

AValiação Histopatológica de Tecidos Obtidos de Camundongos Cronicamente Infectados com *Toxoplasma gondii* (CEPA TgRhHmBrl), Tratados e Não Tratados com Rosuvastatina

Milena Lopes dos Santos (PIC/UEM), Fernanda Ferreira Evangelista, Alice Maria Souza-Kaneshima (Co-orientadora), Priscilla de Laet Sant'Ana (Orientador), e-mail: plsamariano2@uem.br

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

Área e subárea do conhecimento: Medicina/ Anatomia Patológica e Patologia Clínica.

Palavras-chave: toxoplasmose, genótipo, estatinas.

Resumo:

Há poucas opções de tratamentos para a toxoplasmose, que ainda apresentam efeitos colaterais importantes e não são totalmente eficientes na eliminação do parasito. A rosuvastatina, um medicamento hipocolesterolêmico, demonstrou ação contra taquizoítos de *T. gondii* *in vitro* e *in vivo*. O objetivo deste trabalho foi avaliar o padrão histopatológico dos tecidos de camundongos Balb/C infectados cronicamente com a cepa brasileira TgRhHmBrl, com e sem o tratamento com rosuvastatina 40mg/kg. Cérebro e fígado dos animais foram processados, emblocados em parafina e corados pela técnica de HE. Foram observadas alterações histopatológicas em ambos os grupos, o que demonstra que a infecção crônica pela cepa brasileira TgRhHmBrl causa efeitos lesivos ao hospedeiro, porém mais discretos do que os observados em experimentos anteriores do nosso grupo com a cepa padrão ME-49, que apresentou, principalmente, processo inflamatório mais intenso. Embora as alterações inflamatórias no grupo tratado com rosuvastatina demonstraram discreta melhora em relação ao grupo não tratado, mais estudos são necessários para se avaliar os efeitos deste medicamento na infecção pela cepa TgRhHmBrl e quanto às características patogênicas desta linhagem no decurso da toxoplasmose crônica.

Introdução

Toxoplasma gondii é um protozoário intracelular obrigatório, causador da toxoplasmose, uma zoonose mundialmente difundida que apresenta alta prevalência e morbimortalidade, especialmente em indivíduos imunocomprometidos e na infecção congênita (DUBEY, 2016). Há três linhagens genéticas de *T. gondii* predominantes no hemisfério norte (tipo I, II e III). No Brasil foi identificada uma grande variabilidade genotípica decorrente da recombinação entre as linhagens, predominando as cepas tipo Brl, BrII, BrIII e BrIV, associados a padrões mais virulentos e maior frequência de manifestações oculares (XIAO; YOLKEN, 2015). Recentes estudos *in vivo*, têm demonstrado efeitos da rosuvastatina na toxoplasmose crônica em animais infectados com a cepa ME-49 (Tipo II) de *T. gondii*

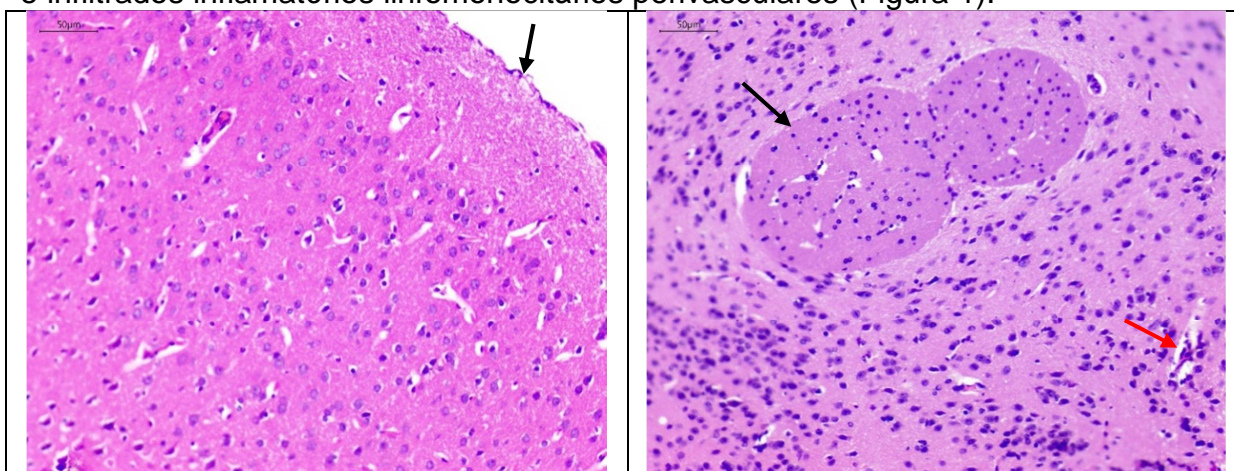
(EVANGELISTA et al., 2021; NISHI et al., 2020). Conhecer o comportamento de novas linhagens identificadas de *T. gondii* e seus mecanismos patogênicos, além de avaliar a ação de medicamentos contra os diversos genótipos do parasito é de grande relevância. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar os padrões histopatológicos dos tecidos de camundongos Balb/C infectados pela cepa brasileira TgRhHmBrl de *T. gondii*, na fase crônica da infecção, que receberam ou não o tratamento com o medicamento rosuvastatina.

Materiais e Métodos

Foram avaliados o cérebro e o fígado de camundongos Balb/C infectados com a cepa brasileira TgRhHmBrl (armazenada no Laboratório de Parasitologia Geral-DBS/UEM). Tais órgãos foram extraídos de animais na fase crônica da infecção (71 dias): divididos em dois grupos: G1 - infectados e tratados com rosuvastatina 40 mg/Kg; e G2 - infectados e não tratados (controle). Os tecidos foram fixados em formol e armazenados em solução alcoólica a 70%. Em seguida foi realizado o processamento histológico e embocamento em parafina. Três cortes semi-seriados de 5µm foram fixados em lâminas e corados com Hematoxilina e Eosina. Os procedimentos realizados com os animais nesse estudo seguiram as diretrizes do CONCEA e foram aprovados pelo CEUA/UEM (protocolo nº 5654290317).

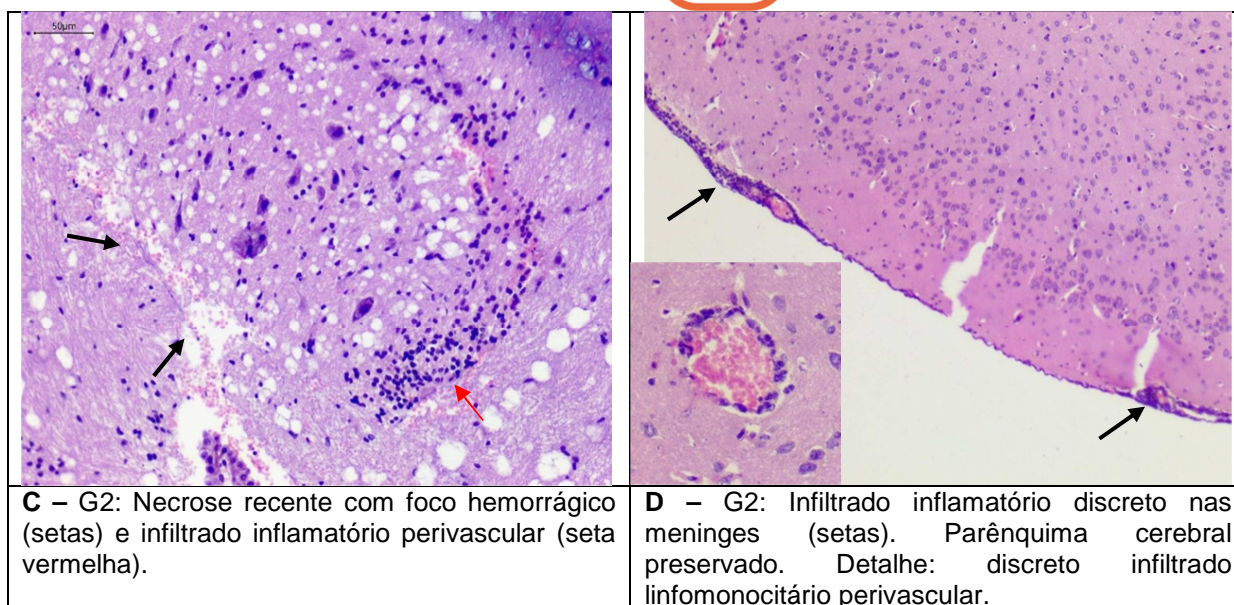
Resultados e Discussão

Foram observadas alterações histopatológicas nos cortes analisados do cérebro e fígado dos animais de ambos os grupos demonstrando que mesmo na infecção crônica, a cepa TgRhHmBrl produziu alterações patológicas nos tecidos. Nos cérebros do G1 foram encontrados focos inflamatórios e proliferação de células gliais, além de áreas de gliose representando lesões em processo de reparo tecidual. No entanto, as meninges mostraram infiltrados inflamatórios discretos ou ausentes. Em G2, foi mais frequente a presença de infiltrados nas meninges (meningite) e foram observadas áreas de lesões teciduais, com focos hemorrágicos e infiltrados inflamatórios linfomonocitários perivasculares (Figura 1).



A – G1: Meninges (seta) e parênquima cerebral sem alterações.

B – G1: Área de gliose (seta) e proliferação de células gliais ao redor. Vaso sanguíneo (seta vermelha).



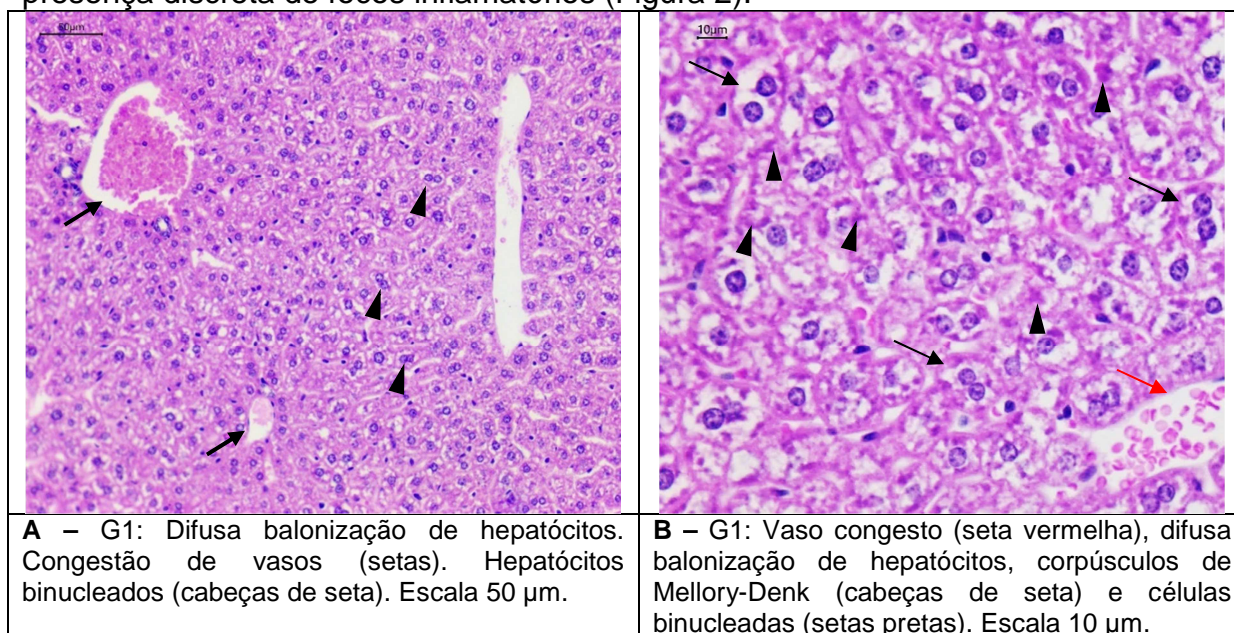
C – G2: Necrose recente com foco hemorrágico (setas) e infiltrado inflamatório perivascular (seta vermelha).

D – G2: Infiltrado inflamatório discreto nas meninges (setas). Parênquima cerebral preservado. Detalhe: discreto infiltrado linfomonocitário perivascular.

Figura 1. Cortes histológicos de cérebro de camundongos cronicamente infectados com a cepa tgRhHmBrl de *T. gondii*. A e B: G1– infectado e tratado com rosuvastatina 40mg/Kg; C e D: G2 – Infectado e não tratado (controle). Coloração HE.

Não foram observados cistos cerebrais nos cortes analisados de ambos os grupos. Embora as diferenças observadas entre os grupos G1 e G2 foram discretas, uma possível ação anti-inflamatória cerebral da rosuvastatina pode ter influenciado nos padrões observados, conforme demonstrado por estudos anteriores do nosso grupo de pesquisa (EVANGELISTA et al., 2021; NISHI et al., 2020). Estes mesmos autores relataram alterações mais intensas na infecção crônica pela cepa ME-49.

Os focos inflamatórios estavam ausentes ou discretos nos tecidos hepáticos de G1. Observou-se também uma discreta congestão de vasos e balonização difusa de hepatócitos (Figura 2). No G2, também se observou a balonização de hepatócitos, porém menos intensa. Neste grupo o tecido hepático se apresentou congestionado, com presença discreta de focos inflamatórios (Figura 2).



A – G1: Difusa balonização de hepatócitos. Congestão de vasos (setas). Hepatócitos binucleados (cabeças de seta). Escala 50 µm.

B – G1: Vaso congestionado (seta vermelha), difusa balonização de hepatócitos, corpúsculos de Mellory-Denk (cabeças de seta) e células binucleadas (setas pretas). Escala 10 µm.

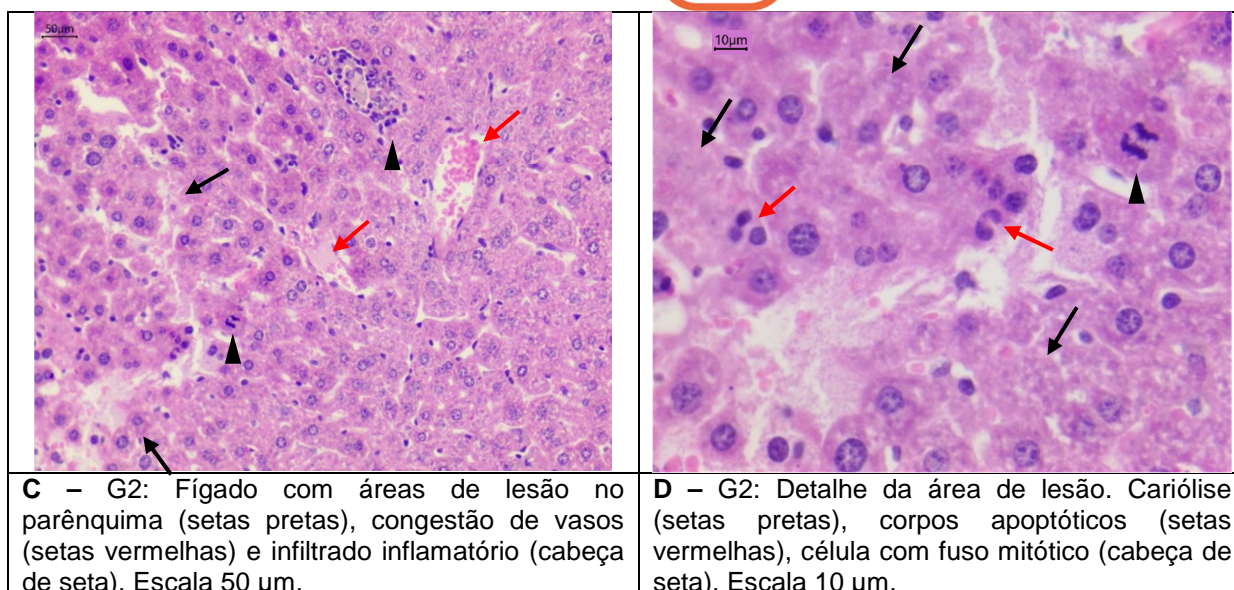


Figura 2. Cortes histológicas de fígado de camundongos cronicamente infectados com a cepa tgRhHmBrl de *T. gondii*. A e B: G1 – infectado e tratado com rosuvastatina 40mg/Kg; C e D: G2 – infectado e não tratado (controle). Coloração HE.

Estes resultados indicam que na infecção crônica, a inflamação e as lesões hepáticas já estão menos intensas, possivelmente devido ao controle da carga parasitária pelo sistema imunológico.

Conclusões

O estudo demonstra que durante a infecção crônica a cepa TgRhHmBrl produz efeitos lesivos ao hospedeiro. Embora as alterações inflamatórias no grupo tratado com rosuvastatina demonstraram discreta melhora em relação ao grupo não tratado, mais estudos são necessários para avaliar os efeitos deste medicamento e às características patogênicas desta linhagem no decurso da toxoplasmose crônica.

Referências

- DUBEY, J. P. *Toxoplasmosis of Animals and Humans*. 2ªed. **Flórida: CRC Press, Boca Raton**, 2016.
- EVANGELISTA, F. F. *et al.* A rosuvastatina reverte o comprometimento da memória e o efeito do tipo ansiogênico em camundongos infectados com a cepa crônica ME-49 de *Toxoplasma gondii*. **PloSOne**, v. 16, n. 4, p. e 0250079, 2021.
- NISHI, L. *et al.* Rosuvastatin reduced brain parasite burden in a chronic toxoplasmosis in vivo model and influenced the neuropathological pattern of ME-49 strain. **Parasitology**, v. 147, n. 3, p. 303–309, 2020.
- XIAO, J.; YOLKEN, R. H. Strain hypothesis of *Toxoplasma gondii* infection on the outcome of human diseases. **Acta Physiologica**, v. 213, n. 4, p. 828-845, 2015.