EFEITOS DO TRATAMENTO COM NEBIVOLOL NA HISTOPATOLOGIA DO TECIDO CEREBRAL DE CAMUNDONGOS CRONICAMENTE INFECTADOS COM *Toxoplasma gondii*

Ivana Barbosa Tessmann (PIBIC/FA/UEM), Vinicius França Scanavaca, Lívia Komai Gaspar, Giovanna de Carvalho, Natalia Castelhano de Oliveira, Tania Cristina Alexandrino Becker, Bruna Muller Cardoso (Co-orientador), Priscilla de Laet Sant'Ana (Orientador). E-mail: plsantana@uem.br.

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

Área e subárea do conhecimento: Medicina / Anatomia patológica e patologia clínica

Palavras-chave: Toxoplasmose crônica; cepa ME-49; reposicionamento de fármacos.

RESUMO

A toxoplasmose é uma zoonose causada por *Toxoplasma gondii*, cuja persistência em cistos no Sistema Nervoso Central durante a fase crônica induz neuroinflamação e danos histopatológicos, sendo o tratamento convencional restrito à fase aguda e de alta toxicidade. Este estudo objetivou avaliar os efeitos do tratamento com nebivolol, anti-hipertensivo com ação anti-*T. gondii* já demonstrada *in vitro* e *in vivo*, nas alterações histopatológicas e no número de cistos cerebrais em camundongos Swiss cronicamente infectados com a cepa ME-49 de *T. gondii.* Os animais foram distribuídos em quatro grupos: G1, controle negativo; G2, controle positivo infectado; G3, infectado e tratado com nebivolol 4mg/Kg/dia por 20 dias; e G4, controle da droga. Os hemisférios cerebrais foram processados histologicamente e corados por Hematoxilina-Eosina, avaliados por leitura cega quanto ao número de cistos e a alterações inflamatórias. Após análise semi-quantitativa, os dados foram comparados entre os grupos e analisados estatisticamente. O grupo tratado (G3) apresentou número de cistos significativamente menor que o grupo infectado não tratado (G2) (14,8 ± 2,94 vs. 19,2 ± 24,53; p=0,018). Os focos inflamatórios também diferiram significativamente entre os grupos, exceto entre G1 e G3, que apresentaram escores semelhantes. Conclui-se que o nebivolol reduziu significativamente tanto o número de cistos cerebrais quanto os focos inflamatórios, reforçando seu potencial como candidato a estudos futuros de reposicionamento de fármacos.

INTRODUÇÃO

A toxoplasmose é uma zoonose cosmopolita causada pelo protozoário *Toxoplasma gondii* (Dubey et al., 2012). Na fase crônica, a permanência do parasito em cistos teciduais no Sistema Nervoso Central induz neuroinflamação e danos

histopatológicos, podendo associar-se a déficits cognitivos e alterações de comportamento. O tratamento convencional, associação de sulfadiazina e pirimetamina, é restrito à fase aguda e apresenta alta toxicidade, tendo como efeitos adversos rash cutâneo, náuseas, vômitos e supressão medular (Mendez & Koshy, 2017; Evangelista et al., 2023), o que torna o reposicionamento de fármacos uma alternativa promissora na pesquisa de novos tratamentos contra a forma encistada. Destaca-se o nebivolol, um anti-hipertensivo beta-1 bloqueador, com promissora ação anti-*T. gondii in vitro* e *in vivo* e capacidade de cruzar a barreira hematoencefálica (da Silva Bellini Ramos et al., 2024). Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos do tratamento com nebivolol nas alterações histopatológicas e no número de cistos cerebrais em camundongos infectados cronicamente com a cepa ME-49 de *T. gondii*.

MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo avaliou tecido cerebral de camundongos cronicamente infectados com a cepa ME-49 de *Toxoplasma gondii*, distribuídos em quatro grupos: G1, controle negativo (não infectado com diluente DMSO, n=8); G2, controle positivo (infectado com diluente DMSO, n=10); G3, tratamento (infectado e tratado com nebivolol 4mg/Kg/dia por 20 dias, n=10); e G4, controle da droga (não infectado e tratado com nebivolol, n=4). Os tecidos foram obtidos de modelo murino de toxoplasmose crônica padronizado no Laboratório de Patologia da Universidade Estadual de Maringá (UEM), com aprovação do pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA/UEM, protocolo nº 1978211024), seguindo as normas do CONCEA. Os hemisférios cerebrais passaram por processamento histológico, e cortes semisseriados de 4 µm foram posicionados em lâminas e com Hematoxilina-Eosina (HE). A análise histopatológica foi realizada por leitura cega em microscópio de luz. Os cistos teciduais foram contados pelo método de varredura por corte histológico. As alterações histopatológicas como inflamação, edema, hemorragia, congestão, necrose e gliose foram analisadas por leitura semiquantitativa com atribuição de escores: 0 (zero) = ausente; 1 = discreto, 2 = moderado, 3 = crítico e 4 = intenso, de acordo com a frequência por campo microscópico. Os dados foram comparados entre os grupos por análise estatística considerando $p<0,05$ como significante.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise das lâminas resultou negativa para presença de cistos nos grupos controles não infectados (G1 e G4). O Teste T independente indicou que a média da contagem de cistos teciduais no grupo G3 (14,8 ± 2,94), foi significativamente inferior ($p=0,018$) à do grupo G2 (19,2 ± 24,53) (Figura 1A). Tais resultados sugerem que o nebivolol, reduziu significantemente a carga parasitária encistada no tecido cerebral. Em relação aos focos inflamatórios, o teste t de Welch seguida do pós-teste de

Bonferroni demonstrou diferença significativa entre os grupos, exceto entre G1 e G3 (Figura 1B). O G2 (infectado, não tratado) apresentou os maiores escores (1,96 ± 0,54), enquanto o G3 (infectado e tratado) apresentou valores reduzidos (1,18 ± 0,43), estatisticamente semelhantes ao G1 (1,00 ± 0,26). O G4 apresentou os menores valores para focos inflamatórios (0,39 ± 0,05). Esses resultados indicam que o nebivolol atenuou a resposta inflamatória associada à infecção crônica, aproximando ao padrão histopatológico em animais não infectados, sugerindo um efeito anti-inflamatório e neuroprotetor, podendo estar relacionados à via β3-eNOS/NO característica do nebivolol (da Silva Bellini Ramos et al., 2024). Os demais parâmetros (edema, hemorragia, congestão, necrose e gliose) apresentaram escores baixos e semelhantes entre os grupos, indicando que as alterações mais expressivas da infecção crônica concentraram-se no componente inflamatório. Os cistos teciduais de *T. gondi*i e as alterações histopatológicas podem ser vistas na Figura 2.

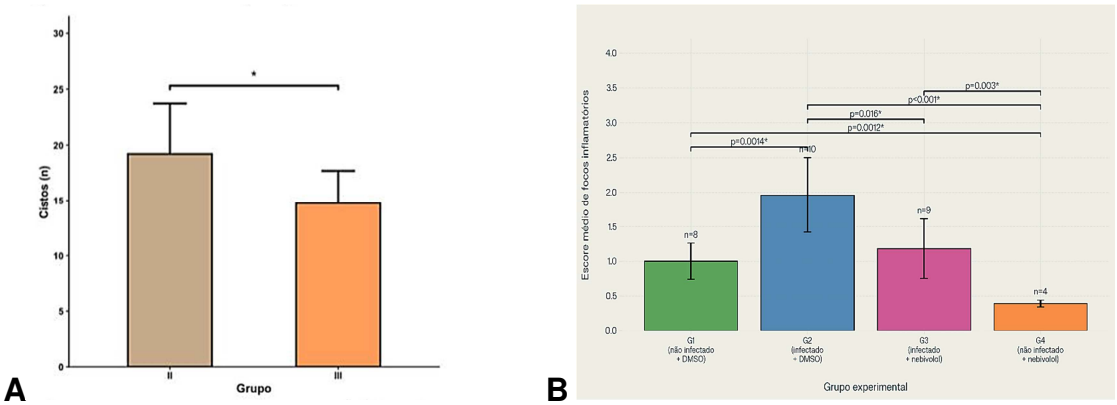
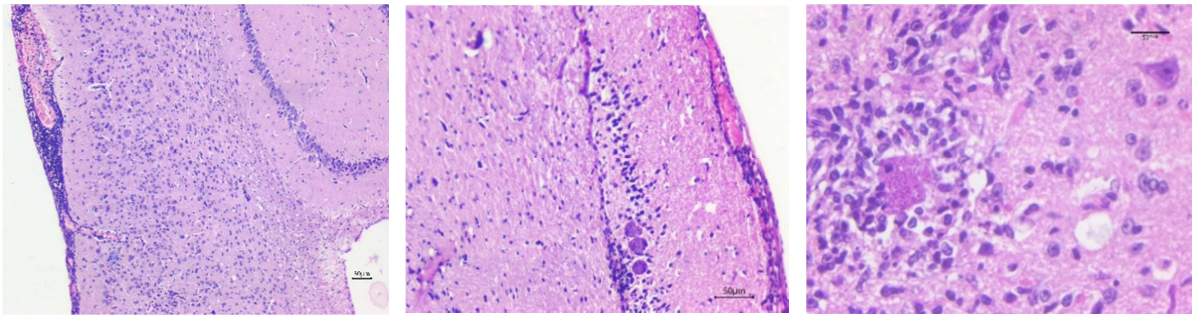


Figura 1 – Análise de cistos teciduais e focos inflamatórios em tecido cerebral de camundongos com toxoplasmose crônica. A) Número de cistos cerebrais. Dados expressos como média ± desvio padrão. Teste t para amostras independentes, *p=0,018; II - Grupo infectado; III = Grupo infectado e tratado com nebivolol. B) Focos Inflamatórios. G1 – controle negativo, não infectado + diluente (DMSO); G2 – controle positivo, infectado com a cepa ME49 de *Toxoplasma gondii* + diluente (DMSO); G3 – infectado e tratado com nebivolol; G4 – controle da droga, não infectado e tratado com nebivolol. Teste t de Welch com correção de Bonferroni para comparações múltiplas: GI vs. GII (p = 0,0014); GI vs. GIV (p = 0,0012); GII vs. GIII (p = 0,016); GII vs. GIV (p < 0,001); GIII vs. GIV (p = 0,0030); GI vs. GIII (p = 0,31), estatisticamente significante: p<0,05.



A **B** **C**

Figura 2 – Tecido cerebral de camundongo cronicamente infectado com *T. gondii*. A) Grupo G2 - Presença de infiltrado inflamatório perivascular na meninge e hiperemia de vaso próximo a cisto tecidual de *T. gondii* (10x); B) Grupo G2 - Presença de foco inflamatório próximo de três cistos teciduais de *T. gondii*; hiperemia de vasos e infiltrado inflamatório na meninge (20X); C) Grupo G3 - Cisto de *T. gondii* circundado por foco inflamatório (40X).

CONCLUSÕES

O tratamento com nebivolol reduziu significativamente o número de cistos cerebrais e atenuou os focos inflamatórios a níveis próximos de animais não infectados, devido a seu provável efeito anti-inflamatório relacionado a via β3-eNOS/NO. Esses resultados reforçam seu potencial como estratégia de reposicionamento terapêutico a ser mais bem explorada em estudos futuros.

AGRADECIMENTOS

À Fundação Araucária e à Universidade Estadual de Maringá pela concessão da bolsa PIBIC. À Prof.ª Dra. Priscilla de Laet Santana, Prof.ª Dra. Bruna Muller Cardoso, Prof.ª Dra. Tania Alexandrino Becker e Prof.ª Dra. Fernanda Ferreira Evangelista, pelos ensinamentos, paciência e compreensão durante a execução do projeto.

REFERÊNCIAS

DA SILVA BELLINI RAMOS, A. B. et al. Assessment of nebivolol efficacy in experimental models of toxoplasmosis: insights into parasite burden reduction and neuronal protection. **Parasitology Research**, v. 123, n. 8, p. 303, ago. 2024. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39160298/. Acesso em: 27 ago. 2026.

DUBEY, J. P.; LAGO, E. G.; GENNARI, S. M.; SU, C.; JONES, J. L. Toxoplasmosis in humans and animals in Brazil: high prevalence, high burden of disease, and epidemiology. **Parasitology**, v. 139, n. 11, p. 1375–1424, set. 2012. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22776427/. Acesso em: 27 ago. 2026.

EVANGELISTA, F. F. et al. Rosuvastatin reverts memory impairment and anxiogenic-like effect in mice infected with the chronic ME-49 strain of *Toxoplasma*

gondii. **PLOS ONE**, v. 16, n. 4, p. e0250079, abr. 2021. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33857221/. Acesso em: 27 ago. 2026.

MENDEZ, O. A.; KOSHY, A. A. *Toxoplasma gondii*: Entry, association, and physiological influence on the central nervous system. **PLOS Pathogens**, v. 13, n. 7, p. e1006351, jul. 2017. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28727854/. Acesso em: 27 ago. 2026.