

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS**

**MARIANE MARIA PASCHOALIN REATTI**

**TAÍS DE LEON GUERRA**

**INDOMETACINA ENQUANTO FÁRMACO DE REPOSICIONAMENTO EM  
TOXOPLASMOSE EXPERIMENTAL**

**ALFENAS/MG**

**2025**

**MARIANE MARIA PASCHOALIN REATTI**

**TAÍS DE LEON GUERRA**

**INDOMETACINA ENQUANTO FÁRMACO DE REPOSICIONAMENTO EM  
TOXOPLASMOSE EXPERIMENTAL**

Trabalho apresentado como parte dos requisitos para a obtenção do título de Bacharel em Biomedicina da Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL - MG), sob orientação do professor Dr. Marcos José Marques do Departamento de Patologia e Parasitologia da Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG).

**ALFENAS/MG**

**2025**

Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas  
Biblioteca Central

Reatti, Mariane Maria Paschoalin.

Indometacina enquanto fármaco de reposicionamento em toxoplasmose experimental / Mariane Maria Paschoalin Reatti, Taís de Leon Guerra. - Alfenas, MG, 2025.

46 f. : il. -

Orientador(a): Marcos José Marques.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) - Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, MG, 2025.

Bibliografia.

1. Toxoplasmose. 2. Toxoplasma gondii. 3. In vitro. 4. Reposicionamento de fármacos . 5. Indometacina. I. Guerra, Taís de Leon. II. Marques, Marcos José, orient. III. Título.

**MARIANE MARIA PASCHOALIN REATTI  
TAÍS DE LEON GUERRA**

**INDOMETACINA ENQUANTO FÁRMACO DE REPOSICIONAMENTO EM  
TOXOPLASMOSE EXPERIMENTAL**

A Banca examinadora abaixo-assinada, aprova o Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como parte dos requisitos para aprovação na disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II do curso de Biomedicina da Universidade Federal de Alfenas-MG.

Aprovado em: 15/12/2025



Prof. Dr. Marcos José Marques  
Universidade Federal de Alfenas

Assinatura:

Prof<sup>a</sup>. Me. Isabella Maria Monteiro de Souza  
Universidade Federal de Alfenas

Assinatura:

Prof. Dr. Fábio Antônio Colombo  
Universidade Federal de Alfenas

Assinatura:

Para nossas mini versões que alguns anos atrás brincavam e sonhavam em ser cientistas, e aos nossos pais, que foram as raízes que sustentaram nossa caminhada e o chão que nos fizeram voar.

## AGRADECIMENTOS

Este Trabalho de Conclusão de Curso só foi possível graças ao apoio de diversas pessoas. Agradecemos, primeiramente, ao nosso orientador, professor Marcos, pela disponibilidade constante, pelas orientações precisas e pela confiança depositada em nós e em nosso potencial. Estendemos nosso agradecimento ao mestrando Gabriel, que nos guiou pelos caminhos da pesquisa com dedicação e genuíno desejo de ensinar. Ao professor Fábio, que com seu carisma, carinho e conhecimento sempre nos direcionou ao caminho certo. Agradecemos, também, à banca avaliadora, escolhida com muito cuidado e carinho, pela disponibilidade e por compartilhar conosco seu tempo e conhecimento.

Eu, Mariane, agradeço a minha família e principalmente aos meus pais por todo o suporte e incentivo em continuar nessa trajetória que escolhi. Obrigada mãe, por sempre me acolher e realizar o possível e o impossível para que eu sempre esteja bem. Obrigada vovó, que sempre acreditou em mim e incentivou meu estudo. Seu Alzheimer foi só um contratempo nessa longa jornada da vida, espero que você esteja orgulhosa de mim aí de cima. Obrigada a absolutamente todos os meus amigos que guardo com carinho no meu coração e que estiveram presentes nos melhores momentos da minha vida, saudade de todos vocês. E por fim, obrigada ao meu namorado Matheus, que está sendo meu suporte durante toda essa caminhada, você é tudo em minha vida.

Eu, Taís, agradeço profundamente a todos que me ajudaram a chegar até aqui, especialmente à minha família, meus pais e meu irmão, a quem dedico este trabalho. Vocês são minha força diária, e tudo o que sou devo a vocês. Obrigada por acreditarem em mim desde antes que este sonho existisse e pelos abraços que sempre foram sinônimo de lar. Como dizia o Ursinho Pooh (1977), é difícil correr atrás dos nossos sonhos longe de quem amamos, mas saber que tenho para onde, e para quem voltar, me dá segurança para seguir em frente. É impossível me perder quando sei exatamente onde me encontrar: em vocês. À minha avó materna, agradeço pela sabedoria que me lembra que conhecimento nunca é demais e que o estudo é um dos caminhos mais bonitos que podemos escolher para trilhar. Aos meus avós paternos, sou grata pelos abraços e sorrisos que acolhem e mantêm o orgulho vivo, mesmo à distância. Por fim, agradeço aos meus amigos de infância, que, apesar da distância, sempre caminharam ao meu lado. A torcida, o carinho e as lembranças compartilhadas foram fundamentais nesta trajetória e fazem parte de quem me tornei. A todos esses que citei, obrigada pela saudade que sinto, eu a carrego com ternura e ela me acompanha, viva, todos os dias.

E, por fim, não podemos esquecer da nossa família de Alfenas, que foi sinônimo de casa durante três anos. Vocês, meninas, foram fundamentais nessa jornada e nos ensinaram que família não é só de sangue. Obrigada por terem transformado Alfenas em lar, por terem sido nosso refúgio nos dias difíceis, quando tudo parecia grande demais, e por estarem presentes nos momentos felizes,

celebrando cada conquista. Vocês nos mostraram que família também se constrói no afeto, na cumplicidade e no cuidado mútuo.

"To the people who look at the stars and wish, to the stars who listen and the dreams that are answered."

(Sarah J. Maas, 2016)

## RESUMO

A toxoplasmose, causada pelo protozoário intracelular obrigatório *Toxoplasma gondii*, afeta cerca de um terço da população mundial, sendo considerada a infecção parasitária mais prevalente do planeta. Apesar da elevada incidência e da gravidade da doença em grupos vulneráveis, como gestantes e indivíduos imunocomprometidos, as opções terapêuticas disponíveis são limitadas e ineficazes contra a forma crônica da infecção. A terapia padrão, baseada na associação de pirimetamina e sulfadiazina, apresenta diversos efeitos adversos e toxicidades, além de não atingir os bradizoítos presentes nos cistos teciduais. Nesse contexto, este trabalho visa analisar o potencial terapêutico do fármaco indometacina, com perfil farmacológico já estabelecido, por meio de uma estratégia de reposicionamento de fármacos. O reposicionamento consiste em aplicar medicamentos já aprovados para outras indicações terapêuticas, oferecendo como vantagem a redução de custos, tempo de desenvolvimento e maior segurança quanto ao perfil toxicológico. A indometacina é um anti-inflamatório não esteroide, que além de inibir as enzimas COX, demonstra potencial imunomodulador e ação sobre a resposta linfocitária em infecções parasitárias, sendo especialmente relevante por sua capacidade comprovada de atravessar a barreira hematoencefálica, característica importante para o tratamento da forma crônica com envolvimento cerebral. A metodologia utilizada consistiu na avaliação *in vitro* da atividade antiparasitária da indometacina frente a *T. gondii* da cepa RH-2F1, utilizando fibroblastos (HFF) como modelo de infecção. Foram realizados ensaios de proliferação parasitária e testes de citotoxicidade celular, permitindo determinar os valores de EC<sub>50</sub>, CC<sub>50</sub> e o índice de seletividade (IS) do fármaco. A indometacina apresentou, segundo os valores encontrados de EC<sub>50</sub> = 8,9 µM e CC<sub>50</sub> = 25,7 µM, seletividade limitada e margem terapêutica restrita, apesar disso, suas propriedades farmacológicas, como ação anti-inflamatória, modulação da via COX-2/PGE<sub>2</sub> e capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica, reforçam seu potencial como molécula de interesse para estudos futuros. Assim, embora apresente limitações *in vitro*, a indometacina permanece como candidata relevante para investigações adicionais, contribuindo para o avanço na busca de alternativas terapêuticas para a toxoplasmose.

Palavras-chave: Toxoplasmose; *Toxoplasma gondii*; *in vitro*; Reposicionamento de fármacos; Indometacina.

## ABSTRACT

Toxoplasmosis, caused by the obligate intracellular protozoan *Toxoplasma gondii*, affects approximately one-third of the global population, being considered the most prevalent parasitic infection on the planet. Despite the high incidence and severity of the disease in vulnerable groups, such as pregnant women and immunocompromised individuals, the available therapeutic options are limited and ineffective against the chronic form of the infection. The standard therapy, based on the combination of pyrimethamine and sulfadiazine, presents several adverse effects and toxicities, in addition to not reaching the bradyzoites present in tissue cysts. In this context, this work aims to analyze the therapeutic potential of the drug indomethacin, which has an already established pharmacological profile, through a drug repositioning strategy. Repositioning consists of applying already approved drugs to other therapeutic indications, offering the advantages of reduced costs, development time, and greater safety regarding the toxicological profile. Indomethacin is a non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID) that, in addition to inhibiting COX enzymes, demonstrates immunomodulatory potential and action on the lymphocytic response in parasitic infections. It is especially relevant due to its proven ability to cross the blood-brain barrier (BBB), an important characteristic for the treatment of the chronic form involving the brain. The methodology used consisted of the *in vitro* evaluation of the antiparasitic activity of indomethacin against the *T. gondii* RH-2F1 strain, using human foreskin fibroblasts (HFF) as an infection model. Parasite proliferation assays and cell cytotoxicity tests were performed, allowing for the determination of the drug's EC<sub>50</sub>, CC<sub>50</sub> and selectivity index (SI) values. Indomethacin presented, according to the found values of EC<sub>50</sub> = 8.9 μM and CC<sub>50</sub> = 25.7 μM, limited selectivity and a restricted therapeutic window. Despite this, its pharmacological properties, such as anti-inflammatory action, modulation of the COX-2/PGE<sub>2</sub> pathway, and its ability to cross the blood-brain barrier, reinforce its potential as a molecule of interest for future studies. Thus, although it presents *in vitro* limitations, indomethacin remains a relevant candidate for additional investigations, contributing to the advancement in the search for therapeutic alternatives for toxoplasmosis.

Keywords: Toxoplasmosis; *Toxoplasma gondii*; *in vitro*; Drug repurposing; Indomethacin.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	Os três estágios infecciosos de <i>T. gondii</i> .....	15
Figura 2 –	Estágios biológicos do <i>T. gondii</i> .....	16
Figura 3 –	Cistos teciduais de <i>T. gondii</i> em cérebros de camundongos.....	17
Figura 4 –	Cisto tecidual do cérebro de camundongos com numerosos bradizoítos.....	18
Figura 5 –	Esporozoíto recém-excistado ainda dentro de um oocisto.....	18
Figura 6 –	Ciclo do parasita no hospedeiro definitivo.....	20
Figura 7 –	Ciclo do parasita nos hospedeiros intermediários.....	21
Gráfico 1 –	EC50 (Concentração Efetiva Média) é a concentração de um fármaco que reduz em 50% a proliferação/viabilidade do <i>T.</i> <i>gondii</i> nas células infectadas.No caso da Indometacina, o EC50 foi de 8,9 $\mu$ M.....	36
Gráfico 2 –	CC50 (Concentração Citotóxica Média) é a concentração de um fármaco que seja citotóxica para 50% da população celular. No caso da Indometacina, o CC50 foi de 25,7.....	37

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>12</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DA LITERATURA.....</b>	<b>14</b>
2.1	Toxoplasmose: visão geral.....	14
2.1.1	Formas evolutivas.....	14
2.1.2	Formas de transmissão.....	15
2.1.3	Ciclo de vida T. gondii.....	19
2.1.4	Manifestações clínicas.....	22
2.2	Contexto atual da terapêutica da toxoplasmose.....	23
2.3	Reposicionamento de fármacos.....	25
2.4.	Perfil Farmacológico da Indometacina.....	28
<b>3</b>	<b>JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>31</b>
<b>4</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>32</b>
4.1	Objetivo geral.....	32
4.2	Objetivos específicos.....	32
<b>5</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>33</b>
5.1	Triagem do fármaco.....	33
5.2	Células e parasito.....	33
5.4	Citotoxicidade in vitro.....	33
5.5	Atividade in vitro contra T. gondii.....	34
5.6	Índice de Seletividade.....	35
<b>6</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>36</b>
<b>7</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>41</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>42</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A toxoplasmose é uma doença causada pelo agente etiológico *T. gondii* cuja persistência é estimada cronicamente em cerca de um terço da população humana mundial, sendo denominada a infecção parasitária mais comum no mundo. Uma das formas de adquirir a infecção pelo *T. gondii* é através da ingestão de água ou comida contaminada pelos oocistos provenientes dos gatos, hospedeiro definitivo do parasita (Molan *et al.*, 2019). Ele também pode ser transmitido verticalmente via placenta e horizontalmente por transfusão sanguínea (Montoya; Liesenfeld, 2004). O *T. gondii* é um protozoário intracelular obrigatório encontrado na corrente sanguínea de hospedeiros intermediários como humanos, aves e mamíferos. Apresenta-se na forma de taquizoítos, especialmente durante a fase aguda, a qual associa-se a sintomatologia da doença. Porém, ao transitar para a forma bradizoíta dentro dos cistos teciduais, o *T. gondii* se torna oculto e menos suscetível ao tratamento (Daher *et al.*, 2021). Devido a preferência dele pelo sistema nervoso, a fase crônica da toxoplasmose apresenta riscos significativos ao hospedeiro, incluindo perda de visão quando o parasita afeta o nervo óptico, mudanças cognitivas e comportamentais quando ele se encontra no cérebro e riscos diversos de reinfecção (Milne *et al.*, 2020). A problematização do seu caráter epidemiológico está intimamente relacionada aos principais grupos afetados pela doença, que são aqueles com o sistema imune comprometido ou imaturo, por exemplo: indivíduos imunocomprometidos, principalmente portadores de HIV, fetos e recém-nascidos (Wang, 2019). Essa deficiência do sistema imune biológico diminui a capacidade de controlar a replicação intracelular do *T. gondii*, o que favorece o desenvolvimento da doença.

Em relação ao tratamento da enfermidade, há diferentes protocolos para a fase aguda, sendo que o de uso padrão costuma consistir em pirimetamina e sulfadiazina combinadas. Apesar disso, a pirimetamina, por exemplo, demonstrou *in silico* efeitos tóxicos relacionados aos parâmetros de mutagenicidade, tumorigenicidade e toxicidade em órgãos reprodutores (Dos Santos *et al.*, 2023). Diante disso, a fase crônica persiste sem medicamentos eficazes de referência para o tratamento, o que revela não só uma carência, como uma necessidade de pesquisas na área.

Desse modo, uma estratégia notável é o reposicionamento de fármacos, cujo objetivo visa o estudo de drogas já estabelecidas em novas aplicações terapêuticas, diferentes daquelas inicialmente propostas. A partir desse método, fármacos podem ser redirecionados para terapias em potencial com uma redução de tempo e custos, visto que seus mecanismos de ação muitas vezes já estão consolidados em literatura científica. Nesse sentido, o presente trabalho busca reposicionar a indometacina, sendo ela um anti-inflamatório não esteroideal (AINE). Esse medicamento tem sido investigado por seu potencial imunomodulador em infecções parasitárias, possuindo atividade mediana contra o *T. gondii* e será alvo do presente estudo (Riley *et al.*, 1989, Convit *et al.*, 1987).

A motivação desta pesquisa é conjecturar uma nova abordagem terapêutica para o tratamento da toxoplasmose aguda através do reposicionamento de fármacos pré-selecionados, considerando os limitados e inseguros tratamentos atuais.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 Toxoplasmose: visão geral

A toxoplasmose, causada pela infecção do *T. gondii*, é um problema de grande relevância na saúde pública no mundo. Ele é um parasita intracelular obrigatório que pode infectar humanos, bem como animais de sangue quente, como aves e mamíferos, considerados os hospedeiros intermediários. Todo seu ciclo de vida foi compreendido em definitivo no final de 1960 quando descobriram que o gato é o hospedeiro definitivo que abriga o ciclo parasitário sexual e distribui oocistos no ambiente pelas fezes. No mesmo período o parasita foi classificado na subclasse coccidiana, filo Apicomplexa, e a infecção pelos três estágios parasitários foi bem caracterizada (Robert-Gangneux; Dardé, 2012).

Atualmente, o *T. gondii* afeta um terço da população mundial e pode causar graves problemas congênitos, neurológicos e oculares. As opções atuais de tratamento são limitadas e não há vacinas disponíveis para prevenir a transmissão dessa doença (Flegr *et al.*, 2014).

#### 2.1.1 Formas evolutivas

O *T. gondii* apresenta três formas evolutivas principais: os taquizoítos, bradizoítos e oocistos (Figura 1 e 2), e cada uma está associada a fases específicas do ciclo de vida e a diferentes locais de infecção no hospedeiro. Os taquizoítos são a forma proliferativa do parasita, caracteristicamente encontrada na fase aguda, presentes em qualquer célula do hospedeiro intermediário e em células epiteliais não intestinais do hospedeiro definitivo (Dubey; Lindsay; Speer, 1998). No caso do hospedeiro intermediário, está em células do sistema mononuclear fagocítico (SMF), células hepáticas, pulmonares, nervosas, submucosas e musculares, além de estar em líquidos orgânicos e excreções. Já os bradizoítos são as formas de multiplicação lenta, encontrado em células de vários tecidos: nervoso, muscular esquelético, cardíaco e retina, sendo característico da fase crônica (Attias *et al.*, 2020) e com o tempo e a resposta imune do hospedeiro, se agrupam dentro de vacúolos, formando os cistos teciduais (Figura 3 e 4). Tanto os taquizoítos quanto os bradizoítos reproduzem assexuadamente por endodiogenia, um tipo especializado de

reprodução assexuada em que duas células-filhas se desenvolvem intracelularmente no interior do parasita parental, consumindo sua estrutura à medida que amadurecem (Dubey; Lindsay; Speer, 1998). Há ainda os oocistos, que consiste de dois esporocistos com quatro esporozoítos cada (Figura 5), denominados como a forma de resistência do parasita, produzidos nas células intestinais de felídeos, o hospedeiro definitivo, durante a reprodução sexuada e liberado nos oocistos pelas fezes.

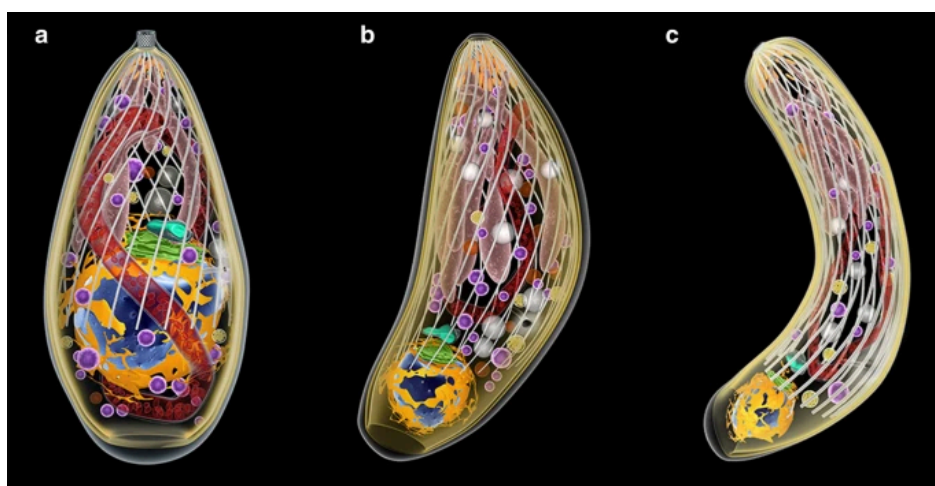


Figura 1 - Os três estágios infecciosos de *T. gondii*. Taquizoíto (a), bradizoíto (b) e esporozoíto (c).

**Fonte:** Extraído de DUBEY; LINDSAY; SPEER (1998).

### 2.1.2 Formas de transmissão

Os hospedeiros intermediários, como os humanos, podem se infectar por diferentes vias de transmissão: a **zoonótica**, em que há a ingestão de oocisto por meio do consumo de alimentos e água contaminados com fezes felinas e a **alimentar**, que ocorre pela ingestão de bradizoítos por meio do consumo de carne crua ou mal cozida ou ainda pela ingestão de taquizoítos por consumo de leite e derivados. Outras importantes fontes de disseminação da toxoplasmose são por **infecção congênita** através da placenta e por **transfusão sanguínea**, ambos ocorrem a partir da transferência de taquizoítos presentes no sangue e que conseguem também atravessar a barreira hematoplacentária (Dubey *et al.*, 2021). Contudo, em casos de mulheres imunossuprimidas pode ocorrer a reativação de uma infecção anterior à gravidez capaz de culminar na toxoplasmose congênita

(Peyron *et al.*, 2016). Além disso, a reativação de uma infecção latente também ocorre em pacientes com AIDS, caracterizando o *T. gondii* como uma infecção oportunista (Dubey; Lindsay; Speer, 1998).



Figura 2 - Estágios biológicos do *T. gondii*. Exames microscópicos de taquizoítos em uma amostra de fluido de lavagem broncoalveolar corada com Giemsa (A (ampliação, X500), um cisto do cérebro de um camundongo infectado (B) (ampliação, X500), e oocistos não esporulados (C) e oocistos esporulados (D) (ampliação, X1000) . Microscopia óptica.

**Fonte:** Extraído de Robert-Gangneux; Dardé (2012).

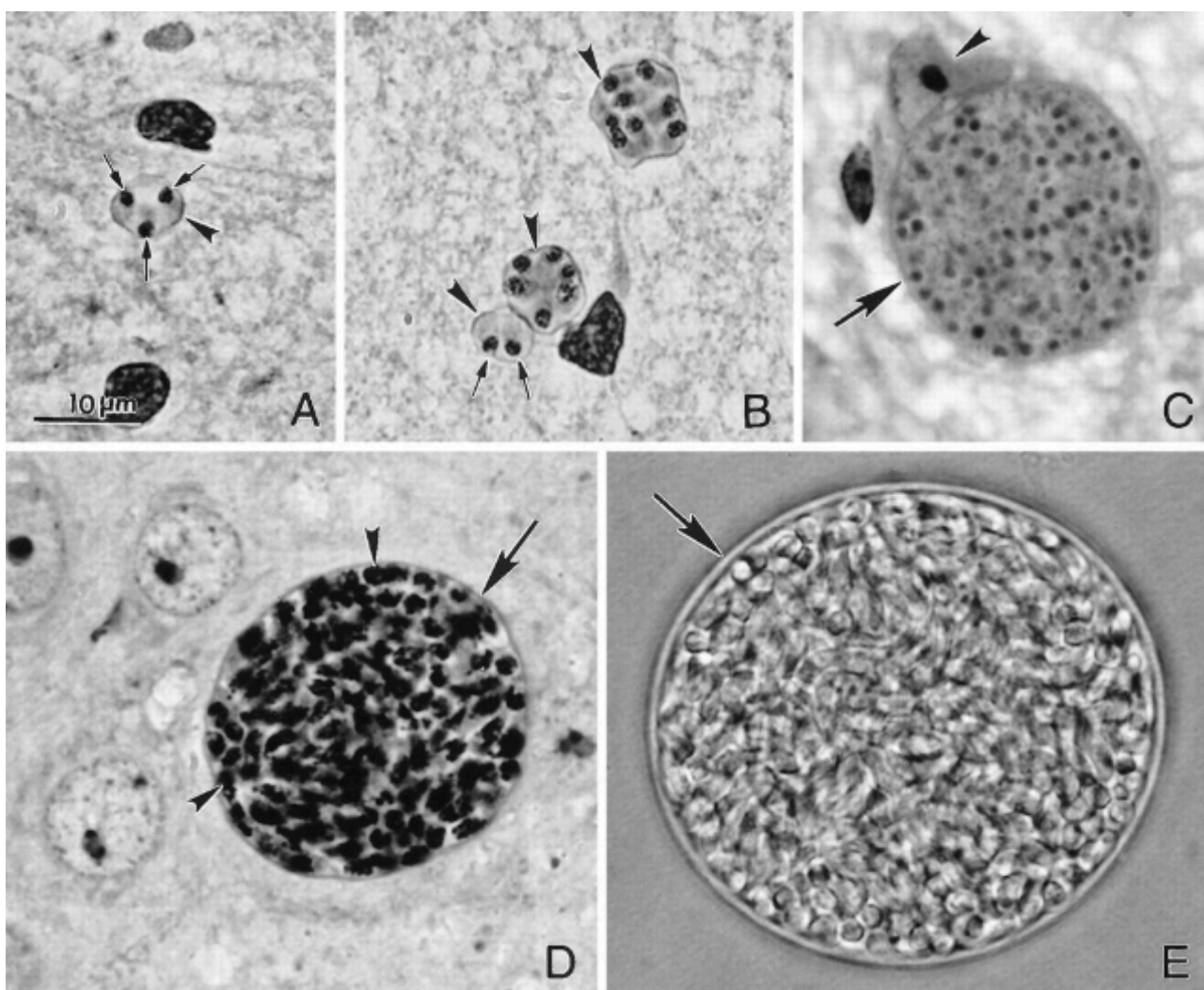


Figura 3 - Cistos teciduais de *T. gondii* em cérebros de camundongos. (A) Cisto tecidual com três bradizoítos, cada um com um núcleo terminal (setas). Parede fina do cisto observada (ponta de seta); (B) Três cistos teciduais (pontas de seta); (C) Cisto tecidual intracelular em corte (seta). Núcleo da célula hospedeira observada (ponta da seta); (D) Cisto tecidual com numerosos bradizoítos (pontas de seta) contidas em uma parede de cisto (seta); (E) Cisto tecidual liberado do cérebro de camundongos. Parede do cisto observada (seta) contendo diversos bradizoítos. Esfregaço de impressão sem coloração.

**Fonte:** Extraído de Dubey; Lindsay; Speer (1998).



Figura 4 - Cisto tecidual do cérebro de camundongos com numerosos bradizoftos.

**Fonte:** Autoria própria, 2025.

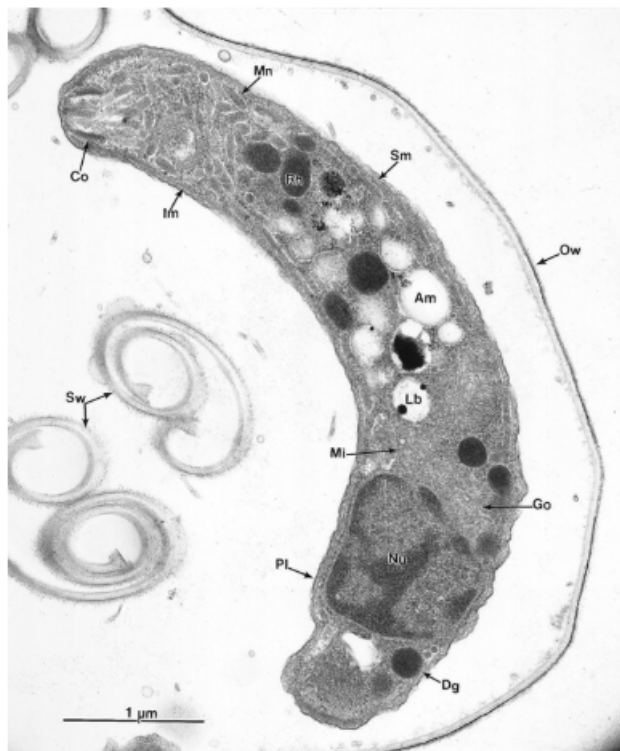


Figura 5 - Esporozoíto recém-excistado ainda dentro de um oocisto. Micrografia eletrônica de transmissão.

**Fonte:** Extraído de Dubey; Lindsay; Speer (1998).

Há ainda a infecção via **transplante de órgãos**, em que os mesmos podem conter taquizoítos e bradizoítos (Attias *et al.*, 2020), nesse caso verifica-se principalmente em transplantes de coração, coração-pulmão, rim, fígado e fígado-pâncreas, embora a reativação da infecção latente seja mais comum em pacientes transplantados de medula-óssea, células-tronco hematopoiéticas e fígado (Montoya; Liesenfeld, 2004). No que se refere aos hospedeiros definitivos, os felídeos, as formas de transmissão são a partir da **predação** de animais com bradizoítos em seus tecidos ou pela **ingestão de oocistos** esporulados do ambiente.

### 2.1.3 Ciclo de vida *T. gondii*

Nos hospedeiros definitivos (felídeos), o ciclo se inicia pela ingestão de cistos teciduais (com bradizoítos) presentes em carnes cruas ou presas infectadas (a). Esses cistos são deslocados até o estômago e intestino desse animal, onde as paredes deles são digeridas, liberando então os bradizoítos (b). Esses bradizoítos penetram as células epiteliais do intestino (c) e nos enterócitos se dividem por esquizogonia (reprodução assexuada), dando origem aos merozoítos (d), que invadem novas células intestinais (e;g). Os merozoítos se diferenciam em microgametas (gametócitos masculinos) e macrogametas (gametócitos femininos) (f). O microgameta fecunda o macrogameta (reprodução sexuada), dando origem a um oocisto não esporulado (imaturo) excretado com as fezes do gato (h). A esporulação ou maturação (i) ocorre por influência do ambiente aerado e gera dois esporocistos com quatro esporozoítos cada (j), tornando o oocisto infectante. Esses oocistos esporulados possuem uma resistência muito alta às condições ambientais e permanecem viáveis por vários dias, independente da presença de água ou não. Assim, o hospedeiro definitivo, como os gatos, é de grande importância para a progressão da doença, já que ele é a única fonte de oocistos no ambiente, o que torna essa fase crucial para a disseminação da toxoplasmose. Após a infecção primária, o gato geralmente se torna imune ao parasita, parando de eliminar oocistos após 1 a 3 semanas, o que significa que ele normalmente só elimina oocistos uma vez na vida (Attias *et al.*, 2020).

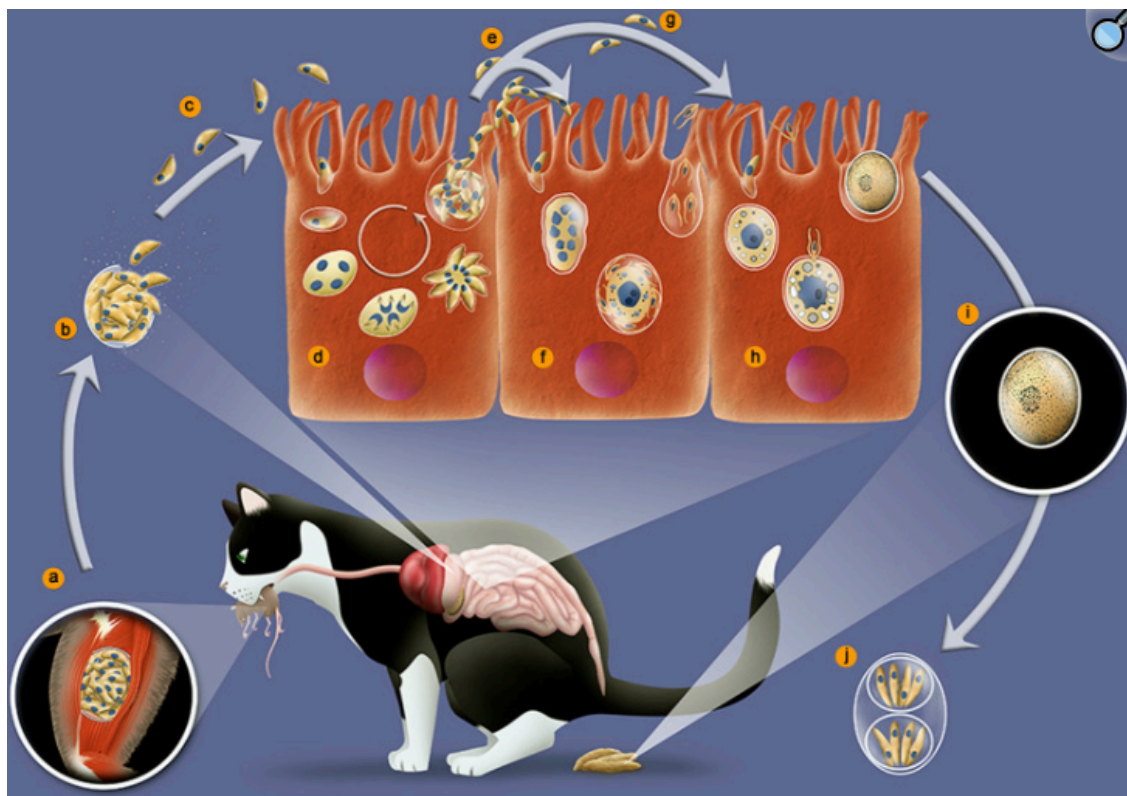


Figura 6 - Ciclo do parasita no hospedeiro definitivo.

**Fonte:** Extraído de Attias *et al.*, (2020)

Nos hospedeiros intermediários, a infecção ocorre por diferentes vias. No caso de infecção tanto de animais como boi, porco, ovelha e aves (e) como de humanos (g), há a ingestão de oocistos esporulados no solo, na água (d) ou vegetais crus (c), advindos de oocistos não esporulados liberados nas fezes de gatos (b;a). No intestino desses hospedeiros, o oocisto sofre excistamento, ou seja, sua parede rompe, liberando esporocistos, que por sua vez liberam os esporozoítos. Estes esporozoítos invadem células epiteliais intestinais e outras células próximas e é nessas células que eles se transformam rapidamente em taquizoítos, que se multiplicam por endodiogenia. Esses taquizoítos rompem as células, caem na corrente sanguínea e se disseminam, invadindo diversos tecidos como músculo esquelético, coração, cérebro e olhos. Com o tempo e a resposta imune do hospedeiro, os taquizoítos se convertem em bradizoítos, que se agrupam dentro de vacúolos, formando os cistos teciduais. Estes cistos são duradouros e latentes, podendo persistir por toda a vida do animal. No caso dos humanos, esses cistos que podem estar presentes, por exemplo, no coração, podem ser transmitidos para outro

ser humano por meio do transplante de órgãos (j), sendo potencialmente perigoso em receptores imunossuprimidos. Já no caso de animais como bovinos, os cistos presentes, por exemplo, no seu músculo esquelético, podem ser ingeridos pelos humanos de forma crua ou mal cozida (f), infectando-os. Nestes humanos, a parede do cisto tecidual é rompida pelo suco gástrico e pelas enzimas digestivas no estômago e no intestino delgado, fazendo com que os bradizoítos sejam liberados. Esses bradizoítos invadem células do epitélio intestinal, se transformam em taquizoítos, que se multiplicam novamente por endodiogenia e rompem essas células, se disseminando via sangue e sistema linfático.

Os taquizoítos, depois de disseminados pela corrente sanguínea, podem ser transmitidos para outros seres humanos de forma horizontal e vertical. A transmissão vertical ocorre pela transfusão de sangue (i), que apesar de ser rara, pode ser possível caso os taquizoítos presentes no sangue do doador estejam viáveis. Já a transmissão vertical, também chamada de transmissão congênita (h), ocorre quando uma mulher adquire infecção primária durante a gestação. Assim, os taquizoítos presentes na sua circulação invadem a placenta e infectam o feto, podendo levar desde a consequências menos graves como baixo peso ao nascer, icterícia e hepatoesplenomegalia, até a consequências mais graves como malformações severas e aborto espontâneo (Attias *et al.*, 2020).

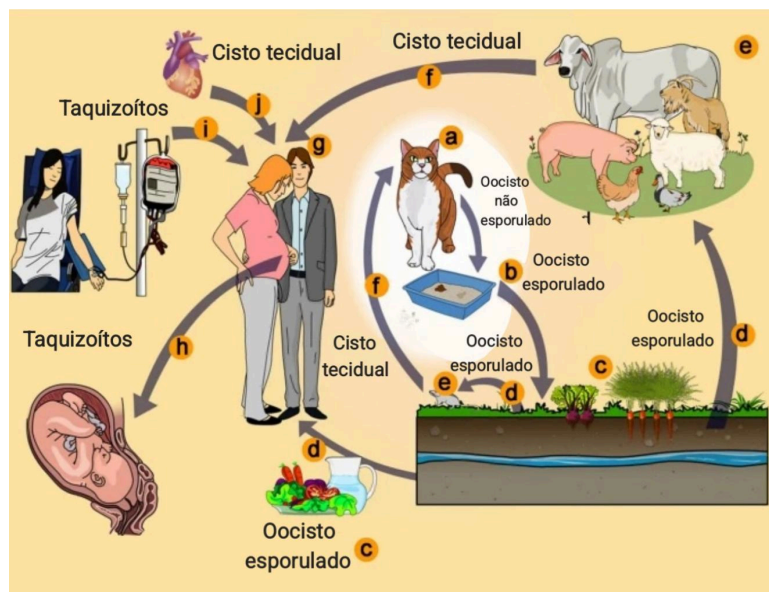


Figura 7 - Ciclo do parasita nos hospedeiros intermediários.

**Fonte:** Extraído e adaptado de Attias *et al.*, (2020).

#### 2.1.4 Manifestações clínicas

As manifestações clínicas da toxoplasmose são determinadas não apenas pelo estabelecimento da infecção e pelas características do parasita, mas também pela resposta imune modulada do hospedeiro, resultante da interação entre o parasita e o organismo infectado.

Em indivíduos imunocompetentes, a infecção primária por *T. gondii* na maioria das vezes é assintomática: em países europeus e na América do Norte cerca de 80% dos casos não apresentam sintomatologia específica (Robert-Gangneux; Dardé, 2012). Há ainda a ocorrência de uma doença autolimitada e inespecífica que raramente necessita de tratamento em cerca de 10% das infecções primárias adquiridas. Quando sintomática o mais comum na fase aguda é o paciente apresentar linfadenopatia cervical, caracterizada pelo enfartamento ganglionar de grau relativo, dor de garganta, febre baixa e persistente, mal estar e mialgia. Também segundo Montoya, Liesenfeld (2004), alguns casos raros em pacientes saudáveis relatam miocardite, polimiosite, pneumonite, hepatite ou encefalite. Ainda se tratando da infecção aguda, coriorretinite pode ser observada esporadicamente, demonstrando lesões focais visivelmente brancas com uma reação inflamatória vítrea intensa na retina e na coróide que podem evoluir tanto para cegueira parcial ou total, quanto para cicatrização, estando bastante associada a reativação da doença congênita (Montoya; Liesenfeld, 2004).

Acerca da infecção em imunossuprimidos, há um contraste em relação ao desenvolvimento da doença em imunocompetentes, pois pode se tornar fatal já que o histórico imunológico desses pacientes está comprometido e, assim, vulnerável a sintomatologias mais graves. Nesse caso a infecção afeta primordialmente o sistema nervoso central, o que associa-se à fase crônica, configurando um quadro de encefalite, caracterizado por cefaleia, febre, anomalia focal, paralisia, perda da coordenação muscular, confusão mental, convulsões, coma, distúrbios dos nervos cranianos, anormalidades sensoriais, sinais cerebelares e achados neuropsiquiátricos, além de patologias agravantes, como insuficiência respiratória aguda e choque séptico (Montoya; Liesenfeld, 2004). Imunodeprimidos podem demonstrar sintomas referentes à infecção em imunocompetentes, como a coriorretinite e a pneumonite, esta última associada com frequência à transplantados de medula óssea e pacientes com AIDS.

Se tratando da toxoplasmose congênita, a sua gravidade está intimamente ligada ao grau de exposição do feto ao *parasito*, a virulência da cepa, a capacidade de proteção dos anticorpos maternos e ao estágio de desenvolvimento do feto. A infecção precoce, delimitada pelo primeiro e segundo trimestre, tende a apresentar um caráter mais grave, podendo resultar em aborto, nascimento prematuro, hidrocefalia, microcefalia, estrabismo, epilepsia, retardo psicomotor ou mental, miocardite, anemia, trombocitopenia e hepatoesplenomegalia. Por isso, o tratamento da mãe durante a gravidez possui extrema importância para a garantia de qualidade de vida e segurança do neonato, visto que objetiva reduzir a gravidade da infecção. Já a infecção materna tardia, no terceiro trimestre, geralmente não afeta tanto o feto e nascem recém-nascidos com aparência normal, contudo, se houver alterações são visualizadas pelo ultrassom, como calcificações intracranianas, dilatação ventricular, aumento hepático, ascite e aumento da espessura placentária (Montoya; Liesenfeld, 2004).

A confirmação diagnóstica da toxoplasmose é fundamental para a escolha do tratamento, especialmente em gestantes e outros grupos de risco. O diagnóstico baseia-se na combinação de dados clínicos com exames laboratoriais, sendo os testes sorológicos os mais utilizados devido às limitações dos métodos parasitológicos (Santos *et al.*, 2023). Entre eles, destaca-se o ELISA, por sua alta sensibilidade e especificidade (Siqueira-Batista, 2020). A sorologia permite detectar anticorpos IgM, IgG e IgA, que auxiliam na diferenciação entre infecção recente e passada. Além disso, a identificação direta do parasita pode ser realizada por PCR, cultura de tecidos ou histopatologia (Montoya *et al.*, 2004). No caso do diagnóstico fetal em gestantes, além da imunofluorescência para IgM no líquido amniótico e por cordocentese, a PCR tem ganhado destaque por ser um método não invasivo para detectar o parasita no sangue (Kompalic-Cristo; Britto; Fernandes, 2005; Rey, 2010).

## **2.2 Contexto atual da terapêutica da toxoplasmose**

O tratamento da toxoplasmose geralmente abrange a combinação de mais de dois antimicrobianos, mais frequentemente inibidores da di-hidrofolato redutase (DHFR) (pirimetamina) e da di-hidropteroato sintetase (DHPS) (sulfadiazina), que bloqueiam a síntese de ácido fólico. O ácido fólico é essencial para a sobrevivência e replicação do *parasito*, pois ele é necessário para a síntese de purinas, timidinas e

aminoácidos essenciais, moléculas essas indispensáveis para a replicação do DNA e a divisão celular. Esse ácido fólico deve ser produzido de forma endógena, já que o *T. gondii* não consegue captar esse composto diretamente do ambiente. Assim, o parasita utiliza as vias DHPS e DHFR, que se forem bloqueadas pela sulfadiazina e pela pirimetamina, respectivamente, não produzirão mais DNA e, portanto, o parasita não conseguirá se multiplicar, levando à sua morte (Dunay *Et Al.*, 2018).

A pirimetamina pode ser considerada o medicamento mais eficaz contra o *T. gondii* e constitui a base para regimes eficazes. Dentre eles, o padrão-ouro é a pirimetamina-sulfadiazina (pyr-sulf). Essa combinação de pirimetamina e sulfadiazina visa o estágio ativo da infecção e apesar de ser padrão-ouro, as taxas de falha permanecem significativas. O regime pyr-sulf é utilizado também em associação com o ácido fólico (forma ativa da vitamina B9 (ácido fólico), que geralmente suplementa regimes à base de pirimetamina com a finalidade de minimizar a toxicidade hematológica causada por ela (Dunay *Et Al.*, 2018).

A pirimetamina, embora tenha maior afinidade pela DHFR do *T. gondii*, ela também inibe a DHFR humana, que é uma enzima crucial para a síntese de ácido fólico, responsável pela síntese de nucleotídeos necessários para sintetizar DNA e RNA nas células progenitoras hematopoiéticas. Portanto, quando a síntese de DNA é bloqueada indiretamente pela inibição da DHFR humana, as células da medula óssea param de se multiplicar adequadamente, levando à supressão da hematopoiese, afetando as linhagens do sangue. Além de seu efeito tóxico, a pirimetamina apresenta potencial de mutagenicidade em modelos experimentais, o que significa que ela pode induzir alterações genéticas (Dos Santos *et al.*, 2023).

Tratamentos combinados incluindo sulfadiazina possuem efeitos adversos como reações cutâneas (erupções, prurido) e toxicidade hematológica, como a anemia hemolítica aguda, que é a hemólise oxidativa de hemácias. Já em relação a sua mutagenicidade, a sulfadiazina não apresenta atividade mutagênica significativa, já que ela não causa dano direto ao DNA e apenas atua na inibição competitiva da DHPS. (PETRI, 2018).

Contudo, o tratamento da toxoplasmose ainda apresenta limitações importantes, especialmente devido ao uso de medicamentos que, apesar de eficazes contra os taquizoítos na fase aguda, são frequentemente tóxicos, pouco direcionados e associados a efeitos adversos relevantes. Além disso, muitos desses fármacos exibem baixa capacidade de penetração no sistema nervoso central,

restringindo sua eficácia em um dos principais órgãos acometidos pela infecção (Martynowicz; Doggett; Sullivan, 2020). Diante desse cenário, torna-se fundamental o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas mais seguras, específicas e eficazes, capazes de superar as limitações farmacológicas atuais e ampliar as opções disponíveis ao paciente. Somado a isso, permanece a necessidade de terapias que também atendam à fase crônica da doença, marcada pela persistência de bradizoítos, para a qual ainda não existe um tratamento aprovado que promova sua eliminação de forma eficaz (Sleda *Et Al.*, 2024). Dessa forma, é essencial a busca por alternativas terapêuticas menos tóxicas, mais direcionadas e capazes de atuar em todos os âmbitos da doença, do estágio agudo ao crônico.

Em relação aos mecanismos envolvidos na resistência do *T. gondii* aos principais fármacos utilizados no tratamento da toxoplasmose, as principais alterações genéticas ocorrem nos genes DHFR e DHPS, responsáveis pela resistência à pirimetamina e sulfonamidas, respectivamente (Montazeri *Et Al.*, 2018). Foi demonstrado que a resistência à pirimetamina resulta de uma mutação específica na enzima DHFR, alterando Ser108 para Asn10 e a resistência a sulfonamidas e sulfonas resulta de mutações na DHPS, como alterações de aminoácidos em cinco posições (S436A/F, A437G, K540E, A581G, A613/T) (ASPINALL *et al.*, 2002).

Dessa forma, os desafios terapêuticos associados à toxoplasmose envolvem não apenas a limitação das opções disponíveis para o tratamento, mas também a reduzida eficácia dos fármacos frente à forma crônica da infecção. Esses obstáculos são agravados pelo surgimento de cepas resistentes, o que compromete ainda mais a resposta clínica e evidencia a necessidade urgente de novas abordagens terapêuticas e alternativas farmacológicas mais eficazes.

### **2.3 Reposicionamento de fármacos**

O reposicionamento de fármacos é definido como o processo de reaproveitar o potencial de um composto farmacêutico já consolidado em novas aplicações terapêuticas diferentes daquelas para as quais foi desenvolvido. O conceito abarca desde substâncias ativas que devido à sua toxicidade e ineficácia foram reprovadas na fase clínica do seu desenvolvimento, quanto medicamentos que foram para o

mercado, mas foram retirados em virtude da falta de segurança (Jourdan *et al.*, 2020). Nesse caso, é permitido a alteração da formulação, da dose ou da via de administração do fármaco, desde que não haja nenhuma modificação estrutural.

Ainda segundo Jourdan *et al.* (2020), o princípio do reposicionamento de fármacos baseia-se na similaridade entre os perfis moleculares de diferentes doenças e no fato de que muitos medicamentos apresentam múltiplos efeitos terapêuticos. Assim, busca-se determinar o grau de similaridade entre as doenças com base no compartilhamento de genes, vias de sinalização, alvos moleculares e biomarcadores, visando identificar aplicações terapêuticas comuns e eficácia mútua.

Embora a similaridade molecular entre doenças permita a reutilização de fármacos em diferentes contextos terapêuticos, muitos medicamentos também podem ser reaproveitados com base em seus efeitos secundários indesejados, os quais resultam da interação com múltiplos alvos biológicos e podem revelar potencial terapêutico em outras enfermidades.

O reposicionamento oferece diversas vantagens, sendo a principal a simplificação de todas as etapas necessárias para a aprovação de um medicamento no mercado, o que reduz o tempo e os custos envolvidos no processo. Isso ocorre devido ao fato das propriedades do composto, como dados farmacocinéticos, já estarem consolidadas e seus mecanismos de ação elucidados em literatura.

Contudo, essa abordagem apresenta limitações, uma vez que sua efetividade depende da seleção criteriosa e validação de modelos computacionais, os quais requerem a disponibilidade de dados biológicos e químicos confiáveis (Jarada; Rokne; Alhajj, 2020). Ademais, a escolha dos fármacos candidatos envolve a análise de diversos parâmetros, como toxicidade, mutagenicidade, biodisponibilidade e eficácia terapêutica. Além disso, outro obstáculo referente ao reposicionamento é a existência de inúmeros alvos moleculares potenciais, o que dificulta a distinção dos alvos reais de um fármaco. Por último, cita-se ainda a questão relacionada à propriedade intelectual, patente e dados regulatórios que pode limitar o interesse comercial no reposicionamento de certos fármacos, dificultando investimentos e a viabilização do desenvolvimento clínico (Jourdan *Et Al.*, 2020).

Estudos promissores têm sido conduzidos no âmbito de doenças parasitárias utilizando o reposicionamento, como exemplificado no trabalho *Repurposing the Medicines for Malaria Venture's COVID Box to discover potent inhibitors of T. gondii, and in vivo efficacy evaluation of almitrine bismesylate in chronically infected mice*

(Dos Santos *Et Al.*, 2023). Nesse estudo, a triagem de uma biblioteca composta por 160 compostos levou à identificação de 21 fármacos inéditos com potencial terapêutico contra *T. gondii* (análise *in silico*). Os compostos selecionados foram avaliados *in vitro* quanto à capacidade de inibir o crescimento de taquizoítos e à toxicidade em células hospedeiras, além de serem submetidos a análises preditivas das propriedades farmacocinéticas: absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade (ADMET). Entre eles, a almitrina bismesilato destacou-se por sua eficácia e perfil de segurança, sendo posteriormente testada *in vivo*, onde demonstrou redução significativa da carga parasitária e do número de cistos cerebrais em camundongos cronicamente infectados.

Outro exemplo relevante de estudo com reposicionamento de fármacos no contexto da toxoplasmose é o trabalho de Ramos *et al.*; (2023), intitulado *Assessment of nebivolol efficacy in experimental models of toxoplasmosis*. O estudo avaliou os efeitos do nebivolol (NBV), um betabloqueador comumente utilizado em doenças cardiovasculares, em modelos experimentais de toxoplasmose aguda e crônica. Camundongos infectados com cepas distintas de *T. gondii* foram tratados com NBV por via oral, sendo analisados parâmetros como carga parasitária, tamanho e número de cistos cerebrais, além de marcadores de neuroproteção e inflamação. Os resultados demonstraram que o NBV reduziu significativamente a carga parasitária, preservou a densidade neuronal e diminuiu a expressão de iNOS, indicando menor resposta inflamatória no tecido cerebral. O fármaco apresentou desempenho superior ao da pirimetamina em alguns aspectos e não induziu produção de óxido nítrico por macrófagos, sugerindo uma ação direta sobre o parasita. Dada sua eficácia nos modelos utilizados e seu perfil de segurança previamente conhecido, o nebivolol mostrou-se um candidato promissor para o tratamento da toxoplasmose cerebral, embora estudos adicionais ainda sejam necessários para validação clínica.

Diante do exposto, observa-se que o reposicionamento de fármacos representa uma estratégia inovadora e promissora no desenvolvimento de novas terapias, evidenciada no enfrentamento de doenças parasitárias negligenciadas, como a toxoplasmose. No entanto, reforça-se a importância de aprofundar as investigações clínicas e consolidar modelos computacionais e bases de dados confiáveis, a fim de viabilizar a aplicação segura e eficaz dessa abordagem.

## 2.4. Perfil Farmacológico da Indometacina

A indometacina é classificada como um antiinflamatório não esteroideal (AINE) que possui propriedades antipirética, analgésica e anti-inflamatória, sendo indicada para o tratamento da artrite reumatoide moderada a grave, espondilite anquilosante, osteoartrite, artrite gotosa e bursite ou tendinite aguda dolorosa do ombro. Seu mecanismo de ação está associado principalmente à inibição não seletiva das isoformas da enzima ciclooxigenase (COX-1 e COX-2), o que inibe a produção de prostaglandinas a partir do ácido araquidônico. Essa inibição justifica a redução de sinais inflamatórios, como dor e febre, no entanto, estudos demonstram que os efeitos farmacológicos da indometacina vão além da simples inibição da COX, sugerindo interações adicionais na atividade neuronal e no fluxo sanguíneo cerebral (Lucas, 2016).

Ainda segundo Lucas (2016), farmacodinamicamente, a indometacina apresenta um perfil singular entre os AINEs, especialmente no sistema nervoso central, pois diferente de outros fármacos da mesma classe, ela possui potente ação vasoconstritora cerebral, sendo capaz de reduzir o fluxo sanguíneo cerebral (FSC) - em até 40% em modelos animais - e a pressão intracraniana. Essa redução do fluxo sanguíneo e da pressão intracraniana, somadas a inibição de prostaglandinas pró-inflamatórias, contribuem para a diminuição da hiperemia e do extravasamento vascular, especialmente relevante para minimizar a formação de edema cerebral, um dos principais fatores de gravidade nos paciente imunodeprimidos com toxoplasmose. A formação desse edema também modula a percepção de dor via nociceptores ao diminuir a compressão mecânica dos tecidos e nervos e, por isso, ao reduzi-lo, há um consequente controle sintomático da dor. Todo esse processo parece ser mediado não apenas pela inibição de prostaglandinas, mas também por mecanismos independentes, como a modulação do tônus vascular, a partir da inibição da vasodilatação induzida por óxido nítrico (NO), o que a diferencia e destaca de outros AINEs.

Recentemente, a indometacina tem sido investigada por seu potencial imunomodulador em infecções parasitárias. Estudos *in vitro* demonstraram que o fármaco pode aumentar significativamente a resposta linfoproliferativa a antígenos parasitários, como os da malária, sugerindo que a inibição da produção de prostaglandinas pode reverter parcialmente a imunossupressão induzida por esses

patógenos (Riley *et al.*, 1989). Em modelos de leishmaniose cutânea localizada (LCL), mucocutânea (MCL) e difusa (DCL), por exemplo, observou-se um aumento das respostas imunes específicas na presença de indometacina, principalmente um aumento de células mononucleares, e aumento das respostas específicas ao antígenos leishmanianos na LCL, o que sugere um papel relevante da inibição das prostaglandinas na modulação da resposta imune contra parasitas intracelulares (Convit *et al.*, 1987).

Foi demonstrado que em estágios avançados da toxoplasmose, a prevenção da secreção de PGE<sub>2</sub>, uma prostaglandina com propriedades imunossupressoras, com indometacina aumentou a resposta proliferativa dos linfócitos, assim, a indometacina ajuda a restaurar a proliferação linfocitária, indicando seu potencial papel na modulação da resposta imunológica na toxoplasmose. Além disso, por apresentar alta lipossolubilidade ( $\log P = 4,27$ ), ela é capaz de atravessar a barreira hematoencefálica (Munjál, Allam, 2024), apresentando-se como um fármaco potencialmente promissor para o tratamento da toxoplasmose crônica, que se caracteriza pelo comprometimento cerebral pelas encefalites.

No entanto, é importante destacar a elevada ligação às proteínas plasmáticas como uma limitação, já que reduz a fração livre disponível para atuar no sistema nervoso central (Bannwarth *et al.*, 1990). Além disso, a indometacina, como a maioria dos AINEs, apresenta um alto risco de toxicidade gastrointestinal, que pode variar de sintomas leves a condições mais graves, como o aparecimento de úlceras gástricas (Munjál, Allam, 2024).

Ademais, a indometacina já é utilizada em contextos obstétricos para inibir o trabalho de parto prematuro, o que demonstra um potencial terapêutico seguro para a toxoplasmose congênita, limitada somente pela exposição tardias na gravidez que estão relacionadas com alguns riscos ao feto, como fechamento prematuro do ducto arterioso e complicações renais, devendo ser utilizado com cautela e antes de 32 semanas de gestação, em que não foram demonstrados comprometimento dos neonatos (Lucas, 2016).

Esses achados reforçam o potencial da indometacina para ser reposicionada como agente adjuvante no tratamento de infecções parasitárias, como a toxoplasmose, nas quais a modulação da resposta imune e o controle da inflamação são determinantes na evolução da doença. Além disso, seu uso pode ser

especialmente relevante no manejo da forma crônica da infecção, com envolvimento encefálico, e nos casos de toxoplasmose congênita.

### 3 JUSTIFICATIVA

A alta prevalência global da toxoplasmose a configura como a infecção parasitária de caráter oportunista mais comum no mundo, presente em cerca de um terço da população humana. No entanto, a gravidade da doença extrapola os dados numéricos, pois grupos vulneráveis são mais suscetíveis a manifestações severas e crônicas da infecção, o que impõe um desafio principalmente em relação ao tratamento das gestantes com toxoplasmose e a prevenção desta doença para os portadores de HIV. Ademais, a persistência e cronicidade do parasita no organismo exige um monitoramento e tratamento prolongado pelos sistemas de saúde, o que impacta significativamente os recursos públicos e evidencia a necessidade urgente de terapias mais eficazes, seguras e adaptadas às diferentes fases da infecção.

Além disso, o padrão atual de tratamento estabelecido com a combinação de pirimetamina e sulfadiazina apresenta efeitos adversos e não é consolidado para o uso em casos crônicos, o que demonstra uma limitação no tratamento existente para a fase aguda e a ausência de tratamento para a fase crônica, evidenciando uma lacuna terapêutica crítica, principalmente para os grupos de risco que mais necessitam de alternativas seguras e eficazes.

Dessa forma, o presente estudo propõe analisar o potencial reposicionamento do medicamento indometacina frente ao *T. gondii*, com o objetivo de identificar uma alternativa terapêutica que ofereça maior segurança, menor toxicidade e, se possível, eficácia também na fase crônica da infecção. Esta pesquisa pode, portanto, abrir caminhos para a formulação de novos protocolos terapêuticos mais seguros, acessíveis e aplicáveis a populações vulneráveis, contribuindo de forma relevante para o enfrentamento da toxoplasmose em âmbito clínico e epidemiológico.

## 4 OBJETIVOS

### 4.1 Objetivo geral

Analisar o potencial terapêutico do fármaco de reposicionamento indometacina em culturas de *T. gondii in vitro*.

### 4.2 Objetivos específicos

1. Revisar a literatura científica sobre os mecanismos de ação e aplicações clínicas do fármaco indometacina, com foco em sua potencial atividade antiparasitária contra *T. gondii*.
2. Analisar os dados disponíveis na literatura em relação às propriedades farmacológicas e toxicológicas sobre a eficácia e segurança desse fármaco frente ao *T. gondii*.
3. Comparar, em modelo *in vitro*, os potenciais efeitos terapêuticos desse fármaco com os tratamento convencional.
4. Descobrir novas indicações terapêuticas para indometacina, fármaco já aprovado.

## 5 MATERIAIS E MÉTODOS

É importante destacar que as pesquisas *in silico* e *in vitro* citadas neste presente trabalho foram realizadas pela Profa. Dra. Juliana Quero Reimão, do Departamento de Morfologia e Patologia Básica da Faculdade de Medicina de Jundiaí, parceira do projeto. Após essas pesquisas, a professora nos cedeu e disponibilizou os dados brutos referentes à indometacina, para que as interpretações, análises e conclusões necessárias fossem feitas.

### 5.1 Triagem do fármaco

Foi feita uma triagem inicial *in silico* anti-*T. gondii* de compostos dentre os 160 que foram descritos na COVID Box disponibilizados pela Medicines for Malaria Venture Organization (MMV) (Dos Santos *et al.*, 2023). A partir dessa triagem, o composto Indometacina foi selecionado para ser testado neste projeto, pois embora tenham atividade mediana contra o *T. gondii*, possuem características como a capacidade de atravessar a Barreira Hematoencefálica (BHE), a administração oral, a disponibilidade e baixo custo em farmácias comerciais.

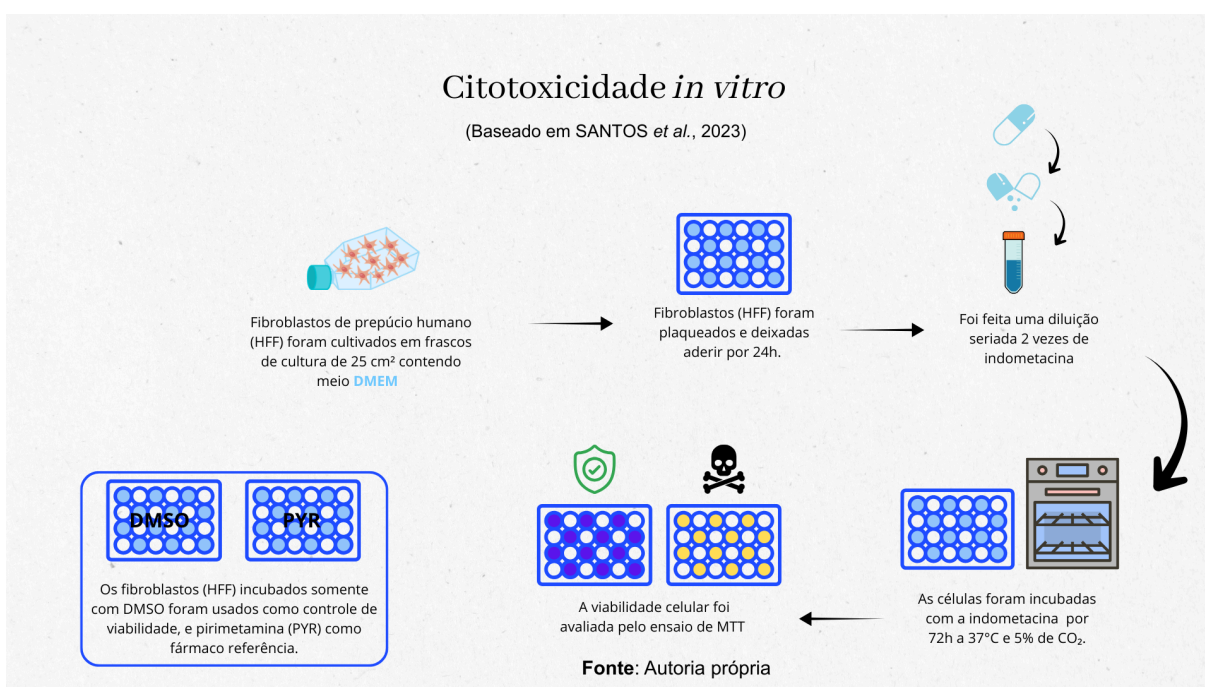
### 5.2 Células e parasito

Fibroblastos de prepúcio humano (HFF) foram cultivados em frascos de cultura de 25 cm<sup>2</sup> contendo meio DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium) suplementado com 10% de soro fetal bovino (FBS), L-glutamina (2 mM) e gentamicina (10 µg/mL) (meio D10) (WANG;SIBLEY, 2019), a 37°C sob atmosfera de 5% de CO<sub>2</sub>. Taquizoítos de *T. gondii* da cepa RH (Castro *et al.*, 2013) foram mantidos em fibroblastos (HFF) cultivados em DMEM suplementado com 2% de FBS, L-glutamina (2 mM) e gentamicina (10 µg/mL) (meio D2), a 37°C e 5% de CO<sub>2</sub>, seguindo método previamente descrito (Wang;Sibley, 2019).

### 5.4 Citotoxicidade *in vitro*

A concentração de 1 µM de indometacina foi utilizada contra a célula hospedeira, fibroblasto (HFF), em concentração equivalente à utilizada na triagem contra *T. gondii*, conforme descrito por Dos Santos *et al.* (2023). Os fibroblastos (HFF) foram plaqueados a  $5 \times 10^4$  células/poço (100 µL) em microplaca de 96 poços

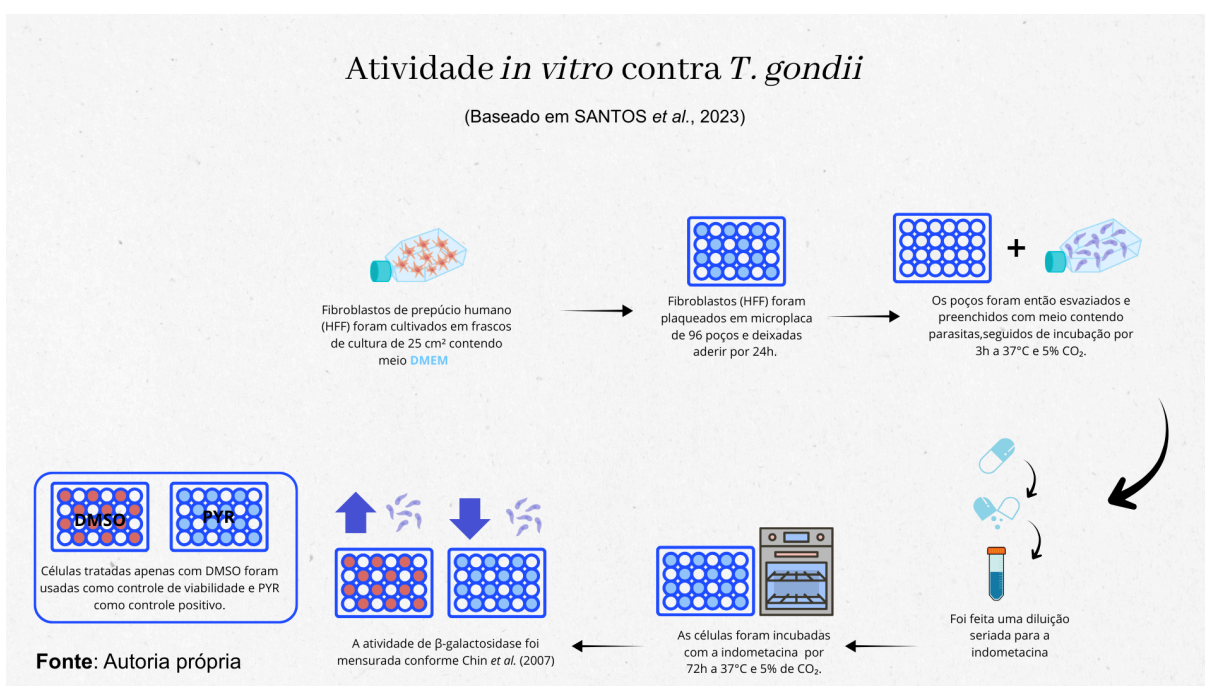
e deixadas aderir por 24h. Em seguida, a Concentração Citotóxica Média (CC<sub>50</sub>) foi determinada por meio de diluição seriada 2 vezes, variando de 50 µM a 0,78 µM. Após isso, foram incubadas com a indometacina por 72h a 37°C e 5% de CO<sub>2</sub>. A viabilidade celular foi avaliada pelo ensaio de MTT, conforme descrito (Santos *et al.*, 2023). Após 72h, o meio de cultura foi substituído por 100 µL de PBS e 20 µL de solução de MTT (5 mg/mL) foram adicionados. A placa foi incubada por 4 h a 37°C. A extração do formazan foi obtida com 80 µL de SDS a 10%. Após 18h no escuro à temperatura ambiente e a absorbância foi medida a 550 nm (Varioskan LUX, Thermo Scientific). Os fibroblastos (HFF) incubados somente com DMSO foram usados como controle de viabilidade, e pirimetamina (PYR) como fármaco referência. O percentual de DMSO foi mantido equivalente ao da maior dose testada. A viabilidade celular foi expressa como porcentagem relativa à densidade óptica das células não tratadas, após normalização. O valor de CC<sub>50</sub> foi calculado usando curva de regressão linear no programa GraphPad Prism 8.



### 5.5 Atividade *in vitro* contra *T. gondii*

A Concentração Efetiva Média (EC<sub>50</sub>) foi determinada por diluição seriada 2 vezes, variando de 0,16 µM a 10 µM, para a indometacina. Conforme relatado anteriormente, o ensaio foi feito com 5 × 10<sup>3</sup> fibroblastos (HFF)/poço os quais foram plaqueados em 100 µL e incubadas por 24h. Os poços foram então esvaziados e

preenchidos com meio D2 contendo  $5 \times 10^3$  parasitas RH-2F1/poço, seguidos de incubação por 3h a 37°C e 5% CO<sub>2</sub>. As células infectadas foram tratadas com indometacina e incubadas por 72h. A atividade de β-galactosidase foi mensurada conforme Chin *et al.* (2007). Após lise com tampão apropriado por 15 min, os lisados foram misturados ao tampão de ensaio e CPRG, seguido de leitura em 570 nm. Células tratadas apenas com DMSO foram usadas como controle de viabilidade e PYR como controle positivo. Os dados representam pelo menos dois experimentos biológicos independentes. O cálculo do EC<sub>50</sub> foi obtido com o gráfico GraphPad Prism 8.



## 5.6 Índice de Seletividade

O Índice de Seletividade (IS) foi calculado como:

$$IS = \frac{CC_{50}}{EC_{50}}$$

## 6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A toxoplasmose é uma infecção que afeta a maioria da população, mas que geralmente apenas uma parte dela pode desenvolver complicações, tais como grávidas e imunossuprimidos, como pacientes com AIDS e transplantados de medula óssea (Wang, 2019). A maior parte dessas pessoas evolui para a forma crônica da doença e, caso ocorra alguma alteração no estado imunológico, o indivíduo pode se tornar suscetível novamente, levando à reativação a partir de uma infecção crônica (Kodym *et al.*, 2015). Dessa forma, grupos de risco devidamente diagnosticados para toxoplasmose poderiam usufruir de medicamentos que possam prevenir esse processo de reagudização, apesar disso, não há uma medicação eficaz para ser usada na fase crônica da doença. Dessa forma, justifica-se a busca de novas opções terapêuticas, especialmente aquelas que se pode usufruir de um reposicionamento de fármacos cujo tempo de desenvolvimento de uma nova substância poderá ser reduzido em relação ao desenvolvimento de um novo fármaco a partir de uma molécula inédita a ser testada.

Fármacos como o nebivolol (Ramos *et al.*, 2024) e a almitrina dimesilato (Dos Santos *et al.*, 2023), identificados por triagens *in silico* do MMV COVID Box e reposicionados para a toxoplasmose, têm apresentado resultados positivos em modelos murinos de infecção crônica. Nesse mesmo contexto, a indometacina, que também está presente nesse Box, surge com potencial promissor, especialmente por reunir propriedades únicas (anti-inflamatórias) que podem contribuir para o enfrentamento da doença.

Embora a indometacina tenha sido originalmente desenvolvida como um anti-inflamatório não esteroideal para o tratamento de condições inflamatórias e dolorosas, estudos indicam um potencial em doenças parasitárias a partir de efeitos imunomoduladores, como malária e leishmaniose, no aumento da resposta linfoproliferativa e aumento da resposta imune específica, respectivamente (Riley *et al.*, 1989; Convit *et al.*, 1987). Esses achados reforçam a possibilidade de que o fármaco possa exercer ações benéficas também no contexto da toxoplasmose, sustentando sua investigação como candidato ao reposicionamento terapêutico. Apesar do reposicionamento estar sendo uma estratégia mais rápida para o reuso de fármacos, há todo um processo que deve ser seguido: primeiramente, a triagem *in silico* deve ser feita, em seguida uma triagem *in vitro*, que deve ser realizada para

confirmar a reprodução do resultado encontrado e caso haja sucesso, o teste *in vivo* pode ser desenvolvido.

No caso do presente trabalho, o estudo *in vivo* foi realizado, porém ao final dele, foi observado que a infecção não se estabeleceu e, portanto, não obtivemos dados válidos para serem analisados.

Assim, o presente estudo avaliou a indometacina *in vitro* contra os taquizoítos de *T. gondii* da cepa RH-2F1 obtendo um EC<sub>50</sub> de 8,9 µM sendo essa a concentração da droga que reduziu a resposta do parasito pela metade. Em contrapartida, o valor de aproximadamente 0,37 µM de pirimetamina indica que ela possui uma potência maior que a indometacina. Isso evidencia que a indometacina não compete em potência direta com o tratamento padrão, mas abre espaço para investigação como coadjuvante ou para fases da infecção em que a pirimetamina é menos eficaz, como a forma crônica.

Como o objetivo é a busca de um novo potencial fármaco para o tratamento da toxoplasmose em humanos, é importante observar a citotoxicidade em células humanas antes de serem testadas *in vivo*. Assim, foi avaliada a citotoxicidade da indometacina, cujo CC<sub>50</sub> encontrado foi o valor de 25,7µM. Em contraste, a pirimetamina, apresenta um CC<sub>50</sub> maior que 50 µM, de acordo com Dos Santos (2023), valor que corresponde a quase o dobro do encontrado pela indometacina, o que demonstra que a pirimetamina apresenta uma segurança citotóxica maior, porém, a indometacina ainda apresenta uma janela terapêutica aceitável, apesar da sua citotoxicidade moderada.

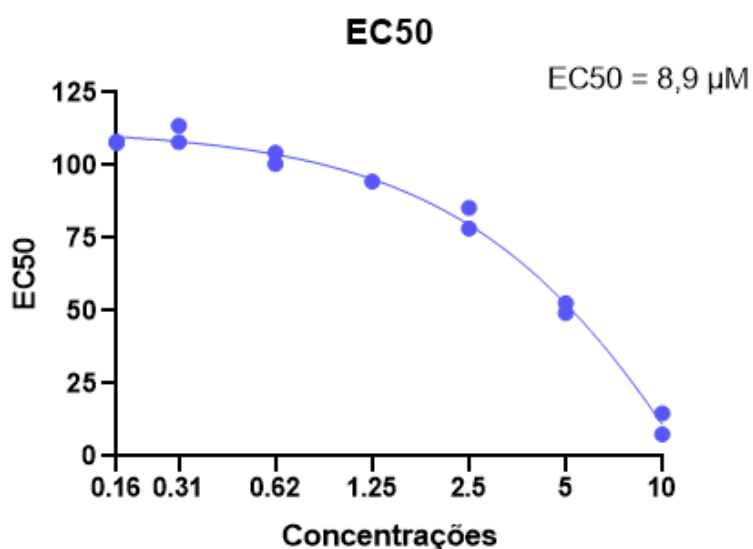


Gráfico 1 - EC50 (Concentração Efetiva Média) é a concentração de um fármaco que induz 50% da resposta. No caso da Indometacina, o EC50 foi de 8,9  $\mu\text{M}$ .

**Fonte:** Autoria própria

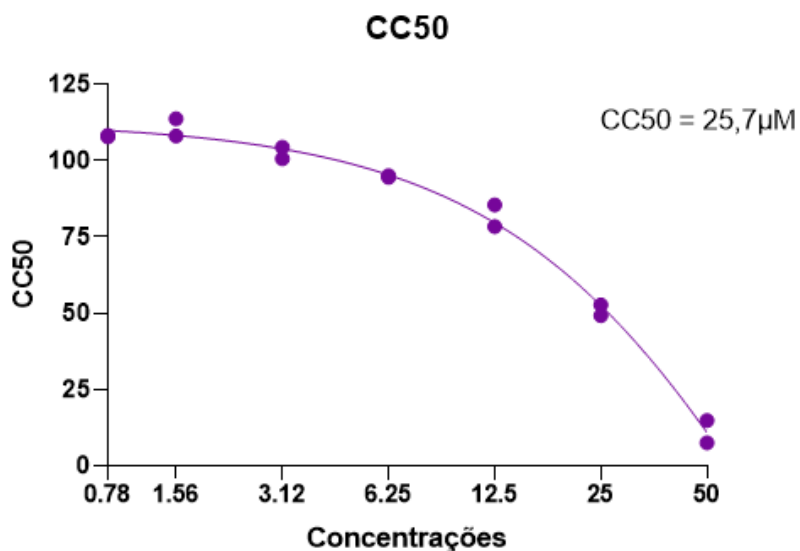


Gráfico 2 - CC50 (Concentração Citotóxica Média) é a concentração de um fármaco que seja citotóxico para 50% da população celular. No caso da Indometacina, o CC50 foi de 25,7.

**Fonte:** Autoria própria

A partir desses dados foi calculado o índice de seletividade (IS), medida que indica a eficácia de um composto ao comparar sua atividade terapêutica com sua toxicidade. Ele é geralmente calculado pela razão entre a concentração citotóxica para 50% das células ( $\text{CC}_{50}$ ) e a concentração do composto necessária para induzir 50% da resposta ( $\text{EC}_{50}$ ). Dessa maneira, um IS alto, ou seja, maior ou igual a dez, indica um composto com relativo potencial de segurança, pois sua atividade terapêutica ocorre em concentrações muito baixas do que aquelas que causam toxicidade celular, e um IS baixo, menor que dez, indica que a dose necessária para a dose terapêutica é próxima da dose que causa danos às células, sugerindo um perfil de segurança desfavorável (Lenta *et al.*, 2007). No caso do presente trabalho, o índice de seletividade encontrado foi de 2,89 demonstrando baixa segurança, podendo ser tão tóxico quanto eficaz. Portanto, embora a indometacina tenha apresentado características promissoras na pesquisa *in silico*, é relevante que suas ações sejam otimizadas, como reduzir sua toxicidade nas células hospedeiras,

aumentar a eficácia contra o parasito em uma possível combinação sinérgica com outros fármacos ou até melhorar sua biodisponibilidade para atingir mais o parasito e menos o hospedeiro.

A toxicidade gastrointestinal representa uma das principais limitações associadas ao uso de anti-inflamatórios não esteroidais, incluindo a indometacina, sendo amplamente descrita como consequência direta da inibição das COX e do contato local do fármaco com a mucosa gástrica (TAI; MCALINDON, 2021). A coadministração de inibidores de bomba de prótons (PPIs) com AINEs é amplamente utilizada para reduzir eventos adversos gastrointestinais superiores, ao suprimir a secreção ácida gástrica, sendo recomendada em muitos protocolos clínicos para prevenção de úlceras e sangramentos gástricos (Gwee *et al.*, 2018).

Outra abordagem promissora consiste na exploração de estratégias combinatórias, nas quais a indometacina pode ser associada a fármacos antiparasitários, permitindo a redução de sua dose até níveis que ainda mantêm atividade antiparasitária, mas com menor toxicidade para a célula hospedeira. Trabalhos demonstram que combinações envolvendo indometacina e antibióticos ou outros anti-inflamatórios modulam vias inflamatórias e reduzem a dose necessária para obtenção de efeito terapêutico, ampliando o Índice de Seletividade resultante (Liu *et al.*, 2022). No contexto da toxoplasmose, combinações racionais podem proporcionar sinergismo tanto pela ação direta sobre o parasito quanto pela redução do estresse oxidativo e inflamação em células hospedeiras, configurando uma estratégia para contornar a margem terapêutica estreita observada *in vitro*.

Além disso, sistemas de liberação controlada e nanocarreadores têm sido amplamente investigados como alternativas para melhorar o perfil farmacocinético e a seletividade de fármacos, demonstrando uma alternativa promissora para o tratamento eficaz de doenças parasitárias, superando as limitações de baixa biodisponibilidade e distribuição não específica (Sun *et al.*, 2019). O artigo também revisa evidências de que nanopartículas podem aprimorar a entrega de fármacos a tecidos de difícil acesso, incluindo o sistema nervoso central, característica relevante para parasitos com tropismo cerebral, como *T. gondii*. Ademais, a partir de uma distribuição mais seletiva ao tecido-alvo, reduz-se a exposição sistêmica e, conseqüentemente, a toxicidade. Dessa forma, em estudos futuros envolvendo a indometacina contra *T. gondii*, essas estratégias podem ser integradas para possibilitar uma administração mais segura.

Apesar das limitações evidenciadas, especialmente o baixo índice de seletividade (IS = 2,89), a capacidade de gerar úlceras gástricas (Munjal, Allam, 2024), e a elevada ligação às proteínas plasmáticas, que reduz significativamente a fração livre capaz de alcançar o sistema nervoso central (Bannwarth *et al.*, 1990), a indometacina reúne características farmacológicas relevantes que justificam seu interesse como molécula candidata em estudos antiparasitários. Como AINE de ação antipirética, analgésica e anti-inflamatória, seu mecanismo se dá pela inibição não seletiva de COX-1 e COX-2, diminuindo a síntese de prostaglandinas. No âmbito imunológico, estudos demonstram aumento da resposta proliferativa de linfócitos pela inibição de PGE<sub>2</sub>, intensificação de respostas imunes específicas em modelos de leishmaniose e reversão parcial da imunossupressão em infecções parasitárias e em ensaios *in vitro* de malária (Convit *et al.*, 1987; Riley *et al.*, 1989). O fármaco apresenta ainda um perfil singular entre os AINEs, com potente ação vasoconstritora cerebral que reduz o fluxo sanguíneo e a pressão intracraniana, além de conseguir atravessar a barreira hematoencefálica, atributo importante para modelos de toxoplasmose crônica. Além disso, como é utilizada em contextos obstétricos para inibir o trabalho de parto prematuro, surge um potencial teórico de exploração para sua aplicação em cenários de interesse como a toxoplasmose congênita, embora até o momento não haja comprovação de eficácia nesse contexto e seja limitada em exposição tardias (Lucas, 2016). Assim, mesmo diante dos obstáculos relacionados à segurança e à biodisponibilidade, o conjunto de propriedades farmacológicas da indometacina sustenta a relevância de sua investigação exploratória em modelos experimentais de toxoplasmose.

## 7 CONCLUSÃO

O presente trabalho pesquisou, em modelo *in vitro*, o potencial da indometacina como fármaco candidato ao reposicionamento terapêutico contra o *T. gondii*. A avaliação da atividade antiparasitária demonstrou que o composto apresentou  $EC_{50}$  de 8,9  $\mu$ M, indicando boa eficácia na redução da proliferação de taquizoítos e a análise da citotoxicidade revelou  $CC_{50}$  de 25,7  $\mu$ M, valor compatível com o perfil farmacológico de anti-inflamatórios não esteroidais previamente testados em modelos celulares. A relação entre esses parâmetros resultou em um Índice de Seletividade de aproximadamente 2,9, sugerindo que a atividade antiparasitária existe, mas é acompanhada de toxicidade celular por possuir uma margem terapêutica estreita que limita sua segurança.

Em conjunto, os resultados obtidos indicam que a indometacina, apesar de sua diminuta margem terapêutica, possui potencial real como agente antiparasitário contra *T. gondii* e assim, é considerado um fármaco promissor para ser testado *in vivo* e para ser a base de futuros testes. Para uma possível melhora nos seus resultados, sua otimização pode ser avaliada com o objetivo de melhorar seus resultados *in vitro* e conseqüentemente *in vivo*. Assim, ações como tentar reduzir sua toxicidade nas células hospedeiras, aumentar a eficácia contra o parasito em uma possível combinação sinérgica com outros fármacos ou até melhorar sua biodisponibilidade para atingir mais o parasito em órgão-alvo específico e menos o hospedeiro sistemicamente, podem ser saídas viáveis para melhorar o potencial terapêutico da indometacina e contribuir para o avanço na busca por alternativas terapêuticas mais acessíveis para o tratamento da toxoplasmose.

## REFERÊNCIAS

ASPINALL, Tanya V.; JOYNSON, David H. M.; GUY, Edward; HYDE, John E.; SIMS, Paul F. G. **The Molecular Basis of Sulfonamide Resistance in *Toxoplasma gondii* and Implications for the Clinical Management of Toxoplasmosis**. The Journal Of Infectious Diseases, [S.L.], v. 185, n. 11, p. 1637-1643, jun. 2002. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1086/340577>.

ATTIAS, Márcia; TEIXEIRA, Dirceu E.; BENCHIMOL, Marlene; VOMMARO, Rossiane C.; CREPALDI, Paulo Henrique; SOUZA, Wanderley de. **The life-cycle of *Toxoplasma gondii* reviewed using animations**. Parasites & Vectors, [S.L.], v. 13, n. 1, art.574, 23 nov. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s13071-020-04445-z>.

BANNWARTH, B., NETTER, P., LAPICQUE, F. *et al.* **Concentrações plasmáticas e no líquido cefalorraquidiano de indometacina em humanos**. Eur J Clin Pharmacol 38 , 343–346 (1990). <https://doi.org/10.1007/BF00315572>

CONVIT, J.; ULRICH, M.; FERNÁNDEZ, C.T.; TAPIA, F.J.; CÁCERES-DITTMAR, G.; CASTÉS, M.; RONDÓN, A.J.. **The clinical and immunological spectrum of American cutaneous leishmaniasis**. Transactions Of The Royal Society Of Tropical Medicine And Hygiene, [S.L.], v. 87, n. 4, p. 444-448, jul. 1993. Oxford University Press (OUP). [http://dx.doi.org/10.1016/0035-9203\(93\)90030-t](http://dx.doi.org/10.1016/0035-9203(93)90030-t).

DAHER, Darine; SHAGHLIL, Ahmad; SOBH, Eyad; HAMIE, Maguy; HASSAN, Malika Elhage; MOUMNEH, Mohamad Bahij; ITANI, Shaymaa; HAJJ, Rana El; TAWK, Lina; SABBAN, Marwan El. **Comprehensive Overview of *Toxoplasma gondii*-Induced and Associated Diseases**. Pathogens, [S.L.], v. 10, n. 11, p. 1351, 20 out. 2021. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/pathogens10111351>.

DOS SANTOS, Bruna Ramos dos; RAMOS, Amanda Bruno da Silva Bellini; MENEZES, Renata Priscila Barros de; SCOTTI, Marcus Tullius; COLOMBO, Fábio Antônio; MARQUES, Marcos José; REIMÃO, Juliana Quero. **Repurposing the Medicines for Malaria Venture's COVID Box to discover potent inhibitors of *Toxoplasma gondii*, and *in vivo* efficacy evaluation of almitrine bismesylate (MMV1804175) in chronically infected mice**. Plos One, [S.L.], v. 18, n. 7, art. e0288335, 7 jul. 2023b. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0288335>.

DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S.; SPEER, C. A.. **Structures of *Toxoplasma gondii* Tachyzoites, Bradyzoites, and Sporozoites and Biology and Development of Tissue Cysts**. Clinical Microbiology Reviews, [S.L.], v. 11, n. 2, p. 267-299, abr. 1998. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/cmr.11.2.267>.

DUBEY, J. P.; MURATA, F. H. A.; CERQUEIRA-CÉZAR, C. K.; KWOK, O. C. H.; VILLENA, I. **Congenital toxoplasmosis in humans: an update of worldwide rate of congenital infections**. Parasitology, [S.L.], v. 148, n. 12, p. 1406-1416, 18 jun. 2021. Cambridge University Press (CUP). <http://dx.doi.org/10.1017/s0031182021001013>.

DUNAY, Ildiko Rita; GAJUREL, Kiran; DHAKAL, Reshika; LIESENFELD, Oliver; MONTOYA, Jose G.. **Treatment of Toxoplasmosis: historical perspective, animal models, and current clinical practice.** Clinical Microbiology Reviews, [S.L.], v. 31, n. 4, art. e00057-17, out. 2018. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/cmr.00057-17>.

FLEGR, Jaroslav; PRANDOTA, Joseph; SOVIČKOVÁ, Michaela; ISRAILI, Zafar H.. **Toxoplasmosis – A Global Threat. Correlation of Latent Toxoplasmosis with Specific Disease Burden in a Set of 88 Countries.** Plos One, [S.L.], v. 9, n. 3, e90203, 24 mar. 2014. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0090203>.

GWEE, Kok Ann; GOH, Vernadine; LIMA, Graça; SETIA, Sajita. **Coadministração de inibidores da bomba de prótons com anti-inflamatórios não esteroides: riscos versus benefícios.** Clinical Medicine Insights: Gastroenterology, 2018. PMID: PMC5817415. PMID: 29491719.

JARADA, Tamer N.; ROKNE, Jon G.; ALHAJJ, Reda. **A review of computational drug repositioning: strategies, approaches, opportunities, challenges, and directions.** Journal Of Cheminformatics, [S.L.], v. 12, n. 1, art. 55, 22 jul. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s13321-020-00450-7>.

JOURDAN, Jean-Pierre; BUREAU, Ronan; ROCHAIS, Christophe; DALLEMAGNE, Patrick. **Drug repositioning: a brief overview.** Journal Of Pharmacy And Pharmacology, [S.L.], v. 72, n. 9, p. 1145-1151, 1 set. 2020. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1111/jphp.13273>.

KODYM, P. *et al.* **Incidence, immunological and clinical characteristics of reactivation of latent *Toxoplasma gondii* infection in HIV-infected patients.** Epidemiology and Infection, v. 143, n. 3, p. 600-607, fev. 2015. DOI: 10.1017/S0950268814001253. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24850323/>. Acesso em: 5 dez. 2025.

KOMPALIC-CRISTO, Alicia; BRITTO, Constança; FERNANDES, Octavio. **Diagnóstico molecular da toxoplasmose: revisão.** Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial, [S.L.], v. 41, n. 4, p. 229-235, ago. 2005. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1676-24442005000400003>.

LAPINSKAS, Paula J.; BEN-HARARI, Ruben R.. **Perspective on current and emerging drugs in the treatment of acute and chronic toxoplasmosis.** Postgraduate Medicine, [S.L.], v. 131, n. 8, p. 589-596, 26 ago. 2019. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/00325481.2019.1655258>.

LENTA, B. Ndjakou; VONTHRON-SÉNÉCHEAU, C.; SOH, R. Fongang; TANTANGMO, F.; NGOUELA, S.; KAISER, M.; TSAMO, E.; ANTON, R.; WENIGER, B. **In vitro antiprotozoal activities and cytotoxicity of some selected Cameroonian medicinal plants.** Journal Of Ethnopharmacology, [S.L.], v. 111, n. 1, p. 8-12, abr. 2007. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2006.10.036>.

LIU, K.; YU, J.; XIA, Y.; ZHANG, L.-T.; LI, S.-Y.; YAN, J. **The combination of ciprofloxacin and indomethacin suppresses the level of inflammatory cytokines secreted by macrophages in vitro.** Chinese Journal of Traumatology, v. 25, n. 6, p. 379–388, 2022. DOI: 10.1016/j.cjtee.2022.05.002. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9751534/>. Acesso em: 7 dez. 2025. PMC

LUCAS, Sylvia. **The Pharmacology of Indomethacin.** Headache: The Journal of Head and Face Pain, [S.L.], v. 56, n. 2, p. 436-446, fev. 2016. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/head.12769>.

MAHENDRA, Ankit; PEYRON, Ivan; THAUNAT, Olivier; DOLLINGER, Cécile; GILARDIN, Laurent; SHARMA, Meenu; WOOLLA, Bharath; RAO, Desirazu N; PADIOLLEAU-LEFEVRE, Séverine; BOQUET, Didier. **Generation of Catalytic Antibodies Is an Intrinsic Property of an Individual's Immune System: a study on a large cohort of renal transplant patients.** The Journal Of Immunology, [S.L.], v. 196, n. 10, p. 4075-4081, maio 2016. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.1403005>.

MARCIANO, Maria Aparecida Moraes *et al.* **Determination of the viability of *Toxoplasma gondii* oocysts by PCR real-time after treatment with propidium monoazide.** Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, v. 62, p. e84, 2020. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33146312/>>.

MILNE, Gregory; WEBSTER, Joanne P.; WALKER, Martin. ***Toxoplasma gondii*: an underestimated threat?** Trends In Parasitology, [S.L.], v. 36, n. 12, p. 959-969, dez. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pt.2020.08.005>.

MARTYNOWICZ, Jennifer; DOGGETT, J. Stone.; SULLIVAN, William. J. Jr. **Efficacy of guanabenz combination therapy against chronic toxoplasmosis across multiple mouse strains.** Antimicrobial Agents and Chemotherapy, v. 64, n. 9, e00539-20, 2020. DOI: 10.1128/AAC.00539-20.

MUNJAL A, ALLAM AE. **Indomethacin.** 2024 May 28. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan–. PMID: 32310396.

MOLAN, A.; NOSAKA, K.; HUNTER, M.; WANG, W. **Global status of *Toxoplasma gondii* infection: systematic review and prevalence snapshots.** Tropical Biomedicine, [S.L.], v. 36, n. 4, p. 898–925, 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33597463/>.

MONTAZERI, Mahbobeh; MEHRZADI, Saeed; SHARIF, Mehdi; SARVI, Shahabeddin; TANZIFI, Asal; AGHAYAN, Sargis A.; DARYANI, Ahmad. **Drug Resistance in *Toxoplasma gondii*.** Frontiers In Microbiology, [S.L.], v. 9, art. 2587, 29 out. 2018. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2018.02587>.

MONTOYA, Jg; LIESENFELD, O. **Toxoplasmosis.** The Lancet, [S.L.], v. 363, n. 9425, p. 1965-1976, jun. 2004. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736\(04\)16412-x](http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736(04)16412-x).

NEVES, D. P. **Parasitologia básica**. 13. ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 2016.

PETRI, William. **Sulfonamidas, trimetoprima-sulfametoxazol, quinolonas e agentes para infecções do trato urinário**. In: BRUNTON, Laurence L. *et al.* (Ed.). Goodman & Gilman: as bases farmacológicas da terapêutica. 13. ed. Porto Alegre: AMGH, 2018. p. 1450–1470

RAMOS, Amanda Bruno da Silva Bellini; TORRES, Tayline; REIS, Luis Felipe Cunha dos; LAMBERT, Gabriel Carvalho; COLOMBO, Fábio Antônio; MARQUES, Marcos José; REIMÃO, Juliana Quero. **Assessment of nebivolol efficacy in experimental models of toxoplasmosis: insights into parasite burden reduction and neuronal protection**. Parasitology Research, [S.L.], v. 123, n. 8, p. 1-10, ago. 2024. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00436-024-08318-7>.

RILEY, E. M.; MACLENNAN, C.; KWIATKOWSKI, D.; GREENWOOD, B. M.. **Suppression of in-vitro lymphoproliferative responses in acute malaria patients can be partially reversed by indomethacin**. Parasite Immunology, [S.L.], v. 11, n. 5, p. 509-517, set. 1989. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-3024.1989.tb00685.x>.

ROBERT-GANGNEUX, Florence; DARDÉ, Marie-Laure. **Epidemiology of and Diagnostic Strategies for Toxoplasmosis**. Clinical Microbiology Reviews, [S.L.], v. 25, n. 2, p. 264-296, abr. 2012. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/cmr.05013-11>.

SANTOS, Bruna Ramos dos; RAMOS, Amanda Bruno da Silva Bellini; MENEZES, Renata Priscila Barros de; SCOTTI, Marcus Tullius; COLOMBO, Fábio Antônio; MARQUES, Marcos José; REIMÃO, Juliana Quero. **Anti-Toxoplasma gondii screening of MMV pandemic response box and evaluation of RWJ-67657 efficacy in chronically infected mice**. Parasitology, [S.L.], v. 150, n. 13, p. 1226-1235, 20 out. 2023a. Cambridge University Press (CUP). <http://dx.doi.org/10.1017/s0031182023000999>.

SIQUEIRA-BATISTA, Rodrigo *et al.* **Parasitologia: fundamentos e prática clínica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2020.

SLEDA, Melissa A.; PITAFI, Zaid F.; SONG, Wenzhan; OLDFIELD, Eric; MORENO, Silvia N. J.. **Lipophilic bisphosphonates reduced cyst burden and ameliorated hyperactivity of mice chronically infected with Toxoplasma gondii**. Mbio, [S.L.], v. 15, n. 11, art. e01756-24, 13 nov. 2024. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/mbio.01756-24>.

SUN, Yuzhu; CHEN, Dongmei; PAN, Yuanhu; QU, Wei; HAO, Haihong; WANG, Xu; LIU, Zhenli; XIE, Shuyu. **Nanoparticles for antiparasitic drug delivery**. Drug Delivery, v. 26, n. 1, p. 1206-1221, 2019. DOI: 10.1080/10717544.2019.1692968. PMID: PMC6882479. PMID: 31746243.

TAI, Foong Way David; McALINDON, Mark E. **Anti-inflamatórios não esteroides e o trato gastrointestinal**. Frontline Gastroenterology, 2021. PMID: PMC8002800.

PMID: 33762373.

WANG, Qiuling; SIBLEY, L. David. **Assays for Monitoring *Toxoplasma gondii* Infectivity in the Laboratory Mouse**. *Methods In Molecular Biology*, [S.L.], p. 99-116, 23 nov. 2019. Springer US. [http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4939-9857-9\\_5](http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4939-9857-9_5).