



ESTATINAS COMO ALTERNATIVA TERAPÊUTICA PARA A TOXOPLASMOSE

STATINS AS AN ALTERNATIVE THERAPY FOR TOXOPLASMOSIS

Raquel Arruda Sanfelice⁽¹⁾
 Suelen Santos da Silva⁽¹⁾
 Daniele Sapede Alvarenga⁽¹⁾
 Larissa Rodrigues Bosqui⁽¹⁾
 Milena Menegazzo Miranda⁽¹⁾
 Gabriela Dalevedo Alcantara⁽¹⁾
 Wander Rogério Pavanelli⁽¹⁾
 Ivete Conchon-Costa⁽¹⁾

¹Departamento de Ciências Patológicas, Universidade Estadual de Londrina, PR, Brasil.

Luciano Aparecido Panagio⁽²⁾
 Ricardo Sergio Almeida⁽²⁾

²Departamento de Microbiologia, Universidade Estadual de Londrina, PR, Brasil.

Idessania Nazareth Costa^{(1)*}

*Endereço para correspondência:

Departamento de Ciências Patológicas, CCB, Laboratório de Parasitologia Experimental, Universidade Estadual de Londrina, PR, Brasil - Rodovia Celso Garcia Cid Campus Universitário, Cx. Postal 6001, CEP 86051-990 - Londrina – PR.
 Tel: +055-43-3371-4539
 Email: idessania@hotmail.com

RESUMO

A toxoplasmose, uma infecção causada pelo protozoário *Toxoplasma gondii*, assume caráter grave em indivíduos imunocomprometidos e em casos de infecção congênita. Dentre os vários processos celulares, a produção de precursores isoprenoides destaca-se como essencial para a sobrevivência deste protozoário. Sendo assim, fármacos, como as estatinas, que atuam na via do metabolismo de isoprenoides tornam-se importantes alternativas no tratamento da toxoplasmose, uma vez que a diminuição da biodisponibilidade de isoprenoides influencia negativamente a proliferação de *T. gondii* em células infectadas. Neste contexto, esta revisão relata estudos que investigaram a ação das estatinas como tratamento alternativo da toxoplasmose.

Palavras-Chave: toxoplasmose; *Toxoplasma gondii*; isoprenoides; estatinas.

ABSTRACT

Toxoplasmosis, infection caused by *Toxoplasma gondii*, takes serious character in immunocompromised individuals and in cases of congenital infection. Among various cellular processes, the production of isoprenoid precursors is essential to the survival of this parasite. Thus, drugs such as statins, which act in isoprenoid metabolism, become important alternatives to treatment of toxoplasmosis, as the decrease in the bio-availability of isoprenoid has a negative effect on the proliferation of *T. gondii* into infected host cells. In this context, this review reports studies that investigated the action of statins as an alternative treatment for toxoplasmosis.

Key Words: toxoplasmosis; *Toxoplasma gondii*; isoprenoid, statins.

INTRODUÇÃO

A Toxoplasmose é uma doença infecciosa causada pelo parasito intracelular obrigatório *Toxoplasma gondii*, sendo considerada uma das zoonoses parasitárias mais difundidas mundialmente, infectando cerca de um terço da população mundial (1). No Brasil a infecção por *T. gondii* em humanos atinge até 50% das crianças e 80% das mulheres em idade fértil (2).

A doença geralmente é assintomática em até 90% dos casos em imunocompetentes, no entanto, assume caráter grave em imunocomprometidos (3), infecção congênita (4) e em casos de acometimento ocular (5). Este amplo espectro de manifestações é determinado tanto pelo estado imunológico do hospedeiro quanto pela patogenicidade do parasito, determinado em partes pelo tipo de cepa do mesmo.

As cepas de *T. gondii* são caracterizadas como virulentas, por exemplo, a RH (tipo I), ou cistogênicas como a ME-49 (tipo II) ou ainda, cepas tipo III que se relacionam com o ciclo silvestre do parasito. Outros fatores também podem estar envolvidos na patogenicidade e diversidade da infecção, como localização geográfica (6) e nos casos de toxoplasmose congênita, o período gestacional (7).

A infecção humana ocorre principalmente pela ingestão de oocistos infectantes presentes em solo, água e vegetais ou por meio da ingestão de cistos teciduais contendo bradizoítos em carne crua ou mal cozida. Além disso, a infecção pode ocorrer via transfusão sanguínea, transplante de órgãos e transplacentária pelas formas taquizoítas de *T. gondii* (8).

T. gondii é um protozoário que pertence ao filo apicomplexa, caracterizado pelo complexo apical composto por organelas como as micronemas, as roptrias e os grânulos densos que participam dos processos de adesão e invasão celular (9,10). Além disso, *T. gondii* também apresenta uma organela típica de parasitos pertencentes a este filo, o apicoplasto (11), uma estrutura cromoplástica não fotossintetizante e homóloga aos cloroplastos

de plantas (12,13), onde ocorre biossíntese de mediadores relevantes para o parasito (14).

Dentre essas organelas, o apicoplasto tem como função o fornecimento de metabólitos para a síntese de ácidos graxos, de isoprenoides e de precursores do grupo heme (11). Os transportadores de membrana fosfato do apicoplasto (APT), presentes no apicoplasto, tem por função transportar fontes de carbono para que sejam utilizadas em vias de biossíntese. O bloqueio do APT1, presente em *T. gondii*, resulta em sua morte (15). Isso pôde ser comprovado a partir de estudos farmacogenéticos, onde os pesquisadores demonstraram que o apicoplasto é uma organela essencial para os organismos que a possuem, uma vez que a eliminação do apicoplasto e a interferência no seu genoma promovem a morte do protozoário (11,16), e diante disso, essa organela está sendo investigada como potencial alvo quimioterápico na toxoplasmose (11).

O tratamento de escolha para casos sintomáticos da toxoplasmose consiste na combinação de pirimetamina e sulfadiazina que atuam sinergicamente no bloqueio da via de síntese do folato por meio da inibição das enzimas dihidropteroatosintase (DHPS) e dihidrofolatorredutase (DHFR), essenciais para a sobrevivência e replicação do parasito (17), entretanto a pirimetamina apresenta efeitos tóxicos. Desta forma, recomenda-se a administração concomitante de ácido folínico pelo paciente a fim de reduzir os efeitos colaterais, como a supressão da medula óssea que pode ocasionar anemia megaloblástica, leucopenia e granulocitopenia (17,18).

Pela dificuldade no tratamento e pela toxicidade na utilização destas drogas preconizadas no tratamento da toxoplasmose (19,20), outros compostos são pesquisados como possível tratamento alternativo para esta infecção, destacando-se entre eles as estatinas (21-24).

As estatinas apontaram um novo caminho na terapia hipolepimiente por se tratarem de substâncias com elevada eficácia na redução plasmática do colesterol, auxiliando assim, na prevenção primária e

secundária das doenças cardiovasculares (25) onde atua inibindo os processos de síntese do colesterol e conseqüentemente diminuem a disponibilidade de vitamina D, de hormônios esteroides e de ácidos biliares (24).

Apesar do protozoário *T. gondii* não realizar a síntese de colesterol, existem evidências para a síntese de isoprenoides, uma via de lipídeos realizada no apicoplasto, a qual é essencial para as várias funções celulares, como no controle do crescimento celular, no transporte de elétrons mitocondrial e na síntese tRNA (23,24).

Diante dessas informações, o objetivo desta revisão foi relatar estudos que investigaram o papel das estatinas como alternativa terapêutica na toxoplasmose.

MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa bibliográfica foi desenvolvida com base em literatura especializada, no período de 01/1998 a 03/2015, com apenas duas citações específicas dos anos de 1973 e 1984, em periódicos disponíveis em meio eletrônico e na Biblioteca Setorial do CCB/UDEL, usando as seguintes palavras de busca: *Toxoplasma gondii*, estatinas, isoprenoides, apicoplasto. Foram utilizadas as Bases de Dados: National Center for Biotechnology Information (NCBI), a versão eletrônica do Index Medicus (MEDLINE) e SciELO.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Estatinas como Terapia Alternativa na Toxoplasmose

Existem seis estatinas comercializadas: a lovastatina, a sinvastatina, a pravastatina, a atorvastatina, a fluvastatina e a rosuvastatina. Estas estatinas atuam principalmente na inibição dos processos de síntese do colesterol e conseqüentemente diminuem a disponibilidade da vitamina D, dos hormônios esteroides e dos ácidos biliares (24). Assim, estes medicamentos são indicados para o tratamento de hipercolesterolemias por atuarem na via do mevalonato (23).

Este grupo de medicamentos exhibe semelhanças em sua estrutura básica e em seu mecanismo de ação, entretanto, diferenças nos substituintes podem levar a perfis farmacocinéticos distintos (26).

Independente de sua origem, todas as estatinas possuem em comum o ácido heptenoico como grupo farmacofórico, o qual mimetiza o mevalonato (substrato natural da enzima hidroximetilglutaril-CoA- HMG-CoA redutase) atuando como inibidor competitivo desta enzima (24).

Na via do mevalonato, inicialmente, três moléculas de acetil-Coenzima A (acetil-CoA) são condensadas para formação da hidroximetilglutaril-CoA (HMG-CoA). A redução do HMG-CoA em mevalonato é realizada pela enzima HMG-CoA redutase. O mevalonato, então, é convertido em isoprenoides que culminarão na formação do esqualeno, essencial na formação do colesterol (27,28). A atividade das estatinas ocorre sobre a enzima HMG-CoA redutase, bloqueando a conversão do substrato HMG-CoA em mevalonato e assim, inibe os processos iniciais da biossíntese de isoprenoides e conseqüentemente de colesterol (28).

Desta forma, a síntese de isoprenoides ocorre em humanos pela via do mevalonato e em protozoários como *T. gondii* a síntese ocorre no apicoplasto, por outras vias culminando na síntese de ácidos graxos, justificando a investigação das estatinas como inibidores da replicação de *T. gondii* (22,23,28).

Para melhor compreensão da ação das estatinas no protozoário, vale ressaltar que apesar do colesterol não ser sintetizado por *T. gondii*, os isoprenoides são essenciais para o mesmo (23,29).

O conjunto dos compostos isoprênicos é biossintetizado a partir de dois precursores: isopentenil pirofosfato (IPP) e seu isômero dimetilalil pirofosfato (DMAPP). Esses dois precursores atuam diretamente na biossíntese de moléculas de diversos processos biológicos como na prenilação de proteínas, na manutenção da membrana celular, na síntese de hormônios, de proteínas de ancoragem e em processo de glicosilação. O IPP e o DMAPP podem ser

biossintetizadas pela via do mevalonato, que ocorre em quase todos eucariotos, e pela via do 2C-metil-D-eritritol-4-fosfato (MEP), também conhecida como via DOXP/MEP que ocorre nos protozoários. Desta forma, *T. gondii* sintetiza isoprenoides pela via DOXP no apicoplasto (30).

Nair et al. (31) demonstraram o papel imprescindível desta via neste protozoário ao utilizarem a cepa RH de *T. gondii in vitro*, com deleções gênicas (knockouts) para dois estágios diferentes da via do DOXP, impossibilitando a síntese de IPP ou DMAPP que conseqüentemente foram letais para o parasito. Os autores demonstraram ainda que a importação do carbono é um dos fatores essenciais para a síntese de ácidos graxos e que a via DOXP poderia ser um alvo quimioterápico promissor. Ao testar a sensibilidade de *T. gondii* à fosmidomicina, inibidor da via DOXP, sugeriram possíveis mecanismos de resistência do parasito, associando o apicoplasto com a sensibilidade à droga.

Além de utilizar componentes lipídicos sintetizados no apicoplasto, o *T. gondii* também utiliza os compostos lipídicos da célula hospedeira, o que foi demonstrado em estudo realizado por Li et al. (23), onde ao infectarem os fibroblastos de camundongos com a cepa RH de *T. gondii* selvagem e knockouts para via DOXP. Nesse experimento, os pesquisadores constataram que houve o crescimento de ambas as cepas (selvagens e knockouts) no interior desta célula, evidenciando que ocorreram interações metabólicas de *T. gondii* com a célula hospedeira durante a infecção, onde o parasito foi hábil ao importar estes compostos de origem lipídica a partir da célula infectada.

A interação metabólica entre o parasito e o hospedeiro também foi descrita por outros autores (30,32) que afirmaram que a replicação de *T. gondii* é reduzida quando as fontes de colesterol do hospedeiro e do parasito estão limitadas, reforçando que o metabolismo de lipídios torna-se essencial para a infecção e persistência de *T. gondii* em hospedeiros mamíferos (33).

Os principais estudos que evidenciam a ação de estatinas em *T. gondii* utilizaram:

sinvastatina, lovastatina, rosuvastatina e atorvastatina (22,23,28).

A atividade da sinvastatina, da rosuvastatina e da atorvastatina foi avaliada por Cortez et al. (22) em macrófagos peritoneais de camundongos Swiss infectados com taquizoítas de *T. gondii*. Neste estudo foi observado que as três drogas atuaram contra a proliferação do parasito, no entanto a sinvastatina isoladamente inibiu mais de 50% a proliferação do parasito quando utilizada as concentrações de 30 e 40 µg/mL, demonstrando que as estatinas inibem *in vitro* a multiplicação de taquizoítas de *T. gondii* de maneira dose-dependente.

Nishikawa et al. (28) utilizaram a lovastatina em pré-tratamento de macrófagos murinos após a infecção com *T. gondii* e descreveram uma redução significativa no crescimento deste parasito (IC50 em 17.1 µM), ressaltando a relevância da via do mevalonato do hospedeiro na replicação do mesmo. Estes dados nos revelam que as estatinas podem afetar a produção de compostos não esteróis e isoprenoides.

Quando avaliado o efeito *in vivo* da atorvastatina sobre camundongos Swiss infectados com a cepa RH de *T. gondii*, observou-se que estes animais aumentaram a sobrevivência por mais de 30 dias quando comparado com animais não tratados (23).

Apesar das evidências da atuação das estatinas em protozoários *T. gondii*, os trabalhos ainda são escassos e, portanto, outros estudos devem ser realizados para a investigação deste grupo de medicamentos para este fim, assim como para o entendimento do mecanismo de ação, pois as estatinas podem apresentar efeito direto no parasito, sobre o apicoplasto, bem como indireto, suprimindo a disponibilidade de fontes de colesterol do hospedeiro utilizadas pelo protozoário.

CONCLUSÃO

Devido ao papel inibidor da síntese de colesterol no hospedeiro e também pela possível ação direta das estatinas no apicoplasto, estas têm sido investigadas na

toxoplasmose experimental tanto por atuarem direta quanto indiretamente na replicação do parasito. Esta revisão mostra estudos promissores sobre as estatinas ressaltando a relevância das mesmas como alternativa terapêutica para a toxoplasmose.

REFERÊNCIAS

- (1) SAADATNIA, G.; GOLKAR, M. A review on human toxoplasmosis. **Scandinavian Journal of Infectious Diseases**, Stockholm, v. 44, n. 11, p. 805-814, 2012.
- (2) DUBEY, J. P. et al. Toxoplasmosis in humans and animals in Brazil: high prevalence, high burden of disease, and epidemiology. **Parasitology**, London, v. 139, n. 11, p.1375-1424, 2012.
- (3) KAWAZOE, U.; MINEO, J. R. *Toxoplasma gondii*. In: NEVES, D.P.; et al. **Parasitologia humana**. 12^a ed. São Paulo: Atheneu, Cap. 18, p. 163-172, 2011.
- (4) MCAULEY, J. B. Congenital Toxoplasmosis. **Journal of the Pediatric Infectious Diseases Society**, Oxford, v.3, p. S30-S35, 2014.
- (5) MEIRA, C. S. et al. Cerebral and ocular toxoplasmosis related with IFN- γ , TNF- α , and IL-10 levels. **Frontiers in Microbiology**, New York, v. 5, p. 492, 2014.
- (6) DUBEY, J. P. et al. Epidemiology of toxoplasmosis in white tailed deer (*Odocoileus virginianus*): occurrence, congenital transmission, correlates of infection, isolation, and genetic characterization of *Toxoplasma gondii*. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 202, n. 3 - 4 p. 270-275, 2014.
- (7) MONTOYA, J. G.; REMINGTON, J. S. Management of *Toxoplasma gondii* infection during pregnancy. **Clinical Infectious Diseases**, Chicago, v. 47, n. 4, p. 554-566, 2008.
- (8) Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Toxoplasmosis (*Toxoplasma* infection). Disponível em: <http://www.cdc.gov/parasites/toxoplasmosis/biology.html> Acesso em: March 20, 2015.
- (9) CARRUTHERS, V. B.; TOMLEY, F. M. Microneme proteins in apicomplexans. **Subcellular Biochemistry**, New York, v. 47, p. 33-45, 2008.
- (10) DUBEY, J. P.; FRENKEL, J. K. Experimental *Toxoplasma* infection in mice with strains producing oocysts. **Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 59, n. 3, p. 505-512, 1973.
- (11) QIDWAI, T., KHAN, F. Antimalarial drugs and drug targets specific to fatty acid metabolic pathway of *Plasmodium falciparum*. **Chemical Biology & Drug Design**, Oxford, v. 80, n. 2, p. 155-172, 2012.
- (12) BORST, P. et al. DNA circles with cruciforms from Isospora (*Toxoplasma gondii*). **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v.781, n. 1-2, p. 100-111, 1984.
- (13) WALLER, R. F.; MCFADDEN, G. I. The apicoplast: a review of the derived plastid of apicomplexan parasites. **Current Issues in Molecular Biology**, Wymondham, v. 7, n. 1, p. 57-79, 2005.
- (14) SEEBER, F.; SOLDATI-FAVRE, D. Metabolic Pathways in the Apicoplast of Apicomplexa. **International Review Of Cell and Molecular Biology**, Knoxville, v. 281, p. 161-228, 2010.
- (15) LIM, L. et al. The carbon and energy sources of the non-photosynthetic plastid in the malaria parasite. **Federation of European Biochemical Societies**, Amsterdam, v. 584, n. 3, p. 549-554, 2010.
- (16) DEROCHER, A. E. et al. Apicoplast targeting of a *Toxoplasma gondii* transmembrane protein requires a cytosolic tyrosine-based motif. **Traffic**, Malden, v.13, n. 5, p. 694-704, 2012.

- (17) ANDERSON, A. C. Targeting DHFR in parasitic protozoa. **Drug Discovery Today**, Oxford, v. 10, n. 2, p. 121-128, 2005.
- (18) PETERSEN, E. Toxoplasmosis. **Seminars in fetal and neonatal medicine**, Netherlands, v. 12, n. 3, p. 214-223, 2007.
- (19) DEROUIN, F.; SANTILLANE-HAVAT, M. Anti-*Toxoplasma* Activities of Antiretroviral Drugs and Interactions with Pyrimethamine and Sulfadiazine *in Vitro*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Washington, v. 44, n. 9, p. 2575-2577, 2000.
- (20) ELSHEIKHA, H. M. Congenital toxoplasmosis: priorities for further health promotion action. **Public Health**, London, v.122, n. 4, p. 335-353, 2008.
- (21) BARBOSA, M. A. et al. Potenciais alternativas terapêuticas em estudo para toxoplasmose congênita: uma revisão bibliográfica. **Revista de Patologia Tropical**, Goiânia, v. 44, n. 1, p. 1-11, 2015.
- (22) CORTEZ, E. et al. Statins inhibit *Toxoplasma gondii* multiplication in macrophages *in vitro*. **International Journal of Antimicrobial Agents**, Amsterdam, v. 33, n. 2, p. 185-186, 2009.
- (23) LI, Z. H. et al. *Toxoplasma gondii* relies on both host and parasite isoprenoids and can be rendered sensitive to atorvastatin. **PLoS Pathogens**, San Francisco, v. 9, n.10, p. 1-12, 2013.
- (24) MASON, R. P. Molecular basis of differences among statins and a comparison with antioxidant vitamins. **American Journal of Cardiology**, New York, v. 98, n. 11, p. 34-41, 2006.
- (25) GARCÍA-SABINA, A. et al. Consideraciones específicas la prescripción e intercambio terapéutico de estatinas. **Farmacia Hospitalaria**, Madrid, v. 36, n. 2, p. 97-108, 2012.
- (26) GAZZERRO, P. et al. Pharmacological Actionsof Statins: A Critical Appraisal in the Management of Cancer. **Pharmacological reviews**, Baltimore, v. 64, n. 1, p.102-46, 2012.
- (27) CHRISTIANS, U.; JACOBSEN, W.; FLOREN, L. C. Metabolism and drug interactions of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors in transplant patients: are the statins mechanistically similar? **Pharmacol & Therapeutics**, Oxford, v. 80, n. 1, p. 1-34, 1998.
- (28) NISHIKAWA, Y. et al. Host cholesterol synthesis contributes to growth of intracellular *Toxoplasma gondii* in macrophages. **Journal of Veterinary Medical Science**, Tokyo, v. 73, n. 5, p. 633-39, 2011.
- (29) LIAO, J. K. Isoprenoids as mediators of the biological effects of statins. **Journal of Clinical Investigation**, New York, v. 110, n. 3, p. 285-288, 2002.
- (30) COPPENS, I. Targeting, lipid biosynthesis and salvage in apicomplexan parasites for improved chemotherapies. **Nature Review Microbiology**, London, v.11, n. 12, p. 823-835, 2013.
- (31) NAIR, S. C. et al. Apicoplast isoprenoid precursor synthesis and the molecular basis of fosmidomycin resistance in *Toxoplasma gondii*. **Journal of Experimental Medicine**, New York, v. 208, n. 7, p. 1547-1559, 2011.
- (32) SONDA, S.; HEHL, A. B. Lipid biology of Apicomplexa: perspectives for new drug targets, particularly for *Toxoplasma gondii*. **Trends in Parasitology**, Oxford v. 22, n. 1, p. 41-47, 2006.
- (33) COPPENS, I. Exploitation of auxotrophies and metabolic defects in *Toxoplasma* as therapeutic approaches. **International Journal for Parasitology**, New York, v. 44, n. 2, p. 109-120, 2014.

Enviado: 31/08/2015
 Revisado: 21/10/2015
 Aceito: 06/11/2015