

AVALIAÇÃO DO EFEITO IMUNOSSUPRESSOR DA CICLOSPORINA A NA TOXOCARIÁSE EXPERIMENTAL

ADRIANE LEITES STROTHMANN¹; WESLEY DOUGLAS DA SILVA TERTO²;
MICAELÉ QUINTANA DE MOURA²; LEONARDO MORTAGUA DE CASTRO²;
LUCIANA FARIAS DA COSTA AVILA²; MARIA ELISABETH AIRES BERNE³

¹Universidade Federal de Pelotas – adri_ane19@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – wesley.bio.ufrpe@hotmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – bernemea@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A toxocaríase é uma doença de caráter zoonótico (TAIRA *et al.*, 2004; KATAGIRI & OLIVEIRA-SEQUEIRA, 2002) sendo as principais espécies relacionadas à infecção, *Toxocara canis* (LEE *et al.*, 2010) e *Toxocara cati* (FISHER, 2003). Estes parasitos têm como hospedeiros definitivos cães e gatos, respectivamente, e, nestes hospedeiros, são encontradas as formas adultas no intestino delgado (DESPOMMIER, 2003). *Toxocara canis* apresenta grande representatividade de hospedeiros paratênicos e acidentais, nos quais se inclui o homem (CARVALHO & ROCHA, 2011).

A imunossupressão refere-se à redução da eficiência do sistema imunológico, e é usualmente aplicada na redução quanto às chances de rejeição de órgãos transplantados. Imunossupressores também são utilizados para o tratamento de doenças autoimunes como lupus artrite reumatoide, esclerose sistêmica, doença inflamatória intestinal, entre outras (REZENDE, 2011;).

A supressão do sistema imune pode permitir a reativação do parasito que outrora se encontrava em estado de quiescência, ocasionando uma maior intensidade de infecção parasitária. Este fato é importante principalmente no caso das protozooses, possibilitando que tais parasitos se disseminem pelo organismo intensificando a infecção (SILVA *et al.*; 2011; BRAZ *et al.* 2015).

Trabalhos realizados anteriormente relatam a reativação de formas latentes de parasitos em indivíduos imunossuprimidos patologicamente ou submetidos à imunossupressão farmacológica (FERREIRA *et al.*, 2008; SILVA *et al.*, 2011; BRUM *et al.*, 2013). Em estudos experimentais foi observado que camundongos BALB/c imunossuprimidos antes da infecção por *T. canis* apresentaram um maior percentual de larvas (LESCANO *et al.*, 2004; AVILA *et al.*, 2012).

Considerando a elevada soroprevalência de *T. canis* registrada no Brasil (SOUZA *et al.*, 2011) assim como o importante número de pessoas que utilizam medicações imunossupressoras (GUERRA JUNIOR *et al.*, 2010; ACURCIO *et al.*, 2013), torna-se importante que estudos relacionados à infecção por este nematódeo e sua relação com a imunossupressão sejam mais explorados. Assim, para uma melhor compreensão da importância da competência do sistema imune no curso desta infecção, este estudo visou avaliar o efeito da Ciclosporina A sobre a intensidade de infecção em camundongos *Swiss* infectados experimentalmente com *Toxocara canis*.

2. METODOLOGIA

Utilizou-se neste experimento um total de 10 camundongos *Swiss*, fêmeas, entre cinco e sete semanas de idade, providas do Biotério Central da UFPEL. Os

animais foram mantidos sob temperatura controlada 22 ($\pm 2^\circ\text{C}$) e ciclo de iluminação claro-escuro (12 horas), tendo ração (sem adição de antibióticos e antifúngicos) e água ad *libitum*.

Para recuperação de *T. canis* cães com idade entre quatro e oito semanas foram tratados com pamoato de pirantel (15 mg/Kg) para a eliminação de formas adultas de *T. canis*. Após, foi realizada a identificação, sexagem, e histerectomia para coleta dos ovos que foram incubados em formalina 2%, a 28°C, umidade acima de 80%, sob aerações diárias, durante 30 dias (AVILA, 2012).

Para a realização do experimento foram formados dois grupos de 5 camundongos (G1, G2). Os animais dos grupos G1 receberam doses de CsA 50 mg/Kg, 15 dias alternados, antes da infecção. Os animais do G2 (controle) receberam doses de PBS, durante o mesmo período. A seguir, foi realizada a inoculação via oral de 1.200 ovos embrionados, por camundongo (AVILA, 2012).

Ao final do período experimental (30 dias) os animais foram submetidos à eutanásia. Posteriormente, foi realizada a técnica de recuperação das larvas de *Toxocara canis* por meio da digestão tecidual dos órgãos (fígado, pulmões) utilizando solução de pepsina 1% e ácido clorídrico (HCl) 1%, mantendo sob agitação constante, a 37° C (Wang & Luo, 1998) que foram analisados em microscópio ótico 10X.

O presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Pelotas (CEEA – 7921). A significância estatística, entre os grupos foi avaliada pelo test-t, onde foi considerado como estatisticamente significativo valores de $p < 0,05$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A intensidade de infecção ($M \pm DP$) nos dois órgãos, dos grupos em estudo, está apresentada na Tabela 1. Observaram-se diferenças significativas quanto ao número de larvas no fígado e nos pulmões, quando comparado o G1 (CsA 50 mg/Kg) com G2 (controle).

TABELA 1 – Número de larvas de *T. canis* (média \pm desvio-padrão) recuperadas nos órgãos de camundongos previamente tratados com ciclosporina A (n=5).

VARIÁVEIS	G1 (CsA 50 mg/Kg)	G2 - Controle (S/ imunossupressão)	Teste T
Fígado	28.00 \pm 9.82 ^b	13,2 \pm 3,35 ^a	$p = 0,03$
Pulmões	9.4 \pm 3.74 ^b	3,8 \pm 2,44 ^b	$p = 0,10$
Total	37,4 \pm 9,96 ^b	17 \pm 2,40 ^a	$p = 0,01$

^{a,b} não existem diferenças significativas entre grupos com a mesma letra: $p < 0,05$

Este estudo avaliou o efeito supressor da CsA na carga parasitária de *T. canis*. Quando administrada CsA na dose de 50 mg/Kg, foi possível observar aumento na intensidade de infecção, com um percentual de recuperação das larvas de *T. canis* 120% maior em relação ao grupo controle.

O efeito imunossupressor da CsA durante a infecção por *T. canis* já foi observado anteriormente em estudo semelhante, onde foi verificado que a CsA, apresentou efeito imunossupressor e aumentou a intensidade de infecção por *T. canis* em camundongos BALB/c infectados com 300 ovos larvados de *T. canis* (LESCANO *et al.*, 2004). Entretanto, no presente estudo, foram avaliados

aspectos não testados anteriormente como: a linhagem de camundongo *Swiss*, número de ovos de 1.200.

O efeito de outros fármacos imunossupressores, como ciclofosfamida, utilizado na dose de 50 mg/Kg, também demonstrou efeito imunossupressor em camundongos infectados por *T. canis*, promovendo um aumento na intensidade da infecção de 162,1% com relação ao grupo controle (AVILA *et al.*, 2012).

Embora outros trabalhos realizados anteriormente tenham destacado o efeito antiparasitário da CsA em diversas protozooses e helmintoses (CHAPPELL & WASTLING, 1992; COLEBROOK; JENKINS; LIGHTOWLERS, 2002), neste estudo, houve comprovado efeito imunossupressor observado pela maior intensidade de infecção em camundongos que receberam CsA.

A partir deste estudo foi possível conhecer a dinâmica da toxocaríase em modelo experimental *Mus musculus* (*Swiss*), visto que não tinha sido realizado estudo nesta linhagem utilizando a CsA como imunossupressor. A introdução de fármacos imunossupressores no tratamento das doenças autoimunes foi acompanhada por um aumento na notificação de parasitoses (BRAZ *et al.*, 2015), principalmente as protozooses. Contudo, estudar a relação destas medicações com as helmintoses ainda necessita maior atenção.

4. CONCLUSÕES

A supressão da ciclosporina A na dose de 50 mg/kg aumentou a intensidade da infecção por *Toxocara canis*, comprovando assim seu efeito imunossupressor. Desta forma, é importante que pacientes que dependem deste medicamento sejam monitorados para esta e demais parasitoses.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA

- ACURCIO, F.A.; SATURNINO, L.T.M.; SILVA, A.L.; OLIVEIRA, G.L.A.; ANDRADE, E.I.G.; CHERCHIGLIA, M.L.; CECCATO, M.G.B. Análise de custo-efetividade dos imunossupressores utilizados no tratamento de manutenção do transplante renal em pacientes adultos no Brasil. **Cad. Saúde Pública**, v. 29 p. S92-S109, 2013.
- AVILA, L.F.C.; FONSECA, J.S.V.; DUTRA, G.F.; TELMO, P.L.; SILVA, A.M.W.A.; BERNE, M.E.A.; SILVA, P.E.A.; CONCEIÇÃO, F.R.; SCAINI, C.J. Evaluation of the immunosuppressive effect of cyclophosphamide and dexamethasone in mice with visceral toxocaríasis. **Parasitol Res**, v. 110, p. 443–447, 2012.
- BRAZ, A.S.; ANDRADE, C.A.F.; MOTAD, L.M.H.; LIMA, C.M.B.L. Recomendações da Sociedade Brasileira de Reumatologia sobre diagnóstico e tratamento das parasitoses intestinais em pacientes com doenças reumáticas autoimunes. **Rev Bras Reumatol**, v. 55, n. 4, p. 368–380, 2015.
- BRUM, J.W.A.; CONCEIÇÃO, A.S.; GONÇALVES, F.V.C.; MAXIMIANO, L.H.S.; DINIZ, L.B.M.P.V.; PEREIRA, M.N.; SILVA, E.S. Parasitoses oportunistas em pacientes com o vírus da imunodeficiência humana. **Rev Bras Clin Med**, v. 11, n. 3, p. 280-288, 2013.
- CARVALHO, E. A; ROCHA, R. L. Toxocaríasis: visceral larva migrans in children. **J Pediatr**, v. 87, n. 2, p. 100-110, 2011.
- CHAPPELL, L.H.; WASTLING, J.M. Cyclosporin A: antiparasite drug, modulator of the host–parasite relationship and immunosuppressant. **Parasitology**, v. 105, S25–S40, 1992.

- COLEBROOK, A.L.; JENKINS, D.D; LIGHTOWLERS, M.W. Anti-parasitic effect of cyclosporin A on *Echinococcus granulosus* and characterization of the associated cyclophilin protein. **Parasitology**, v. 125, p. 485-493, 2002.
- DESPOMMIER, D. Toxocaríasis: Clinical aspects, epidemiology, medical ecology and molecular aspects. **Clin Microbiol Rev**, v.16, n.2, p.265-272, 2003.
- FERREIRA, C.M.; BARBOSA, N.S.; FERREIRA, W.A.; SOUZA, R.L.; NEVES, M.A.; CARVALHO, A.L.; BARBOSA, M.G.V. Infecção pulmonar por *Strongyloides stercoralis* em paciente tratado com imunossupressores. **Vet Pat Trop**, v. 37, n. 3, p.275-280, 2008.
- FISHER, M. *Toxocara cati*: an underestimated zoonotic agent. **Trends Parasitol**, v.19, n.4, p.167–170, 2003.
- GUERRA JUNIOR, A.A.; ACÚRCIO, F.A.; ANDRADE, E.I.G.; CHERCHIGLIA, M.L.; CESAR, C.C.; QUEIROZ, O.V.; SILVA, G.D. Ciclosporina versus tacrolimus no transplante renal no Brasil: uma comparação de custos. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 26, n. 1, p.163-174, jan, 2010.
- KATAGIRI, S.; OLIVEIRA-SEQUEIRA, T.C.G. Prevalence of dog intestinal parasites and risk perception of zoonotic infection by dog owners in São Paulo State, Brazil. **Zoonoses and Public Health**, v. 55, p. 406–413, 2008.
- LEE, A.C.Y.; SCHANTZ, P.M.; KAZACOS, K.R.; MONTGOMERY, S.P.; BOWMAN, D.D. Epidemiologic and zoonotic aspects of ascarid infections in dogs and cats. **Trends Parasitol**, v. 26, n.4, p. 155-161, 2010.
- LESCANO, S.A.Z.; CHIEFFI, P.P.; IKAI, D.K.; RIBEIRO, M.C.S.A. Efeitos da ciclosporina A e betametasona na toxocaríase murina experimental. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 37, p. 22-24, 2004.
- REZENDE, J.M. Imunodepressão, imunossupressão. **Linguagem médica**, v. 40, n. 2, p. 199-201, 2011.
- SILVA, L.P.; SILVA, R.M.G.; FERNANDES, N.A.; OLIVEIRA, J.A.A. Parasitic and intestinal commensals in the neoplastic patients undergoing chemotherapy. **Biosci. J.**, v. 27, n. 1, p. 170-177, 2011.
- SOUZA, R.F.; DATTOLI, V.C.C.; MENDONÇA, L.R.; JESUS, J.R.; BAQUEIRO, T.; SANTANA, C.C.; SANTOS, N.M.; BARROUIN-MELO, S.M.; ALCANTARA-NEVES, N.M. Prevalência e fatores de risco da infecção humana por *Toxocara canis* em Salvador, Estado da Bahia. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 44, n. 4, p. 516-519, 2011.
- TAIRA, K.; SAEED, I.; PERMIN, A.; KAPEL, C.M.O. Zoonotic risk of *Toxocara canis* infection through consumption of pig or poultry viscera. **Veterinary Parasitology**, v. 121, p. 115–124, 2004.
- WANG, G. X.; LUO, Z. J. A novel method for the recovery of *Toxocara canis* in mice. **J. Helminthol**, v.72, 1998.