

Análise histopatológica da infecção crônica pelo *Toxoplasma gondii* (cepa ME49) em camundongos Swiss sob tratamento com rosuvastatina

Angélica Sayuri Sakata (PIC/UEM), Leonardo Grande de Almeida (co-autor), Débora Janjácomo Pereira Mesquita Ciriaco (co-autora), Ellen Cristini Saraiva Fontini (co-autora), Tania Cristina Alexandrino Becker (co-autora), Edilson Nobuyoshi Kaneshima (co-autor), Alice Maria Souza-Kaneshima (co-orientadora), Priscilla De Laet Santana (Orientadora), e-mail: plsamariano2@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: Histopatologia, *Toxoplasma gondii*, Estatinas.

Resumo:

Diante do cenário desafiador do tratamento medicamentoso da toxoplasmose, estudos sugerem que as estatinas, utilizadas como medicamentos hipocolesterolêmicos, possuem também efeitos antiproliferativos em taquizoítos de *Toxoplasma gondii*, sugerindo potencial desses fármacos para novas aplicações terapêuticas. Dessa forma, este projeto teve como objetivo fazer uma análise histopatológica de órgãos retirados de camundongos que foram infectados com a cepa ME-49 do *T. gondii* e posteriormente tratados com rosuvastatina (10 e 40mg/Kg/peso corporal) na fase crônica da infecção. Os órgãos cérebro, fígado, e músculo esquelético retirados dos camundongos foram emblocados em parafina e corados pela com Hematoxilina e Eosina. A análise histopatológica dos tecidos mostrou que no grupo controle (infectado e tratado com salina) havia presença de cistos teciduais do parasito, abundante infiltrado perivascular, predominantemente de mononucleares, e focos de necrose e proliferação glial, indicando infecção ativa e dano tecidual. Nos grupos tratados com rosuvastatina estas alterações estavam atenuadas, sendo possível inferir que a droga pode ter influenciado a resposta do hospedeiro à cepa ME-49 do *T. gondii* na infecção crônica cerebral, possivelmente modulando os níveis inflamatórios e diminuindo dano tecidual. Contudo, novos estudos ainda são necessários para investigar o efeito das estatinas na fisiopatologia da infecção crônica da toxoplasmose.

Introdução

Toxoplasma gondii é um protozoário intracelular obrigatório capaz de infectar diferentes espécies. A toxoplasmose, apesar de ser assintomática em 90% dos casos, quando adquirida durante a gestação pode trazer sérias consequências para o feto e até óbito fetal devido a transmissão transplacentária. As três formas evolutivas do *T. gondii*, taquizoítos, cistos e oocistos, são infectantes para os mamíferos, aves e também aos humanos (REMINGTON, 2011).

Quanto ao tratamento medicamentoso da toxoplasmose, os desafios são inúmeros, já que as drogas disponíveis somente têm ação contra a replicação dos taquizoítos, durante a fase aguda, não sendo efetivos contra bradizoítos presentes em cistos teciduais na fase crônica da infecção. Além disso, as drogas demandam tratamentos prolongados e apresentam elevada toxicidade e efeitos secundários graves (DUNAY et al., 2009). Em vista disso, o desenvolvimento de novos fármacos é de grande importância para a saúde humana em que possa controlar a replicação do parasito na fase aguda com maior eficiência e menor efeitos colaterais que os medicamentos existentes, e que tenha ação efetiva contra os bradizoítos dentro dos cistos, na fase crônica.

Alguns estudos sugerem que as estatinas, além da inibição da síntese de colesterol em seres humanos, atuam também nos processos iniciais de biossíntese de isoprenóis no protozoário. SANFELICE et al. (2017) observaram que a rosuvastatina possui efeitos antiproliferativos *in vitro* contra taquizoítos de *T. gondii*, além de reduzir a adesão e invasão de células HeLa pelo parasito, sugerindo potencial deste fármaco para novas aplicações terapêuticas. Dessa forma, este trabalho teve como objetivo a avaliação das características histopatológicas de órgãos de camundongos infectados com *T. gondii* (cepa ME49) em fase crônica da infecção, tratados e não tratados com rosuvastatina.

Materiais e métodos

Foram avaliados o fígado, cérebro e músculo esquelético (bíceps femoral), retirados de camundongos suíços infectados com a cepa ME-49 de *T. gondii*. Os órgãos estavam mantidos no laboratório de Patologia Geral – DBS/UEM, armazenados em álcool 70% em temperatura ambiente, após a fixação em formalina a 10% por 12 horas. Camundongos albinos suíços com 21 a 45 dias de idade foram infectados por gavagem com 20 cistos da cepa tipo II, ME-49. Após 50 dias da infecção os camundongos foram tratados uma vez ao dia por 21 dias, e em seguida eutanasiados, seguindo as normas do Comitê de Ética no Uso de Animais - CEUA/UEM (com protocolo de aprovação de nº 5654290317), conforme os grupos a seguir, com sete animais cada: GI – não infectado e tratado com PBS (controle negativo); GII – Infectado e tratado com PBS (controle da infecção); GIII – Infectado e tratado com pirimetamina + sulfadiazina (PS), sendo a dose de ataque nos dois primeiros dias de tratamento 12,5 mg/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 10º dia de tratamento; GIV – Infectado e tratado com rosuvastatina 10 mg/Kg/dia (R10) e GV – Infectado e tratado com rosuvastatina 40 mg/Kg/dia (R40)

Resultados e Discussão

Alterações histopatológicas proeminentes foram observadas aos 71 dias pós-infecção no GII (PBS) e GIII (PS), como focos inflamatórios com proliferação glial, necrose, hiperemia, vasculite com infiltrado perivascular mononuclear e hemorragias (Figura 1). Por outro lado, no GIV e GV, infectados e tratados com rosuvastatina (10 e 40mg/kg, respectivamente), embora houvessem cistos

presentes, os infiltrados perivascularres estavam discretos, especialmente no GV, sem sinais de necrose recente. Nos demais órgãos analisados (fígado e músculo esquelético) não houve achados histopatológicos condizentes com infecção crônica de *T. gondii*. Nesses órgãos apenas infiltrados inflamatórios mononucleares discretos e inespecíficos foram observados. Não foram observados cistos nos tecidos de músculo esquelético. Estas alterações demonstram que o processo inflamatório se manteve presente mesmo na fase crônica da infecção (71 dias). Além disso, necrose e dano tecidual estavam atenuados nos grupos tratados com rosuvastatina. No GV (R40) foram observadas áreas de gliose, sem neurônios, o que pode indicar necrose não recente, num processo de resolução e a infiltração de células inflamatórias ao redor dos vasos estava menos intensa (Figura 2).

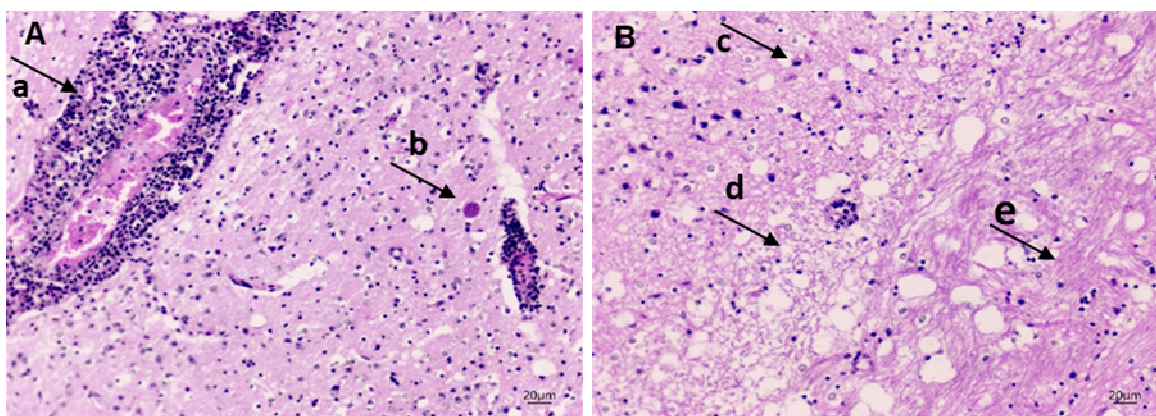


Figura 1: A)GIII (PS) - Infiltrado perivascular intenso (seta a), bradizoítos dentro dos cistos (seta b). B)GII (PBS) - área de necrose recente (seta d) com gliose em processo, astrócito gemistocítico (seta c), em contraste com área de gliose bem formada (seta e).

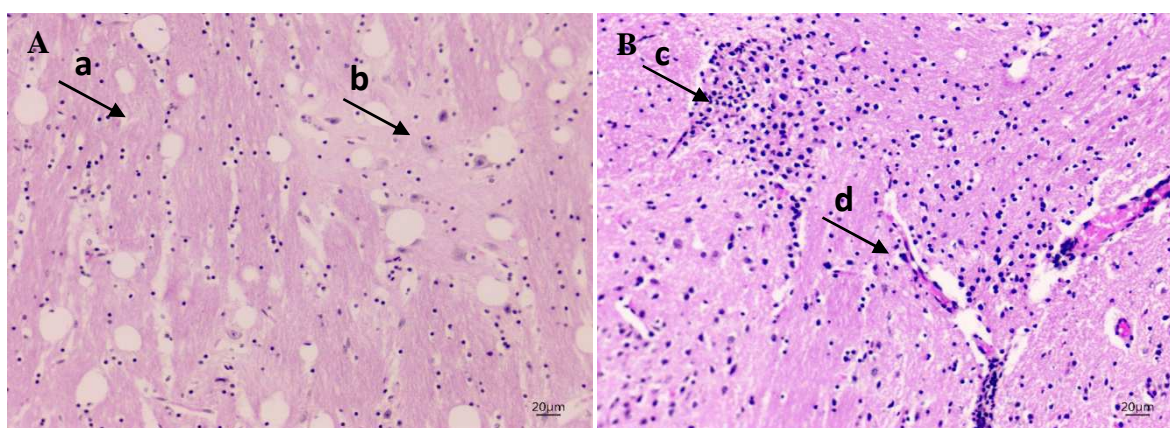


Figura 2: A) GIV (Rosuvastatina 10 mg/Kg) - Gliose (seta a) contrastando com área cortical normal e neurônios (seta b) evidenciando tecido de reparação. D) GV (Rosuvastatina 40mg/Kg) - Foco inflamatório com proliferação glial (seta c) e gliose bem formada com discreto infiltrado perivascular (seta d).

É provável que a rosuvastatina possa ter influenciado a resposta do hospedeiro na infecção crônica cerebral, possivelmente modulando os níveis inflamatórios e diminuindo o dano no tecido. SANFELICE et al. (2017) demonstrou a redução dos níveis da interleucina 17 (IL-17) quando células infectadas in vitro por *T.*

gondii foram tratadas com rosuvastatina. A IL-17 é um importante mediador relacionado a lesões severas causados pela resposta inflamatória da infecção em modelos laboratoriais (GUITON et al.,2010). Ademais, LU et al. (2019) demonstraram ação protetora de estatinas na atenuação do dano neuronal em pacientes após acidente vascular isquêmico, pela supressão da proliferação de micróglia.

Conclusões

Nossos resultados demonstraram que a rosuvastatina, principalmente nas doses de 40 mg/kg, parece ter efeito positivo na redução do processo inflamatório sobre o tecido nervoso durante a infecção experimental crônica por *T. gondii* (cepa ME-49). A droga demonstrou ser capaz de penetrar no tecido nervoso, interferindo na resposta inflamatória, pela diminuição de infiltrados perivascular e proliferação glial. Estudos ainda são necessários para investigar o efeito das estatinas na fisiopatologia da infecção crônica da toxoplasmose bem como a interação desses componentes com a resposta inflamatória do hospedeiro.

Agradecimentos

Agradecemos ao Programa de Iniciação Científica da UEM e a equipe do Laboratório de Patologia do Departamento de Ciências Básicas da Saúde - UEM.

Referências

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.

GUITON R, Vasseur V, Charron S, et al. **Interleukin 17 Receptor Signaling Is Deleterious during *Toxoplasma gondii* Infection in Susceptible BL6 Mice.** *Journal of Infectious Diseases* v. 202, n. 3, p. 427–435,2010.

LU, D.; SHEN, L.; MAI, H.; ZANG, Z.; LIU, L.; TSANG C.; LI, K.; XU, A. **HMG-CoA Reductase Inhibitors Attenuate Neuronal Damage by Suppressing Oxygen Glucose Deprivation-Induced Activated Microglial Cells.** *Neural Plasticity*, Article ID 7675496, 15 pages, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/7675496>

REMINGTON, 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, 2017.