

## ROSUVASTATINA EM ASSOCIAÇÃO COM MEDICAMENTOS PRECONIZADOS EM ESQUEMAS TERAPÊUTICOS PARA O TRATAMENTO *IN VIVO* DA FASE AGUDA DA TOXOPLASMOSE.

Amanda Hinobu de Souza (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Fernanda Ferreira Evangelista (Coautor), Lucimara Fátima Beletini (Coautor), Francini Martini Mantelo (Coautor), Keller Karla de Lima (Coautor), Priscilla de Laet Sant'Ana (Co-orientador), e-mail: pksamariano2@uem.br, Ana Lúcia Falavigna Guilherme (Orientador), e-mail: alfguilherme@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas e da Saúde/Maringá, PR.

**Área e subárea do conhecimento conforme tabela do [CNPq/CAPES](#):**  
Ciências Biológicas - Parasitologia

**Palavras-chave:** toxoplasmose aguda, estatinas, *Toxoplasma gondii*.

### Resumo:

A toxoplasmose é uma zoonose mundialmente difundida e seu tratamento consiste na associação de sulfadiazina e pirimetamina, medicamentos com elevada toxicidade e efeitos colaterais. Estas drogas atuam impedindo a replicação dos taquizoítas (fase aguda da infecção), não sendo capazes de eliminá-los. Vários compostos vêm sendo estudados como alternativas terapêuticas, como as estatinas, com ação inibidora da biossíntese de isoprenóides, influenciando negativamente na multiplicação intracelular do parasito *in vitro*. O objetivo deste trabalho foi avaliar a ação da rosuvastatina, isolada e em combinação com medicamentos preconizados, na infecção aguda experimental por *T. gondii* (cepa RH). Camundongos Balb/C foram infectados com cepa RH de *T. gondii* e separados em grupos de tratamento: G1 – infectado e não tratado; G2 – infectado e tratado com pirimetamina, sulfadiazina e ácido fólico; G3 - infectado e tratado com rosuvastatina; G4 - infectado e tratado com rosuvastatina, pirimetamina e sulfadiazina; G5 - não infectado e tratado com rosuvastatina por sete dias, sendo então infectado e tratamento continuado por quatro dias; G6 – não infectado e não tratado. Após quatro dias de tratamento por via oral, metade dos animais de cada grupo sofreu eutanásia e seu sangue, líquido peritoneal, fígado e pulmão coletados para confirmação da infecção. Os grupos em que houve maior mortalidade dos animais foram G2 e G4. No G2, apesar da elevada toxicidade das drogas, foi observado inibição da infecção em dois animais (2/3), enquanto que a rosuvastatina isolada e em associações não foi eficaz na inibição da infecção aguda na maioria dos animais.

### Introdução

A toxoplasmose é uma zoonose causada pelo protozoário *Toxoplasma gondii*, com aproximadamente um terço da população mundial infectada (DUBEY, 2010). Formas graves podem ser observadas em indivíduos imunocomprometidos e em casos de recém-nascidos com infecção congênita. Os taquizoítas ao atingir o feto, via transplacentária, podem causar lesões como coriorretinite, calcificação cerebral e possibilidade de morte intrauterina.

O tratamento quimioterápico da toxoplasmose possui várias dificuldades, pois as drogas disponíveis são capazes de atuar impedindo a replicação dos taquizoítas na fase aguda ou em reativação da fase crônica da infecção, entretanto, nenhuma tem sido capaz de eliminar o parasito, apenas diminuir sua taxa de replicação (EISSA et al., 2015). Ademais, são drogas que apresentam elevada toxicidade e vários efeitos colaterais. O tratamento atual mais efetivo e recomendado da toxoplasmose consiste na associação sinérgica dos antibióticos sulfadiazina e pirimetamina, administrados junto com o ácido folínico. Este último é suplementado a fim de reduzir os efeitos colaterais dos dois antibióticos como a toxicidade hematológica e supressão da medula óssea e efeitos teratogênicos (SCHMIDT et al., 2006).

Diversas drogas vêm sendo testadas experimentalmente como possíveis tratamentos alternativos, entre elas, destacam-se as estatinas que atuam na inibição dos processos de síntese do colesterol e de isoprenóides, essenciais para a manutenção do *T. gondii*. Ao diminuir a disponibilidade de isoprenóides estas drogas agem influenciando negativamente a proliferação do parasito *in vitro* (SANFELICE et al., 2017). Todavia, ainda não há estudos suficientes sobre a atividade destes compostos que avaliem sua eficácia *in vivo*. O objetivo deste trabalho foi avaliar a ação da rosuvastatina, isolada e em combinação com medicamentos preconizados, na infecção aguda experimental por *T. gondii* (cepa RH).

## Materiais e métodos

Os fármacos avaliados neste estudo consistiram da rosuvastatina (10 mg/kg), pirimetamina (12,5 mg/kg), sulfadiazina (100 mg/kg) e ácido folínico (1,5 mg/kg). Para avaliar os efeitos anti-*T. gondii* destas drogas utilizou-se 66 camundongos Balb/C fêmeas seguindo as orientações éticas da Comissão de Ética no Uso de animais (CEUA) da Universidade Estadual de Maringá (Protocolo 5654290317). Os camundongos foram infectados com uma concentração de  $2 \times 10^3$  taquizoítas da cepa RH via intraperitoneal (ZHANG et al., 2016) e, após duas horas, iniciado o tratamento via gavagem por quatro dias. Os camundongos foram divididos em seis grupos (G) de 11 animais da seguinte forma: G1 – infectado e não tratado; G2 – infectado e tratado com pirimetamina, sulfadiazina e ácido folínico; G3 - infectado e tratado com rosuvastatina; G4 - infectado e tratado com rosuvastatina, pirimetamina e sulfadiazina; G5 - não infectado e tratado com rosuvastatina por 7 dias, sendo infectado posteriormente, e o tratamento continuado por mais quatro dias; G6 – não infectado e não tratado.

Após o tratamento metade dos camundongos remanescentes sofreram eutanásia para realização das análises e a outra metade foi mantida por até 60 dias para observação da sobrevivência. Para as análises foram coletados o líquido peritoneal, fígado e pulmão para confirmação da infecção pela Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). A partir de 20 µL do líquido peritoneal foram feitas lâminas coradas com HE para a visualização e contagem de taquizoítas presentes.

## Resultados e Discussão

Os grupos em que houve maior mortalidade dos animais foram G2 e G4, permanecendo uma quantidade de seis camundongos em ambos (de um total de 11). Desses seis, três permaneceram vivos até o final dos 60 dias, demonstrando que a alta mortalidade foi decorrente da elevada toxicidade da sulfadiazina e pirimetamina. Apenas um camundongo morreu em cada um dos demais grupos, permanecendo dez camundongos ao final. Dos animais eutanasiados para análises (três dos grupos 2 e 4 e cinco dos demais grupos), procedeu-se a pesquisa de DNA do parasito no líquido peritoneal. Na metade de cada grupo destinada à observação da sobrevivência (três camundongos no G2 e G4, e cinco nos demais) todos permaneceram vivos por mais de 60 dias e não demonstraram alterações.

Os resultados da PCR para detecção de DNA de *T. gondii* no líquido peritoneal dos animais estão expressos na Tabela 1 abaixo. Foi possível observar a presença de taquizoítas vivos, sobretudo no G1 - média de 25 formas evolutivas em 20 microlitros de líquido peritoneal.

**Tabela 1** - Resultados de PCR de líquido peritoneal em camundongos infectados com *T. gondii* e tratados com diferentes esquemas de tratamento.

Grupos	Nº de animais	PCR positivo	PCR negativo
G1	5	5	0
G2	3	1	2
G3	5	3	2
G4	3	2	1
G5	5	4	1
G6	5	0	5

DNA de *T. gondii* não foi detectado nos tecidos do fígado e pulmão dos camundongos de todos os grupos analisados, inclusive no grupo controle infectado, indicando se tratar de um processo inicial agudo ainda não disseminado.

## Conclusões

A presença do DNA de *T gondii* foi detectável no líquido peritoneal da maioria dos camundongos tratados com os esquemas analisados neste estudo, indicando que tais compostos não foram capazes de interromper a fase aguda. Entretanto o tratamento com sulfadiazina e pirimetamina foi eficiente na interrupção da infecção em dois camundongos (2/3), mas com elevada toxicidade, demonstrada pela menor sobrevida dos animais. Apesar da infecção ter sido comprovada pela PCR no líquido peritoneal, não foi detectado DNA do parasito nos órgãos, mesmo nos controles não tratados, evidenciando que a infecção estava em fase inicial aguda.

## Agradecimentos

Primeiramente gostaria de agradecer ao CNPq pela condição de bolsista de iniciação científica que serviu como um auxílio no encaminhamento deste projeto. Agradeço imensamente às professoras Ana Lúcia e Priscilla, além de toda equipe do laboratório de Toxoplasmose UEM pelo apoio em todos os momentos durante a pesquisa.

## Referências

DUBEY, J. P. Review of "Toxoplasmosis of Animals and Humans (Second Edition). **Webster Parasites & Vectors**. v. 3, n. 112, 2010.

EISSA, M. M. et al. Could miltefosine be used as a therapy for toxoplasmosis?. **Experimental Parasitology**. v. 157, p. 12-22, 2015.

SANFELICE, R. A. et al. Activity of rosuvastatin in tachyzoites of *Toxoplasma gondii* (RH strain) in HeLa cells. **Experimental Parasitology**. v. 181, p. 75-81, 2017.

SCHMIDT, D. R. et al. Treatment of infants with congenital toxoplasmosis: tolerability plasma concentrations of sulfadiazine and pyrimethamine. **European Journal of Pediatrics**. v. 165, n. 1, p. 19-25. 2006.

ZHANG, X. et al. Antiparasitic effects of oxymatrine and matrine against *Toxoplasma gondii* in vitro and in vivo. **Experimental Parasitology**. v. 165, p. 95-102, 2016.