

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DA ROSUVASTATINA EM CAMUNDONGOS BALB/C INFECTADOS COM CEPA BR1 DE *Toxoplasma gondii*

Thaisa Andreia Ferreira (PIBIC/CNPq/FA/UEM); Fernanda Ferreira Evangelista (Co-autor); Priscilla de Laet Sant'Ana (Co-orientadora); Ana Lúcia Falavigna-Guilherme (Orientador), e-mail: alfguilherme@uem.br.

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

Área: Medicina, Anatomia Patológica e Patologia Clínica.

Palavras-chave: estatinas, toxoplasmose, histopatologia.

Resumo:

A toxoplasmose é uma zoonose mundialmente difundida, causada pelo protozoário *Toxoplasma gondii* com elevada prevalência e morbidade. Os tratamentos disponíveis não eliminam totalmente o parasito, e ainda possuem elevada toxicidade e efeitos colaterais. As estatinas vêm sendo estudadas como tratamento alternativo, pois reprimem a síntese de colesterol e isoprenóides, impedindo a replicação do parasita tanto *in vitro* como *in vivo*. O objetivo deste projeto foi avaliar a atividade da rosuvastatina em camundongos Balb/C infectados com a cepa BR1 de *T. gondii*, em fase aguda, e verificar alterações histopatológicas no fígado e pulmões dos camundongos e comparar entre os grupos testados. Os animais foram divididos em dois grupos, um tratado por 7 dias com rosuvastatina (40mg/kg/dia) por via oral (G1) e a outra metade recebeu apenas solução salina pelo mesmo método (G2) - controle. Os animais foram eutanasiados retirando-se o fígado e pulmões para processamento histológico e realizada a coloração pela técnica de HE. Foi possível observar lesões e necrose no fígado e pulmões dos animais infectados, mostrando que a cepa BR1 foi bastante virulenta, incluindo intensa proliferação de taquizoítos nestes órgãos, especialmente no grupo não tratado. A diferença na frequência dos achados entre os grupos foi discreta, porém para comparação dos efeitos do tratamento com a rosuvastatina na infecção aguda pela cepa BR1 de *T. gondii* faz-se necessários outros testes.

Introdução

A toxoplasmose é uma zoonose causada pelo protozoário intracelular obrigatório *Toxoplasma gondii*. A doença é geralmente assintomática, mas formas graves da infecção podem ocorrer em indivíduos imunocomprometidos ou na infecção congênita (REMINGTON, 2011). O *T.*

gondii possui uma alta variabilidade genética, sendo que quatro genótipos foram descobertos no Brasil, denominados, BrI, BrII, BrIII e BrIV (XIAO; YOLKEN, 2015), os quais têm sido associados à maior frequência e severidade das manifestações oculares observadas na América do Sul (BUTLER et al., 2013). O tratamento atual da toxoplasmose consiste na associação de sulfadiazina, pirimetamina e ácido folínico, que em conjunto agem na fase aguda da doença, ou reagudização, impedindo a replicação do parasita (NISHI et al., 2020). No entanto, este tratamento possui diversos efeitos colaterais e não elimina totalmente o parasito. Estudos recentes têm demonstrado efeitos anti-*T. gondii* *in vitro* e *in vivo* das estatinas, especialmente a rosuvastatina (NISHI et al., 2020). Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar alterações histopatológicas em animais infectados com a cepa brasileira BR1 e a atividade da rosuvastatina *in vivo*, na fase aguda da infecção.

Material e métodos

Camundongos Balb/C de idade entre 21 a 25 dias foram infectados com uma concentração de 1×10^5 taquizoítas de *Toxoplasma gondii*, cepa brasileira BR1, por via intraperitoneal. Metade dos animais foram tratados por 7 dias com rosuvastatina (40mg/kg/dia) por via oral - Grupo 1. A outra metade recebeu apenas solução salina pelo mesmo método - Grupo 2 (controle). Ao fim do experimento, os animais foram submetidos à anestesia com isofurano e eutanasiados com deslocamento cervical, conforme as normas da Resolução Normativa CONCEA nº 37, de 15.02.2018. Os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Conduta Ética no Uso de Animais em Experimentação (CEUA) da UEM (protocolo nº 5654290317). Foi colhido o líquido peritoneal para confirmação da infecção por PCR e retirados fígado e pulmão para análise histopatológica. Os órgãos foram fixados em solução de formalina 10% por 24h e conservados em álcool 70% para posterior processamento e emblocamento em parafina. Foram feitos cortes semi-seriados de 5µm em micrótomo, montando-se três cortes por lâmina, para posterior coloração com Hematoxilina-Eosina (HE). Avaliação microscópica foi feita para se observar a presença de alterações histopatológicas, como congestão, hemorragia, presença de focos inflamatórios, lesões e necrose tecidual.

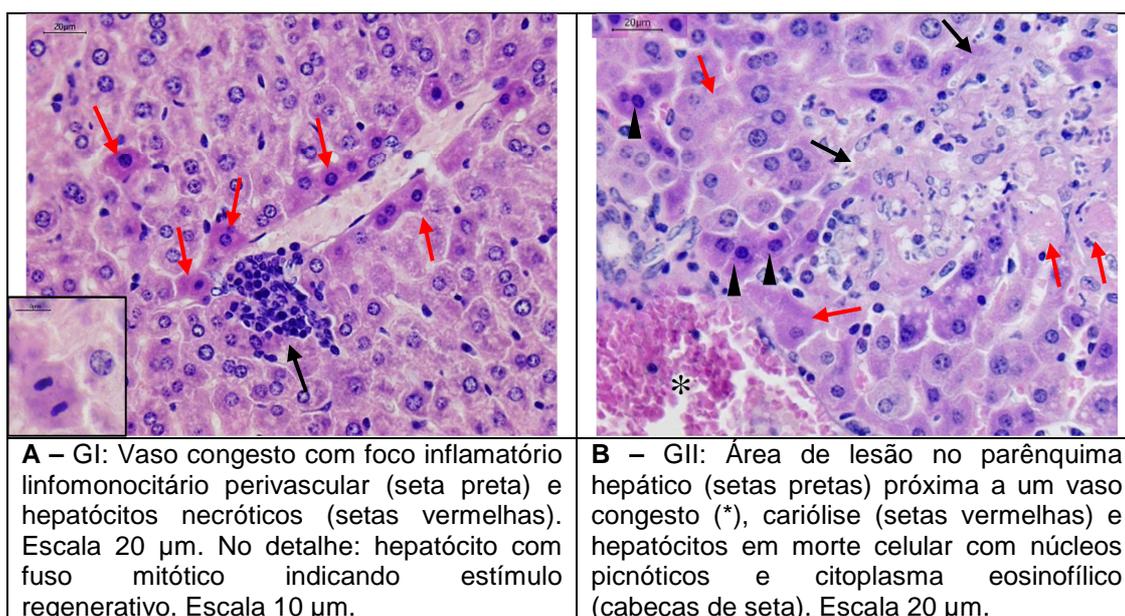
Resultados e Discussão

Na análise dos cortes histológicos do fígado dos animais tratados com a rosuvastatina (G1) foram observadas alterações como congestão vascular, focos inflamatórios perivasculares ou dispersos no parênquima, além de hepatócitos com sinais de lesão celular e intenso estímulo regenerativo, evidenciado pela presença de células com fuso mitótico e binucleadas. No grupo não tratado, além dessas alterações foram observados focos de necrose com infiltrado inflamatório onde observou-se a presença de taquizoítos de *T. gondii* (Figura 1 A, B e C). Os pulmões dos animais de

ambos os grupos apresentaram intensa congestão de vasos e capilares alveolares, septos espessados e desorganização histoarquitetural. Esse achado pode refletir a congestão pulmonar induzida durante a eutanásia e não uma alteração direta da infecção. Animais não infectados em experimentos do nosso grupo apresentaram as mesmas alterações. Entretanto, no grupo não tratado havia áreas de necrose no parênquima pulmonar com infiltrado inflamatório perivascular discreto. Nessas áreas foram observados taquizoítos de *T. gondii* dentro de macrófagos e dispersos no tecido (Figura 1 D, E e F).

Conclusões

A cepa BR1 se mostrou bastante virulenta provocando lesões e necrose no fígado e pulmões dos animais infectados, sendo possível observar intensa proliferação de taquizoítos nestes órgãos, especialmente no grupo não tratado, onde as lesões estavam mais intensas. A diferença na frequência dos achados entre os grupos foi discreta. Mais estudos são necessários para se avaliar o efeito da rosuvastatina na proliferação de taquizoítos da cepa BR1, durante a infecção aguda *in vivo*.



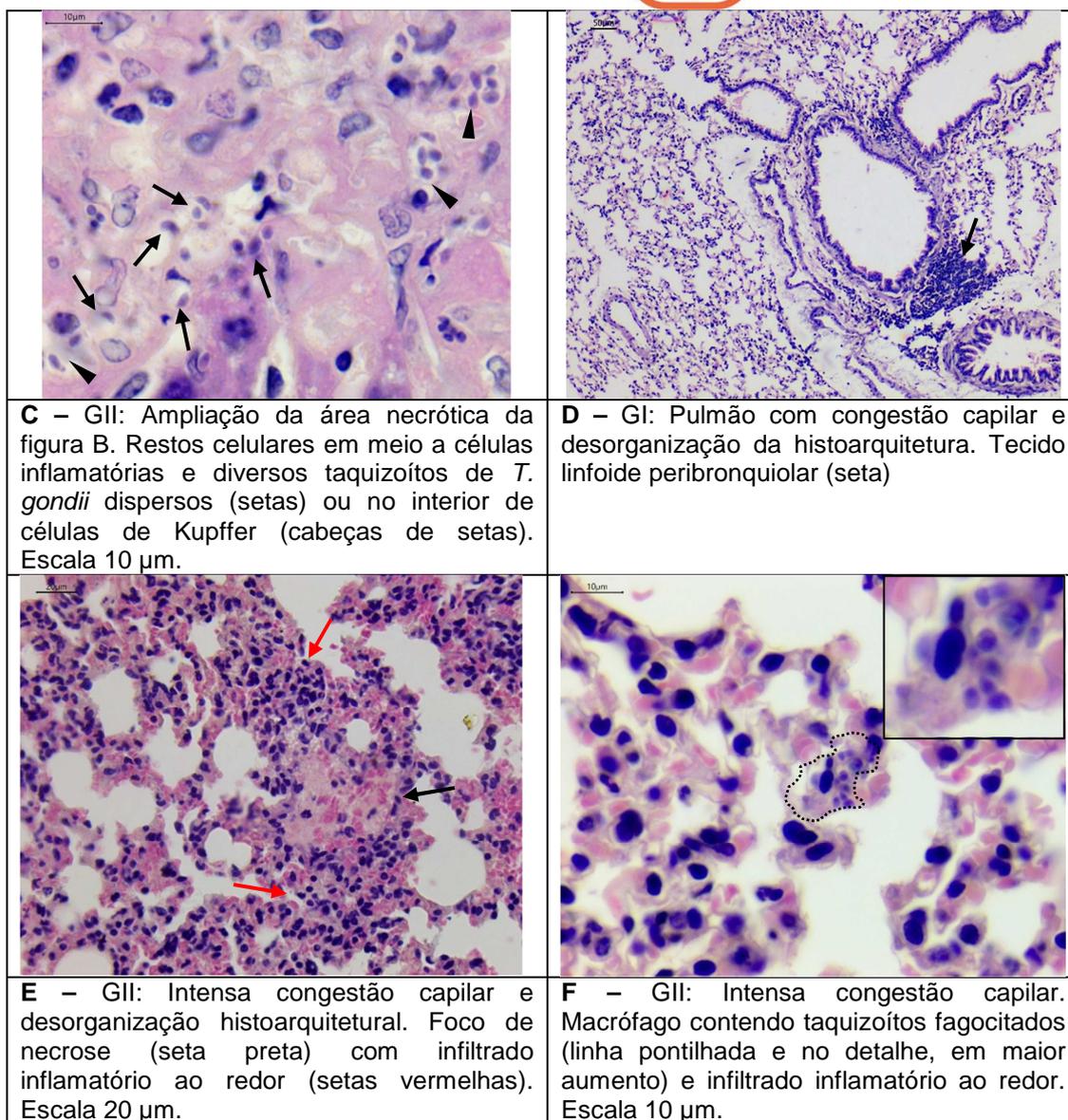


Fig. 1 – Cortes histológicas de fígado (A, B e C) e pulmões (D, E e F) de camundongos com infecção aguda pela cepa BR1 de *T. gondii*. GI – Infectado e tratado com rosuvastatina 40mg/Kg; GII – Infectado e não tratado (controle). Coloração HE.

Agradecimentos

Agradeço à Fundação Araucária - CNPq / PIBIC – UEM pela bolsa de iniciação científica; à Profa. Dra. Ana Lúcia Falavigna-Guilherme e Profa. Dra. Priscilla de Laet Sant’Ana pelo apoio e orientação, à doutoranda Fernanda Ferreira Evangelista pela imensa ajuda, assim como à toda a equipe do laboratório de Toxoplasmose UEM.

Referências

BUTLER, N.J. *et al.* Ocular toxoplasmosis II. clinical features, pathology and management. **Clin Exp Ophthalmol.** v. 41, n. 1, p. 95-108, 2013.

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.

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

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.