

AValiação HISTOPATOLÓGICA DA ATIVIDADE DA ROSUVASTATINA EM TECIDO CARDÍACO DE CAMUNDONGOS BALB/C INFECTADOS COM CEPAS CRÔNICAS DE *Toxoplasma gondii*.

Kayo Thiago Ribeiro Perroni (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Priscilla de Laet Sant'Ana, Fernanda Ferreira Evangelista (co-orientadora), Ana Lúcia Falavigna Guilherme (Orientadora). E-mail: alfalavignauem@gmail.com

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

Área e subárea do conhecimento: Ciências Biológicas/ Parasitologia, Protozoologia de Parasito

Palavras-chave: toxoplasmose; rosuvastatina; histopatologia.

RESUMO

O estudo objetivou a avaliação dos efeitos da rosuvastatina no tecido cardíaco de camundongos Balb/C infectados com cepas crônicas do parasito *Toxoplasma gondii* (TgRhHmBRI e ME-49). A rosuvastatina faz parte do um grupo das estatinas, que vêm sendo estudados como alternativa no tratamento da toxoplasmose em casos agudos, devido à elevada toxicidade e efeitos colaterais dos tratamentos convencionais. Ela inibe a enzima HMG-CoA redutase, diminuindo a disponibilidade de colesterol tecidual, intrínseco para a sobrevivência do *T. gondii*, além de apresentar efeitos anti-inflamatórios. Os animais utilizados foram infectados pelas cepas crônicas e divididos em 4 grupos: G1 - infectado e tratado com rosuvastatina 40 mg/kg/dia; G2 - infectados e não tratados; G3 - Não infectados e tratados com rosuvastatina 40mg/kg/dia e G4 - não infectado e não tratado. Ambos os grupos tratados receberam a rosuvastatina por 21 dias via gavagem e aguardou-se a cronificação por 50 dias. Após, os animais foram eutanasiados e os corações extraídos para o processamento e confecção das lâminas histológicas, nas quais avaliou-se a presença de processo inflamatório, necrose, edema e existência de cistos teciduais. Os dados foram processados com o GraphPad Prism software, concluindo-se que o tratamento com a rosuvastatina foi significativo para a redução de infiltrados inflamatórios apenas na cepa ME-49 de *T. gondii*, apresentando diferença estatística no fator infecção e tratamento.

INTRODUÇÃO

A toxoplasmose é uma zoonose causada pelo protozoário *Toxoplasma gondii*, amplamente distribuído em humanos (DUFFY *et al.*, 2019). A infecção ocorre pela ingestão de carne crua ou mal cozida com cistos do protozoário, ou por água, frutas e vegetais contaminados com fezes de felinos infectados. A doença pode ser grave em pacientes imunocomprometidos e fetos de gestantes infectadas, enquanto imunocompetentes geralmente são assintomáticos (MONCADA; MONTOYA, 2014). O tratamento com sulfadiazina e pirimetamina é eficaz na fase aguda, mas tem efeitos colaterais e não atua contra cistos na fase crônica (DUNAY *et al.*, 2018). Alternativas terapêuticas vêm sendo estudadas, como o caso das estatinas, que atuam inibindo a enzima hidroximetil-glutaril-CoA (HMG-CoA) redutase, responsável pela síntese de colesterol tecidual que é intrínseco para a sobrevivência de *T. gondii*, visto que ele é incapaz de sintetizar colesterol. Ademais, os efeitos anti-inflamatórios das estatinas podem contribuir para um menor dano tecidual e melhor resposta ao tratamento (CHO *et al.*, 2019). Foram demonstrados em estudos anteriores efeitos tanto *in vitro* como *in vivo* de estatinas na inibição da proliferação de *T. gondii*, o que demonstra uma alternativa em potencial dessas drogas para tratamento da toxoplasmose, tanto na fase aguda quanto na fase crônica (EVANGELISTA *et al.*, 2021).

MATERIAIS E MÉTODOS

Cepas de T. gondii

Foram utilizadas duas cepas de *Toxoplasma gondii*, a RhHmBR1 e a ME-49, fornecidas pelo Laboratório de Parasitologia do DBS/UEM. Essas cepas são transferidas retirando o cérebro dos animais após a eutanásia. O tecido cerebral é homogeneizado em um tubo Falcon com 1 ml de soro fisiológico, analisado e quantificado para infectar novos animais posteriormente.

Animais, infecção por T. gondii e tratamento

Foram utilizados camundongos Balb/C de 21 a 25 dias, os quais foram divididos em 4 grupos: G1 - Infectados e tratados com rosuvastatina 40 mg/kg/dia; G2 - Infectados e não tratados; G3 - Não infectados e tratados com rosuvastatina 40mg/kg/dia e G4 - Não infectados e não tratados. Os grupos G1 e G3 foram tratados com a rosuvastatina por 21 dias, diluída em solução fisiológica e administrada por gavagem. Ao final do experimento, no 72º dia, os animais foram submetidos à anestesia com isofurano e eutanásia por deslocamento cervical, sendo recolhidos os corações para as análises. Todos os procedimentos experimentais

seguiram a Resolução Normativa CONCEA nº 37, de 15.02.2018 e o projeto foi aprovado pelo CEUA/UEM, sob nº 5654290317.

Análise histopatológica

Os órgãos foram fixados em formaldeído a 10% por 18 horas e, em seguida, armazenados em etanol 70%. Os tecidos passaram por processamento histológico e emblocamento em parafina. Em seguida, cortados em micrótomo (Slee®) em cortes semi-seriados de 5µm, fixados em lâminas e corados pela técnica de Hematoxilina-Eosina (HE). As amostras foram analisadas em microscópio óptico comum e avaliadas semi-quantitativamente, realizando-se a média dos achados. Os dados foram analisados pelo teste ANOVA de duas vias, usando o software GraphPad Prism versão 8.0. Quando houve diferença significativa ($p < 0,05$), aplicou-se o pós-teste de Bonferroni para comparar os grupos específicos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi detectado intenso processo inflamatório nos grupos infectados pelas Cepas ME-49 e TgRhHmBRI, no qual o pós-teste de Bonferroni evidenciou que a infecção por ambas as cepas teve presença maior de infiltrado inflamatório em comparação com os grupos controle negativos e controle da droga ($p < 0,05$), como demonstra o gráfico da Figura 1.

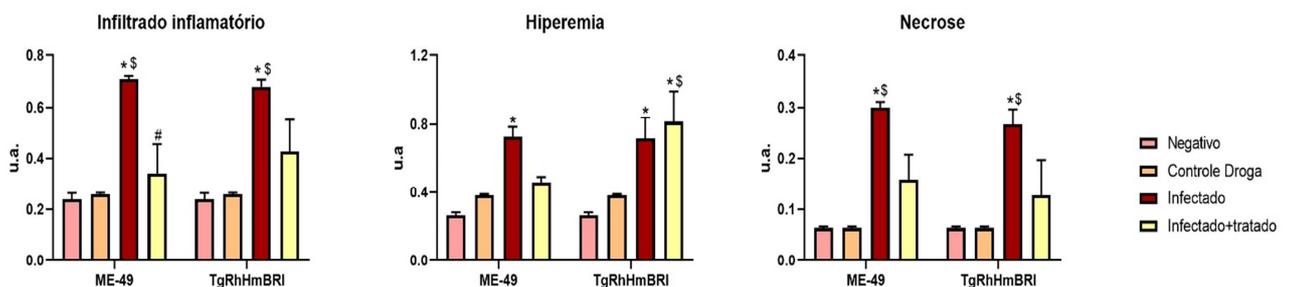


Figura 1 - * $P < 0,05$ vs. o respectivo grupo não infectado, \$ $P < 0,05$ vs. o grupo droga # $P < 0,05$ vs grupo infectado. ANOVA de duas vias seguida de teste post-hoc de Bonferroni. As barras representam a média \pm erro padrão da média

Houve diferença estatística no fator infecção e tratamento ($F(3, 34) = 16,63$ $p < 0,0001$). O tratamento com rosuvastatina reduziu significativamente o processo inflamatório apenas na cepa ME-49 ($p < 0,05$) (CHO *et al.*, 2019). Em relação à

necrose tecidual, houve maior acometimento do tecido cardíaco em ambas as cepas comparadas aos grupos controle negativo e controle da droga ($p < 0,05$), sem efeito significativo da rosuvastatina sobre a necrose (Figura 1). A infecção pelas cepas ME-49 e TgRhHmBRI promoveu maior hiperemia no tecido cardíaco em relação ao grupo controle negativo ($p < 0,05$), e a rosuvastatina não reduziu a hiperemia na cepa TgRhHmBRI ($p > 0,05$). Ademais, não foi encontrado cistos de *T. gondii* no tecido cardíaco de nenhum dos grupos infectados com as duas cepas.

CONCLUSÕES

Conclui-se que o tratamento com rosuvastatina apresentou efeito anti-inflamatório significativo apenas na cepa ME-49, não apresentando efeito significativo sobre a necrose cardíaca e sobre a hiperemia no tecido cardíaco. Entretanto, para as três variáveis, existiu diferenças significativas no fator infecção e tratamento.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq/FA/UEM pela concessão da Bolsa de Iniciação Científica. À minha orientadora e coorientadoras que me auxiliaram durante o processo.

REFERÊNCIAS

- CHO, O. et al. Beneficial anti-inflammatory effects of combined rosuvastatin and cilostazol in a TNF-driven inflammatory model. **Pharmacological Reports**, v. 71, n. 2, p. 266–271, 1 abr. 2019.
- DUFFY, A. R. et al. Toxoplasma gondii Serointensity and Seropositivity: Heritability and Household-Related Associations in the Old Order Amish. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, n. 19, p. 3732–3732, 3 out. 2019.
- DUNAY, I. R. et al. Treatment of Toxoplasmosis: Historical Perspective, Animal Models, and Current Clinical Practice. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 31, n. 4, 12 set. 2018.
- EVANGELISTA, Fernanda Ferreira et al. Rosuvastatin revert memory impairment and anxiogenic-like effect in mice infected with the chronic ME-49 strain of *Toxoplasma gondii*. **PlosOne**, v. 16, n. 4, p. e0250079, 2021.



MONCADA, P. A.; MONTOYA, J. G. Toxoplasmosis in the fetus and newborn: an update on prevalence, diagnosis and treatment. **Expert Review of Anti-infective Therapy**, v. 10, n. 7, p. 815–828, jul. 2014.