



TRATAMENTO COM CURCUMINA EM RATOS INFECTADOS COM

Trypanossoma evansi

REIS, Danúbia Marques¹; MORAES, Bibiana Teló¹; NEUENSCHWANDER, Marilian¹;
PACHECO, Eduarda¹; FRASSON, Letícia¹; HASAN, Jamile¹; SIQUEIRA, Lucas Carvalho²;
PALMA, Heloísa²; WOLKMER, Patrícia².

1 INTRODUÇÃO

Tripanossomos (gênero *Trypanosoma*) são protozoários flagelados, parasitas sanguíneos transmitidos principalmente por insetos hematófagos. Tratamentos alternativos contra tripanossomos têm sido utilizados, principalmente, pela elevada taxa de resistência as drogas e diversos efeitos colaterais. A curcumina é obtida do rizoma da planta *Curcuma longa* L. (família Zingiberaceae) tem sido amplamente utilizada na medicina indígena por séculos (MAHESHWARI *et al.*, 2006). Estudos mostraram que a curcumina inibe a produção de várias citocinas, incluindo TNF- α e IL-1 (REYES-GORDILLO *et al.*, 2007).

Desta maneira, torna-se um de suma importância sua validação em animais infectados pelo protozoário, avaliando seu potencial curativo e preventivo pois, poderia reforçar o sistema inune estimulando o uso como suplemento principalmente nas regiões em que a doença é endêmica. Neste trabalho, objetivou-se avaliar os efeitos *in vivo* da curcumina oral como prevenção e tratamento em infecções por *T. evansi* em ratos. Também foi analisado a sua função imunomodulatória em resposta inflamatória pela atividade da acetilcolinesterase (AChE) e por citocinas pró- e anti-inflamatórias na infecção. Definindo assim, o potencial de aplicação para prevenção, tratamento e os mecanismos imunomodulatórios da curcumina em ratos infectados.

2 METODOLOGIA

Foram utilizado utilizados ratos da espécie *Rattus norvegicus*, da linhagem Wistar, machos adultos (250g). Os ratos foram inoculados pela via intraperitoneal com 0,2 ml de

¹ Acadêmicas do Curso de Medicina Veterinária da Universidade de Cruz Alta. danubia_m_reis@hotmail.com.

² Professores Drs. do Curso de Medicina Veterinária da Universidade de Cruz Alta. patiwol@hotmail.com



sangue, proveniente de um rato infectado experimentalmente, contendo 10^4 parasitas. Os ratos utilizados como controles receberam 0,2 ml de solução fisiológica pela mesma via.

A curcumina (Sigma-Aldrich) foi diluída em óleo de milho e administrado por via oral, uma vez ao dia, entre 8 e 9 horas da manhã. O tratamento preventivo iniciou 30 e 15 dias pré-inoculação e perdurou 15 dpi. O tratamento pós inoculação iniciou no momento que todos animais infectados apresentarem o tripanossomo na circulação periférica e durou 15 dpi. Os animais foram divididos em grupos de oito (8 ratos em cada grupo), onde um foi mantido como um grupo de controle - não infectado (UC) que recebeu o veículo apenas (óleo de milho) e sete grupos infectados por tripanossomo: controle positivo (TRYP) (veículo); pré-tratamento com Cur - 20 mg / kg durante 30 dias; pré-tratamento com Cur - 60 mg / kg durante 30 dias; pré-tratamento com Cur - 20 mg / kg durante 15 dias; pré-tratamento com Cur - 60 mg / kg durante 15 dias; tratamento após a inoculação com 20 mg / kg Cur durante 15 dias; tratamento após a inoculação com 60 mg / kg Cur durante 15 dias.

Após inoculação, a parasitemia dos animais foram acompanhadas diariamente, através de esfregaço sanguíneos periférico. Após o termino do tratamento os animais foram submetidos à eutanásia e o sangue será coletado por punção cardíaca. Foi determinado o nível sérico das citocinas (IFN- γ , TNF- α , IL-1, IL-6 E IL-10), quantificadas através de ELISA. E atividade da enzima AChE por técnica descrita por Worek *et al.* 1999.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Foi possível detectar *T. evansi* no sangue de ratos infectados 24 a 48 horas após inoculação. Ao longo do experimento, os níveis circulatórios do parasita foram significativamente menores nos grupos pré tratados com Curcumina, e nesses grupos evidenciou-se maior sobrevivência dos animais (Figura 1). Os resultados da análise da parasitemia com 30 ou 15 dias pré tratamento com doses de 20 e 60 mg/kg de Curcumina foi efetivo na diminuição da parasitemia comparado com o grupo não tratado. O tratamento pós infecção não foi efetivo na redução da carga parasitaria nessas doses testadas.

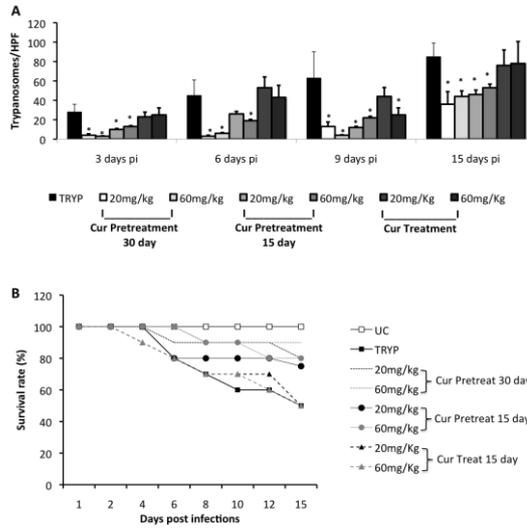


Figura 1. Efeito do pré-tratamento e tratamento com curcumina oral sobre a parasitemia (A) e taxa de sobrevivência (B) de ratos infectados *Trypanosoma evansi*. (UC) grupo de controle não infectado, que receberam o veículo (óleo de milho); (TRYP) grupo de controle infectado que receberam o veículo (óleo de milho); (CUR) curcumina; (Pretreat) pré-tratamento; (tratar) tratamento; (pi) pós infecção. Os valores representam média \pm SE, * representa diferença estatística entre TRYP e grupos que recebem a curcumina ($P < 0,05$, $n = 8-4$ por grupo).

Para elucidar o mecanismo de curcumina em resposta a infecção com *T. evansi*, este estudo analisou o efeito da curcumina sobre as principais citocinas associadas à regulação da resposta imune contra o parasita. A curcumina utilizada no pré tratamento mostrou uma redução nos níveis de IL-1, IL-6, TNF- α e IFN- γ comparado com o grupo controle.

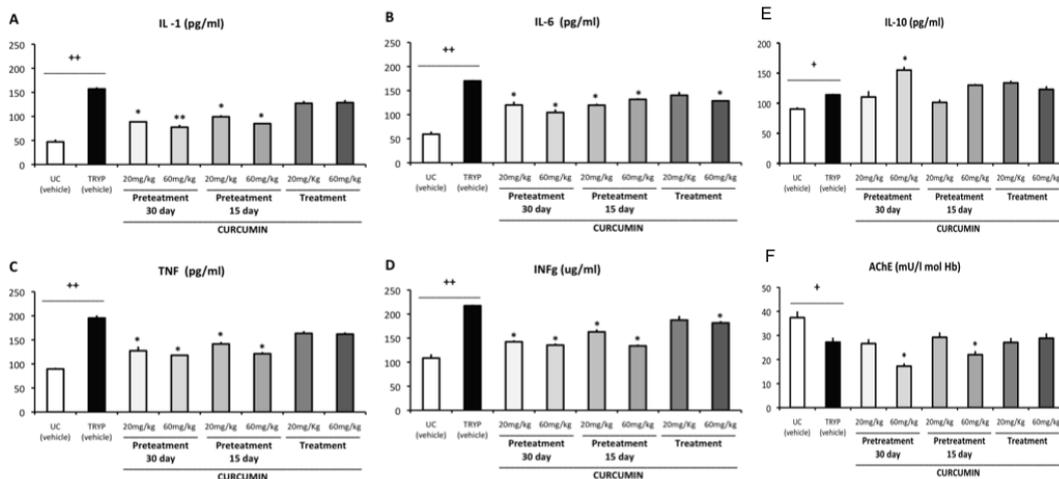


Figura 2: Atividade das citocinas e acetilcolinesterase em ratos infectados com *T. evansi* e tratados com oralmente com curcumina. Interleucina 1 (A); Interleucina 6 (B); Fator de Necrose Tumoral (C); Interferon gama (D); Interleucina 10 (E); Acetilcolinesterase (F). Legenda semelhante a Figura 1.



Os resultados apresentados na Figura 2E e 2F indicam que o uso de infecção Cur pré, como um tratamento preventivo, resultam em supressão das citocinas pró-inflamatórias relação ao grupo TRYP. Somente doses de 60mg/kg, usados como pré-tratamento, aumentou os níveis de citocinas anti-inflamatórias IL-10 e reduziu a atividade da AChE, indicando níveis mais elevados de ACh livre. Portanto, ACh induziu a liberação de hormônios ou citocinas anti-inflamatórias, como demonstrado pela IL-10 que regula o mecanismos de feedback negativo inibindo a produção de citocinas pro-inflamatórias.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados desse estudo prova a hipótese de que a curcumina induz efeitos imunomodulatórios alterando parâmetros inflamatórios como liberação de citocinas e atividade da acetilcolinesterase. Outro achado importante é a habilidade da curcumina aumentar os níveis da citocina IL-10 melhorando a resposta inflamatória, potencialmente deletéria em animais infectados por *T. evansi*. É importante avaliar o potencial preventivo e efeitos curativos da curcumina em animais infectados pelo parasita, como uma alternativa de controle da doença em áreas endêmicas.

REFERÊNCIAS

- Das, U.N., 2007. Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase as possible markers of low-grade systemic inflammation. *Med Sci Monit* 13, RA214-221.
- Maheshwari, R.K., Singh, A.K., Gaddipati, J., Srimal, R.C., 2006. Multiple biological activities of curcumin: a short review. *Life Sci* 78, 2081-2087.
- Paim, F.C., Duarte, M.M., Costa, M.M., et al., 2011. Cytokines in rats experimentally infected with *Trypanosoma evansi*. *Exp Parasitol* 128, 365-370.
- Reyes-Gordillo, K., Segovia, J., Shibayama, M., Vergara, P., Moreno, M.G., Muriel, P., 2007. Curcumin protects against acute liver damage in the rat by inhibiting NF-kappaB, proinflammatory cytokines production and oxidative stress. *Biochim Biophys Acta* 1770, 989-996.
- Worek, F., Mast, U., Kiderlen, D., Diepold, C., Eyer, P., 1999. Improved determination of acetylcholinesterase activity in human whole blood. *Clin Chim Acta* 288, 73-90.