

EFEITOS DA ROSUVASTATINA NA HISTOPATOLOGIA DA INFECÇÃO CRÔNICA PELO *Toxoplasma gondii* (CEPA ME49) EM CAMUNDONGOS SWISS

Ellen Cristini Saraiva Fontini (PIC/UEM), Débora Janjácomo Pereira Mesquita Ciriaco (PIC/UEM), Leonardo Grande de Almeida (co-autor), Angélica Sayuri Sakata (co-autora), Alice Maria Souza-Kaneshima (co-autora), Edilson Nobuyoshi Kaneshima (co-autor), Tania Cristina Alexandrino Becker (co-orientadora), Priscilla de Laet Santana (Orientadora), e-mail: pjsamariano2@uem.br

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

Área 40100006 - Medicina, Subárea: 40105008 - Anatomia Patológica e Patologia Clínica

Palavras-chave: Toxoplasmose, estatinas, fase crônica.

Resumo:

A toxoplasmose é uma zoonose causada pelo *Toxoplasma gondii*, parasita intracelular obrigatório cujas formas infectantes são taquizoítos, que se multiplicam assexuadamente dentro das células e se disseminam através dos sistemas linfático e sanguíneo (fase aguda). Estes evoluem para bradizoítos, formando os cistos teciduais (fase crônica), que permanecem viáveis por vários anos nos tecidos, principalmente no sistema nervoso central, retina e músculo. O tratamento da toxoplasmose é baseado em medicamentos inibidores da síntese de folato no parasito, porém os medicamentos disponíveis não são totalmente capazes de eliminar os cistos do protozoário e causam efeitos tóxicos ao organismo. A rosuvastatina, um medicamento hipocolesterolêmico, demonstrou atividade contra taquizoítos de *T. gondii* *in vitro*. Assim o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da rosuvastatina na histopatologia da infecção crônica experimental por *T. gondii*. Foram avaliados pulmão, olhos e coração de camundongos Swiss infectados com a cepa cistogênica ME-49 de *T. gondii*, tratados por 21 dias, a partir do 50º dia após a infecção, com rosuvastatina 10 e 40mg/Kg de peso corporal. Foram confeccionados cortes histológicos dos respectivos órgãos, corados com Hematoxilina e Eosina e observados ao microscópico óptico. As análises não evidenciaram alterações compatíveis com possível presença de processo inflamatório decorrente da infecção por *T. gondii*. Não foram observados cistos de *T. gondii* na retina ou miocárdio. As lesões pulmonares que podem surgir durante a disseminação do *T. gondii* não são evidentes na fase crônica da infecção experimental (cepa ME-49). A rosuvastatina não interferiu no decurso da infecção crônica pela ME-49 nestes tecidos.

Introdução

A toxoplasmose, é uma zoonose causada pelo parasita intracelular obrigatório *Toxoplasma gondii*, estima-se que 60 a 70% da população mundial esteja parasitada pelo protozoário, sendo que esta alta taxa de virulência pode estar associada a fatores geográficos, ocupacionais e hábitos alimentares (NEVES et al., 2016). As

principais vias de disseminação do parasita são a oral, que se dá pela ingestão de oocistos em água e alimentos contaminados, e a congênita que ocorre durante a gestação via transplacentária (REMINGTON, 2011).

As principais formas infectantes do *T. gondii* são os taquizoítos, bradizoítos (cistos) e esporozoítos. Na fase aguda ocorre a proliferação e disseminação dos taquizoítos pelo sistema linfático e sanguíneo. Com o desenvolvimento da imunidade específica os taquizoítos evoluem para bradizoítos formando os cistos teciduais, iniciando assim a fase crônica da infecção. Os cistos podem permanecer viáveis por vários anos nos tecidos, tendo preferência por tecido nervoso, a retina e muscular (NEVES et al. 2016, REMINGTON, 2011).

O tratamento convencional da toxoplasmose é baseado na prescrição de medicamentos inibidores da síntese de folato no parasito (DUNAY et al., 2018). O mais indicado é o esquema tríptico que consiste na combinação de pirimetamina, sulfadiazina e ácido folínico, apesar de causar diversos efeitos colaterais. Outros medicamentos como a azitromicina, clindamicina, claritromicina e atavaquona têm sido empregados como alternativa terapêutica. Entretanto são pouco tolerados e também não possuem eficácia completa contra os bradizoítos contidos no interior dos cistos (DUNAY et al., 2018).

Atualmente há estudos buscando identificar compostos com diferentes mecanismos de ação contra *T. gondii*, ou também avaliar medicamentos disponíveis no mercado e que já são empregados para outros fins. Como, por exemplo, as estatinas, especialmente a Rosuvastatina. As estatinas têm como mecanismo de ação a inibição da via do mevalonato na síntese do colesterol hepático em humanos e também podem interferir nos processos iniciais de biossíntese de isoprenóides no protozoário, os quais são lipídios essenciais ao metabolismo de *T. gondii*. Foi demonstrado efeito da rosuvastatina contra a replicação de taquizoítos de *T. gondii* *in vitro* (SANFELICE et al. 2017). Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da rosuvastatina *in vivo*, na patogênese da infecção crônica por *T. gondii*.

Materiais e métodos

Foram avaliados o pulmão, olhos e o coração (músculo estriado cardíaco), retirados de camundongos Swiss em infecção crônica pela cepa cistogênica ME-49 de *T. gondii* e tratados após 50 dias da infecção (fase crônica) uma vez ao dia por 21 dias (conforme as normas do Comitê de Ética no Uso de Animais - CEUA/UEM (com protocolo de aprovação de nº 5654290317), divididos entre os grupos a seguir, com sete animais cada:

G I – não infectado e não tratado (controle)

G II – Infectado e não tratado (controle da infecção)

G III – Infectado e tratado com pirimetamina + sulfadiazina, sendo a dose de ataque nos dois primeiros dias de tratamento 12,5mg/kg de 12/12 horas + 100mg/kg de 12/12 horas respectivamente, seguida de 50 mg/kg de 12/12 horas + 12,5 mg/kg uma vez ao dia respectivamente, a partir do terceiro dia até o 21º dia de tratamento. (COSTA, 2008) – controle do tratamento.

G IV – Infectado e tratado com rosuvastatina 10 mg/dia

G V – Infectado e tratado com rosuvastatina 40 mg/dia

Os órgãos foram fixados em formalina 10% e armazenados em álcool 70% em temperatura ambiente no laboratório de Patologia Geral – DBS/UEM. Para as análises os órgãos foram desidratados, diafanizados, emblocados em parafina. Cortes de 5µm foram produzidos em micrótomo, fixados e corados com a técnica de Hematoxilina e Eosina, cobertos com resina e lamínula. As lâminas foram analisadas em microscópio óptico observando-se os parâmetros de presença de cistos de *T. gondii*, presença de focos inflamatórios, alterações estruturais e necrose nos tecidos, observando-se 10 campos microscópicos para cada corte histológico.

Resultados e Discussão

As análises histopatológicas não evidenciaram presença de processo inflamatório relacionado a infecção por *T. gondii* cepa ME-49. Nos pulmões de alguns animais foi observado proliferação linfocitária em tecido linfóide brônquico, congestão e hemorragia, possivelmente não associada a infecção toxoplásmica, já que estas alterações também foram observadas em alguns animais do controle negativo (sem infecção), podendo ser resultantes de processos alérgicos nos animais (Figura 1B). Durante a fase crônica os taquizoítos migram para o tecido cerebral e não mais se encontram circulando. Desta forma, mesmo que ocorra a disseminação do parasito na fase aguda com a passagem dos taquizoítos pelos pulmões, a infecção nestes órgãos não é detectada na fase crônica.

Já no músculo esquelético e cardíaco, que têm sido reportados como possíveis tecidos que albergam o parasito na forma de bradizoítos, esperava-se encontrar alguma alteração inflamatória ou presença de cistos. Entretanto, não foram observados cistos teciduais e alterações inflamatórias nos cortes histológicos de coração, em todos os grupos de animais, tratados e não tratados (Figura 1C e D). O tecido nervoso da retina é um dos alvos onde o *T. gondii* pode vir a se encistar na fase crônica, inclusive reativações de lesões da coriorretinite toxoplásmica são reportadas na infecção crônica ocular (BUTLER et al., 2013), as lesões oculares ocorrem no processo agudo inicial ou de reativação da fase aguda.

Nossos achados, não demonstraram alterações oculares evidentes nos camundongos infectados, porém a cepa utilizada foi a ME-49, de padrão avirulento e cistogênico com tropismo para o SNC (Figura 1A). Estudos histopatológicos oculares, obtidos de modelos experimentais de infecção com cepas originárias do Brasil, poderiam contribuir para elucidar a patogênese do parasito nestes tecidos.

Conclusões

Este estudo evidenciou que as lesões pulmonares que podem surgir durante a disseminação do *T. gondii* não são evidentes na fase crônica durante a infecção experimental com a cepa ME-49. Adicionalmente, mesmo que a retina e o músculo cardíaco tenham sido reportados como alvos do parasito na fase crônica, a presença de cistos ou alterações inflamatórias não foram observadas, indicando que a cepa ME-49 pode ter fraco tropismo para estes órgãos, em camundongos Swiss, ou o modelo de infecção não é adequado para a análise destes tecidos. A rosuvastatina não interferiu no decurso da infecção crônica pela ME-49 nestes tecidos.

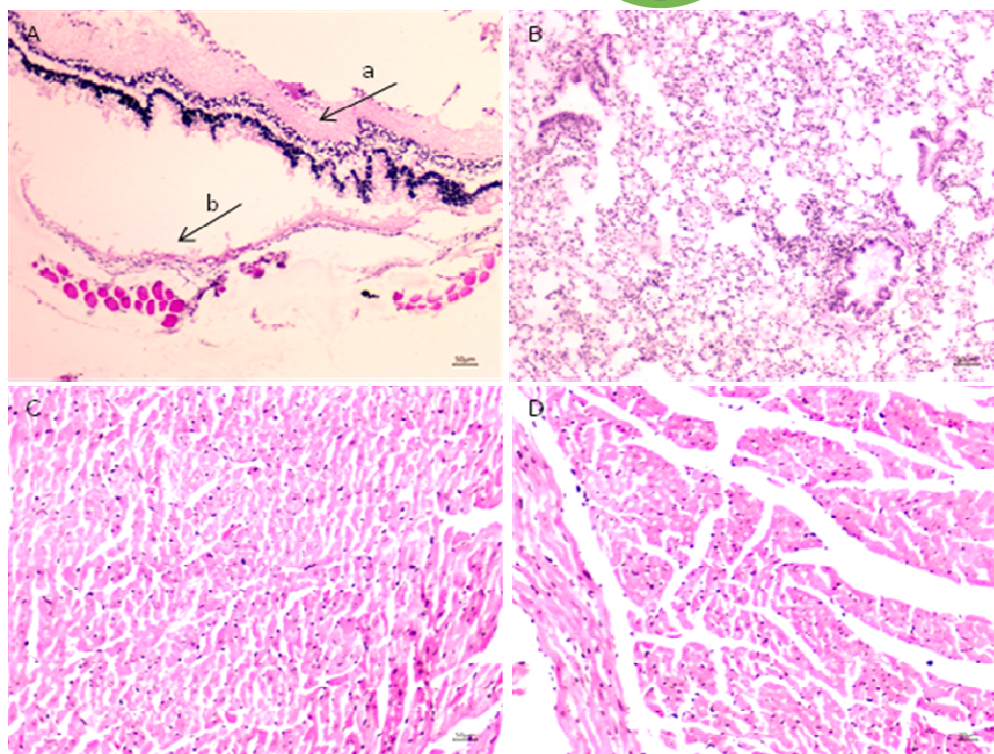


Figura 1 - Cortes histológicos de tecidos de camundongos infectados com a cepa ME-49 após 71 dias da infecção (fase crônica) sem alterações compatíveis com processo inflamatório relacionado a infecção crônica por *T. gondii*. A) GII – Olho, retina (seta a) e esclera (seta b); B) GIV - pulmão, C) GI – miocárdio, D) GII – miocárdio.

Agradecimentos

Gostaríamos de agradecer as professoras, a toda equipe do Laboratório de Patologia - DBS-UEM e ao Programa de Iniciação Científica da UEM.

Referências

BUTLER, N.J.; FURTADO, J.M.; WINTHROP, K.L.; SMITH, J.R. **Ocular toxoplasmosis II: clinical features, pathology and management**. Clin Exp Ophthalmol.v. 41, n. 1, p. 95-108, 2013. doi: 10.1111/j.1442-9071.2012.02838.x.

DUNAY, I.R. et al. **Artemisone and artemiside control acute and reactivated toxoplasmosis in a murine model**. Ant. Agents. Chemotherapy, v. 53, n. 10, p. 4450–4456, 2009.

NEVES, D.P. **Parasitologia Humana**. 13ª Edição, Atheneu, 2016.

REMLINGTON, J.S. et al. **Infectious disease of the fetus and newborn infant**. Philadelphia: Elsevier Saunders 7th ed., p. 918-1041, 2011.

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, 2017b.