

## AVALIAÇÃO IN VITRO DE TAQUIZOÍTOS DE *Toxoplasma gondii* TRATADO COM ESTATINAS

Amanda Hinobu Souza (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Fernanda Ferreira Evangelista (Coautor), Francini Martini Mantelo (Coautor), Leticia Nishi (Coautor), Priscilla Laet Santana (Coorientador), Ana Lúcia Falavigna-Guilherme (Orientador), e-mail: [alfguilherme@uem.br](mailto:alfguilherme@uem.br).

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

### Ciências Biológicas - Parasitologia

**Palavras-chave:** lovastatina, cepa RH, toxoplasmose

**Resumo:** A infecção pelo *Toxoplasma gondii* tem elevada prevalência na população mundial, podendo se manifestar com considerável gravidade na transmissão congênita e em indivíduos imunocomprometidos. As drogas disponíveis atualmente para o tratamento da toxoplasmose são capazes de atuar impedindo a replicação dos taquizoítos na fase aguda ou em reativação da fase crônica da infecção, além de apresentarem elevada toxicidade e efeitos colaterais. Vários estudos têm avaliados compostos alternativos para o tratamento da infecção por *T. gondii*. O objetivo deste projeto foi avaliar a atividade anti-*T. gondii* *in vitro* da lovastatina. Os medicamentos utilizados foram testados em cultura de células HeLa infectadas com taquizoítos da cepa RH. A combinação das drogas sulfadiazina e pirimetamina foi testada como padrão comparativo. O efeito foi avaliado 24 horas após o inóculo dos medicamentos nas células e testado em triplicata. As células foram fixadas e coradas com azul de toluidina, e as células infectadas, com taquizoítos no interior, foram contadas através de leitura em microscópio óptico. A lovastatina na dose de 50µg/L foi capaz de reduzir em 30% as células infectadas quando comparado com o controle de células infectadas não tratadas. Pode-se dizer que a lovastatina e as estatinas em geral apresentaram potencial de redução de infecção intracelular de taquizoítos de *T. gondii* *in vitro*.

### Introdução

A toxoplasmose é causada pelo protozoário intracelular obrigatório *Toxoplasma gondii*, e é uma das zoonoses mais difundidas mundialmente, com aproximadamente 50 a 80% da população mundial infectada. A maioria dos indivíduos não desenvolve qualquer sintoma clínico em relação à toxoplasmose, todavia, as formas graves podem ser observadas em indivíduos imunocomprometidos e em casos de recém-nascidos com infecção congênita (DUBEY, 2016).

Atualmente como tratamento para essa doença tem-se usado o esquema tríplice sulfadiazina, pirimetamina e ácido folínico. Para gestantes, o esquema tríplice é intercalado com Espiramicina, dependendo da idade gestacional e da gravidade do

caso. Outra opção de tratamento é a associação de sulfametoxazol mais trimetoprim (Bactrin®) cabendo lembrar que nenhum dos medicamentos é capaz de erradicar a forma latente nos tecidos que são os cistos e assim, impedir as recorrências (DUNAY *et al.*, 2018). Esses tratamentos possuem várias dificuldades, pois as drogas disponíveis são capazes de atuar impedindo a replicação dos taquizoítos na fase aguda ou em reativação da fase crônica da infecção, e apresentam toxicidade e efeitos colaterais muito fortes (DUNAY *et al.*, 2018).

Devido estas dificuldades outros compostos estão sendo pesquisados como possíveis tratamentos alternativos, destacando-se entre eles as estatinas. Estas são um grupo de fármacos que atuam na via do metabolismo de isoprenoides, diminuindo sua disponibilidade e influenciando negativamente a proliferação do *T. gondii* (SANFELICE *et al.*, 2018). Assim, o objetivo do presente projeto foi estudar a atividade anti-*T. gondii* *in vitro* da estatina lovastatina sobre os taquizoítos de *T. gondii*.

## Materiais e métodos

Em uma placa de 24 poços foram cultivadas células HeLa na concentração de  $10^5$  células/poço em meio DMEM, e a placa foi incubada em estufa 37°C, a 5% CO<sub>2</sub>. Após 24 horas, as células foram infectadas com a cepa RH do *T. gondii*, na concentração de  $5 \times 10^5$  taquizoítos por poço e as placas foram incubadas novamente por 3 horas.

Após 3 horas, as células foram tratadas com: somente meio de cultura, sendo o controle de células infectadas (sem tratamento); com solução de sulfadiazina e pirimetamina nas concentrações de 25 e 50 µg/mL (SP25 e SP50); com solução de lovastatina nas concentrações de 25 e 50 µg/mL (LOV25 e LOV50).

Após os tratamentos, a placa foi incubada novamente por 24 horas. Posteriormente, as células foram fixadas e coradas com azul de toluidina, e observadas ao microscópio (Sanfelice *et al.*, 2018).

A avaliação da eficiência do tratamento foi verificada na capacidade do composto de impedir a invasão e proliferação no interior celular dos taquizoítos de *T. gondii*, sendo contadas a quantidade de células parasitadas intracelularmente de um total de 100 células por campo.

## Resultados e Discussão

Na Figura 1 estão os resultados da contagem da quantidade de células com taquizoítos em seu interior no controle e em cada tratamento avaliado, o que nos permite verificar a porcentagem de invasão celular.

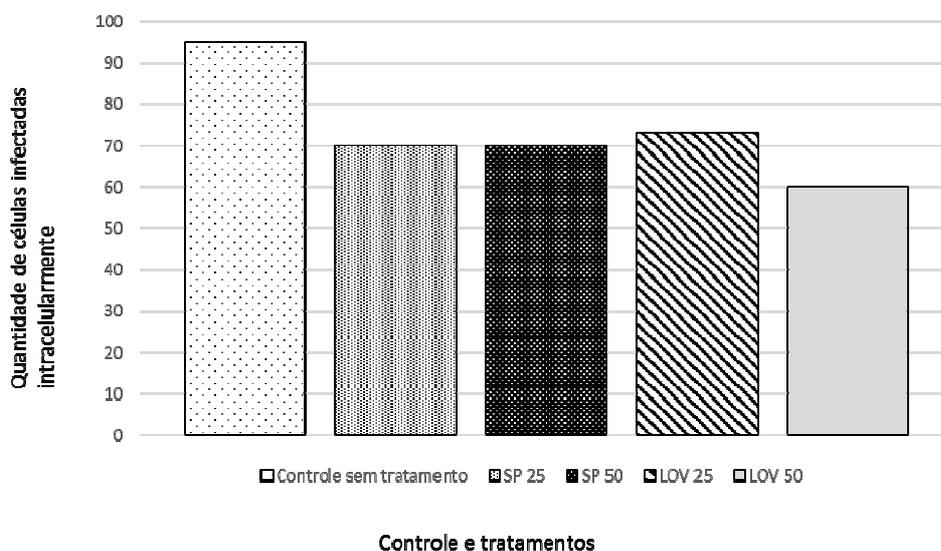


Figure 1 - Células parasitadas intracelularmente no controle sem tratamento e nos tratamentos com SP25 e SP50 e LOV25 e LOV50.

Pode-se observar que a menor invasão celular foi observada no tratamento com lovastatina 50  $\mu\text{g/mL}$ , em que houve uma redução de 30% (66 células infectadas/100 células) de células parasitadas intracelularmente, quando comparada com o controle sem tratamento (95 células infectadas/100 células).

O tratamento padrão, sulfadiazina e pirimetamina em ambas as concentrações testadas, reduziram 27% de células parasitadas (SP25 e SP50) (70 células infectadas/100 células) e a lovastatina 25  $\mu\text{g/mL}$  reduziu 25% das células parasitadas (72 células infectadas/100 células), comparados com o controle sem tratamento.

Outros estudos demonstraram o efeito das estatinas de redução de invasão intracelular de taquizoítos de *T. gondii in vitro* (Sanfelice *et al.*, 2018; Sanfelice *et al.*, 2017) o que demonstra o potencial das estatinas no controle da infecção por *T. gondii in vitro*.

## Conclusões

Pode-se dizer que a lovastatina 50  $\mu\text{g/mL}$  reduziu em 30% a quantidade de células parasitadas com taquizoítos de *T. gondii*.

As estatinas podem apresentar potencial para tratamento da infecção por *T. gondii*, sendo necessários mais estudos para sua possível utilização no tratamento da infecção por *T. gondii*.

## Agradecimentos

Agradecemos ao CNPq pela condição de bolsista de iniciação científica que serviu como um auxílio no encaminhamento deste projeto. Agradeço imensamente às professoras Ana Lúcia, Leticia Nishi e Priscilla Laet, além de toda equipe do

laboratório de Toxoplasmose UEM pelo apoio em todos os momentos durante a pesquisa.

## Referências

DUBEY, J. P. **Toxoplasmosis of Animals and Humans**. 2 ed. Flórida: CRC Press Boca Raton, 2016.

DUNAY, I. R., GAJUREL, K., DHAKAL, R., LIESENFELD, O., MONTOYA, J. G. Treatment of toxoplasmosis: historical perspective, animal models, and current clinical practice. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 31, n. 4, p. 1-33, 2018.

SANFELICE, R. A., BOSQUI, L. R., DA SILVA, S. S., MIRANDA-SAPLA, M. M., PANAGIO, L. A., NAVARRO, I. T., CONCHON-COSTA, I., PAVANELLI, W. R., ALMEIDA, R. S., COSTA, I. N. Proliferation of *Toxoplasma gondii* (RH strain) is inhibited by the combination of pravastatin and simvastatin with low concentrations of conventional drugs used in toxoplasmosis. **Journal of Applied Biomedicine**, v. 16, p. 29-33, 2018.

SANFELICE, R. A., DA SILVA, S. S., BOSQUI, L. R., MIRANDA-SAPLA, M. M., BARBOSA, B. F., SILVA, R. J., FERRO, E. A. V., PANAGIO, L. A., NAVARRO, I. T., BORDIGNON, J., CONCHON-COSTA, I., PAVANELLI, W. R., ALMEIDA, R. S., COSTA, I. N. Pravastatin and simvastatin inhibit the adhesion, replication and proliferation of *Toxoplasma gondii* (RH strain) in HeLa cells. **Acta Tropica**, n. 167, p. 208-215, 2017.