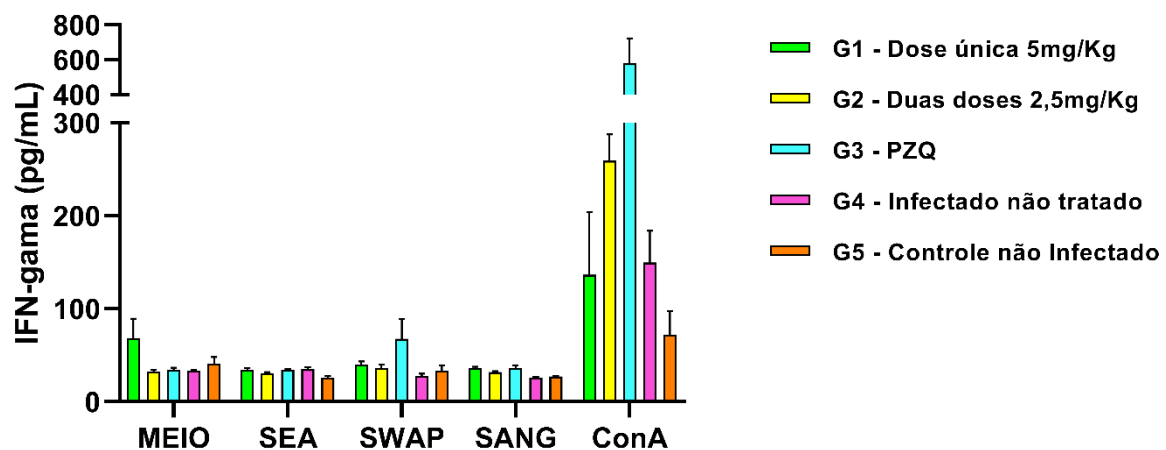
As células estimuladas *in vitro* com SEA e SWAP dos grupos G1, G2 e G3 apresentaram maior produção de IL-6, com diferença significativa, em relação ao MEIO e SANG dos mesmos grupos. Nesse contexto, o grupo G2 apresentou menor produção significativa de IL-6 quando submetido ao estímulo *in vitro* de SANG, em comparação ao estímulo MEIO sobre o mesmo mesmo grupo (Gráfico 2). O grupo tratado com duas doses de SA apresentou menor produção de IFN- $\gamma$  em comparação ao PZQ quando submetidos ao estímulo *in vitro* SANG, com diferença estatística não significativa. No entanto, quando os grupos foram submetidos ao mitógeno (ConA), os níveis de IFN- $\gamma$  foram significativamente menores nos grupos G1 e G2 (tratados com SANG) em comparação com o nível de IFN- $\gamma$  produzido pelo grupo G3 (tratados com PZQ) (Gráfico 3).

**Gráfico 2** – Níveis de IL-6 em sobrenadante de cultura de esplenócitos cultivados por 72h



A compreensão da resposta imunológica do organismo humano ao *S. mansoni* deve contemplar as diversas dimensões da interação entre parasita e hospedeiro, isto porque o desenvolvimento do verme causa respostas inflamatórias distintas a depender da fase de vida e da localização do helminto e seus ovos (Chuah et al., 2014). Inicialmente, a reação inflamatória direcionada para o esquistossômulo é predominantemente constituída por mononucleares e polimorfonucleares com a produção de citocinas pró-inflamatórias como TNF- $\alpha$ . O TNF- $\alpha$  não somente é a primeira citocina inflamatória liberada, mas também induz a rápida produção de outros mediadores inflamatórios, incluindo a IL-6 e IL-12, que resultam na amplificação do sinal pro-inflamação. O início das manifestações clínicas agudas da esquistossomose coincide com o momento de maturação dos estágios imaturos em vermes adultos. A predominância inicial da resposta adaptativa do tipo Th1 relaciona-se com a elevação dos níveis de TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-2 e IL-6, sendo direcionada contra as esquistossômulos em migração e vermes adultos imaturos (Chuah et al., 2014).

**Gráfico 3** – Níveis de IFN-gama em sobrenadante de cultura de esplenócitos cultivados por 72h



Os resultados do nosso trabalho relacionam-se com outras descobertas, como os achados reunidos por Huang e colaboradores (2024) que apontam que SANG possui atividade anti-inflamatória. A melhora nos parâmetros histopatológicos e histomorfométricos (Silva, et al., 2024) dos granulomas hepáticos atribuídos a SANG pode estar relacionada ao seu efeito anti-

inflamatório, inibindo a expressão do Fator nuclear Kappa B (NF- $\kappa$ B) e posterior liberação de citocinas pró-inflamatórias.

## CONCLUSÃO

A sanguinarina demonstrou efeito imunomodulador na esquistossomose experimental, reduzindo as citocinas pró-inflamatórias IL-6, TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$ . Esses achados indicam seu potencial como agente terapêutico complementar ao PZQ, atuando tanto na eliminação do parasita quanto na atenuação das respostas inflamatórias associadas à doença.

## REFERÊNCIAS

BRASIL. 2019. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Coordenação-Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços. Guia de Vigilância em Saúde. 3ª. ed. Brasília.

CHUAH, Candy et al. Cellular and chemokine-mediated regulation in schistosome-induced hepatic pathology. **Trends in parasitology**, v. 30, n. 3, p. 141-150, 2014.

HUANG, Le-Jun et al. Bioactivity and mechanism of action of sanguinarine and its derivatives in the past 10 years. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 173, p. 116406, 2024.

SILVA, M. S. et al. Sanguinarine: an alkaloid with promising in vitro and in vivo antiparasitic activity against different developmental stages of *Schistosoma mansoni* and in silico pharmacokinetic properties (ADMET). **Parasitology Research**, v. 123, n. 2, p. 143, 2024.

KHADEM, Alireza et al. Growth promotion in broilers by both oxytetracycline and *Macleaya cordata* extract is based on their anti-inflammatory properties. *British journal of nutrition*, v. 112, n. 7, p. 1110-1118, 2014.