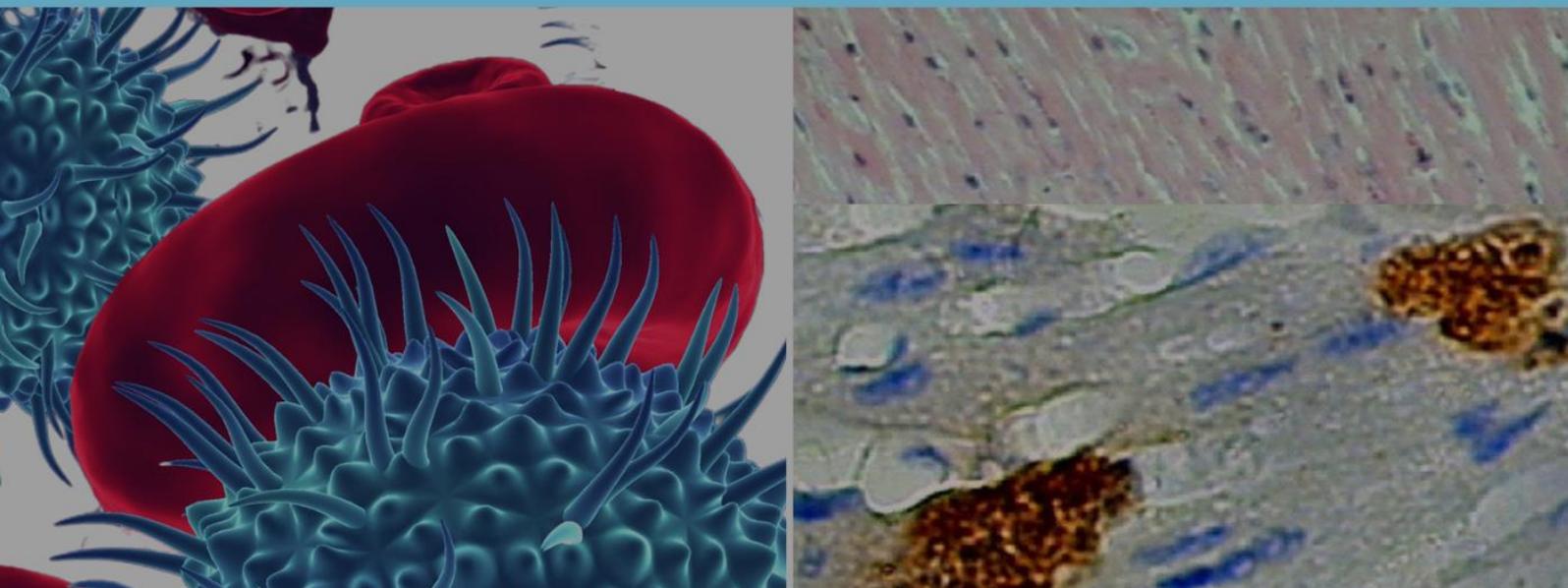




JULIANA REIS MACHADO E SILVA
MARCOS VINICIUS DA SILVA
JOSÉ RODRIGUES DO CARMO NETO
LÚCIO ROBERTO CANÇADO CASTELLANO

ATUALIZAÇÕES EM DOENÇAS INFECTO PARASITÁRIAS: FISIOPATOGENESE



 EDITORA
CREATIVE

Juliana Reis Machado e Silva
Marcos Vinícius da Silva
José Rodrigues do Carmo Neto
Lúcio Roberto Cançado Castellano
Organizadores

Atualizações em Doenças Infecto Parasitárias: Fisiopatogênese

ISBN: 978-65-84626-01-0

DOI: 10.53924/fisiopatdip

1º Edição

Editora Creative
2024
Copyright © dos autores. Todos os direitos reservados.

Todo conteúdo desta publicação (E-Book) é de total responsabilidade dos autores e organizadores da obra. Estando a Editora Creative isenta de qualquer ação de responsabilidade no que tange plágio, direcionamento de opinião ou de afirmações de qualquer natureza.

Esta obra é publicada em acesso aberto. É permitido o download e seu compartilhamento, com a devida atribuição de crédito, sem que sejam feitas quaisquer alterações e sendo proibida sua utilização para fins comerciais.

Projeto Gráfico, Editoração e Formatação Eletrônica: Editora Creative

Créditos da Capa: IMAGENS DO CANTO INFERIOR DIREITO: Cortes histológicas de coração de camundongos C57BL / 6. Imunohistoquímica mostrando ninhos de T. cruzi nos animais infectados e reinfectados com a cepa Colombiana (10x e 40x).

Disponível em: Reis Machado J, Silva MV, Borges DC, da Silva CA, Ramirez LE, dos Reis MA, Castellano LR, Rodrigues V, Rodrigues DB. **Immunopathological aspects of experimental Trypanosoma cruzi reinfections.** Biomed Res Int. 2014;2014:648715. DOI: 10.1155/2014/648715.

Normalização e Revisão: Dos Autores

Apoio Institucional: Programa De Pós-Graduação Em Ciências Da Saúde Da Universidade Federal Do Triângulo Mineiro E Programa De Pós-Graduação Em Medicina Tropical E Infectologia Da Universidade Federal Do Triângulo Mineiro.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(Câmara Brasileira do Livro, SP, Brasil)

Atualizações em doenças infecto parasitárias
[livro eletrônico] : fisiopatogênese /
organização Juliana Reis Machado e
Silva...[et al.]. -- 1. ed. -- Uberaba, MG :
Editora Creative, 2024.
PDF

Vários autores.
Outros organizadores: Marcos Vinicius da Silva,
José Rodrigues do Carmo Neto, Lúcio Roberto Cançado
Castellano.

Bibliografia.
ISBN 978-65-84626-01-0

1. Doenças infecciosas - Prevenção 2. Doenças
infecciosas e parasitárias 3. Educação em saúde
4. Fisiopatogenia 5. Medicina e saúde I. Silva,
Juliana Reis Machado e. II. Silva, Marcos Vinicius
da. III. Carmo Neto, José Rodrigues do. IV.
Castellano, Lúcio Roberto Cançado.

CDD-616.96

NLM-WC 695

24-238490

Índices para catálogo sistemático:

1. Doenças infecciosas e parasitárias : Medicina
616.96

Aline Grazielle Benitez - Bibliotecária - CRB-1/3129

Colaboradores

Andrei Giacchetto Felice

Doutorando do Programa de Pós-graduação em Medicina Tropical e Infectologia. Universidade Federal do Triângulo Mineiro – UFTM.

Me. Anna Victória Bernardes e Borges

Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Medicina Tropical e Infectologia. Universidade Federal do Triângulo Mineiro – UFTM.

Me. Beatriz Sodré Matos

Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Medicina Tropical e Infectologia. Universidade Federal do Triângulo Mineiro – UFTM.

Dr. Chamberttan Souza Desidério

Estágio pós-doutoral - Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde. Universidade Federal do Triângulo Mineiro – UFTM.

Eduarda Guimarães Sousa

Mestranda em Genética, com área de concentra o em Gen mica e Bioinformática, pelo Programa de Pós-gradua o da Universidade Federal de Minas Gerais.

Dra. Flávia Aparecida de Oliveira

Professora efetiva da do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás (IPTSP-UFG).

Gabriela Terra Silva

Mestranda do Programa de Pós-gradua o em Medicina Tropical e Infectologia. Universidade Federal do Triângulo Mineiro – UFTM.

Dr. Hugo Felix Perini

Estágio pós-doutoral - Programa de Pós-gradua o em Ciências da Saúde. Universidade Federal do Triângulo Mineiro – UFTM.

Isabella de Oliveira Ferrato de Sousa

Mestranda do Programa de Pós-gradua o em Medicina Tropical e Infectologia. Universidade Federal do Triângulo Mineiro – UFTM.

Dr. José Rodrigues do Carmo Neto

Doutor pelo Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás – UFG.

Dra. Juliana Reis Machado

Professora efetiva do Departamento de Patologia, Genética e Evolu o. Universidade Federal do Triângulo Mineiro- UFTM.

Karen Martins Mendes

Graduanda do curso de Biomedicina da Universidade Federal do Triângulo Mineiro – UFTM.

Letícia Cirelli Ruiz

Mestranda do Programa de Pós-gradua o em Fisiologia. Universidade de São Paulo - USP.

Dr. Lúcio Roberto Cançado Castellano

Professor efetivo da Escola Técnica de Saúde. Universidade Federal da Paraíba- UFPB.

Dra. Malu Mateus Santos Obata

Estágio pós-doutoral - Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde. Universidade Federal do Triângulo Mineiro – UFTM.

Me. Marcela Rezende Lemes

Doutoranda em Bioinformática pelo Programa Interunidades de Pós-Graduação em Bioinformática da Universidade Federal de Minas Gerais.

Dr. Marcos Vinícius da Silva

Professor efetivo do Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia. Universidade Federal do Triângulo Mineiro- UFTM.

Mariana Godoy Garcia

Graduanda do curso de farmácia da Universidade Federal de Goiás – UFG.

Dra. Marlene Antônia dos Reis

Doutora em Patologia Humana pela Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto

Dr. Pablo Igor Ribeiro Franco

Doutor pelo Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás – UFG.

Pedro Henrique Marques

Mestrando no Programa Interunidades de Pós-Graduação em Bioinformática pela Universidade Federal de Minas Gerais.

Dra. Priscilla Elias Ferreira da Silva

Doutora em Medicina Tropical e Infectologia da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM).

Dr. Rafael Obata Trevisan

Estágio pós-doutoral - Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde. Universidade Federal do Triângulo Mineiro – UFTM.

Me. Rhanoica Oliveira Guerra

Doutoranda pelo programa de Imunologia Básica e Aplicada na Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo – USP.

Dr. Siomar de Castro Soares

Docente do Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia da Universidade Federal do Triângulo Mineiro.

Thainá Silva Bologna

Mestranda do Programa de Pós-graduação em Medicina Tropical e Infectologia. Universidade Federal do Triângulo Mineiro – UFTM.

Me. Thais Amanda De Lima Nunes

Mestra em Parasitologia e Imunologia Aplicadas. Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical e Infectologia – UFTM.

Me. Thais Cristina Vilela Rodrigues

Doutoranda em Genética Celular e Molecular, participando de supervisão internacional conjunta entre a Universidade Federal de Minas Gerais e a Université Paris Saclay.

Dra. Thaís Soares Farnesi de Assunção

Central de laboratório do ICBN/ICBN/UFTM

Me. Wesley Guimarães Bovi

Doutorando do Programa de Pós-graduação em Medicina Tropical e Infectologia.
Universidade Federal do Triângulo Mineiro – UFTM

Dra. Yarla Loyane Lira Braga

Doutora pelo Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás
– UFG

SUMÁRIO

PREFÁCIO	09
CAPÍTULO 01	10
ATUALIDADES ACERCA DO CICLO DE VIDA DO <i>Plasmodium</i> NO HOSPEDEIRO VERTEBRADO E INTERAÇÕES COM CÉLULAS HEPÁTICAS E SANGUÍNEAS	
<i>Wesley Guimarães Bovi, Rafael Obata Trevisan, Chamberttan Souza Desidério, Gabriela Terra Silva, Malú Mateus Santos Obata, Hugo Felix Perini, Lúcio Roberto Cañado Castellano, Marcos Vinícius da Silva.</i>	
CAPÍTULO 02	24
DOENÇA DE CHAGAS: ATUALIZAÇÕES NA RELAÇÃO DO PARASITO COM O HOSPEDEIRO VERTEBRADO	
<i>José Rodrigues do Carmo Neto, Pablo Igor Ribeiro Franco, Thainá Silva Bologna, Isabella de Oliveira Ferrato de Sousa, Hugo Felix Perini, Priscilla Elias Ferreira da Silva, Juliana Reis Machado, Lúcio Roberto Cañado Castellano, Marcos Vinícius da Silva.</i>	
CAPÍTULO 03	51
TOXOPLASMOSE E SISTEMA NERVOSO CENTRAL: NOVOS OLHARES PARA INTERAÇÕES CELULARES E NEUROLÓGICAS	
<i>Letícia Cirelli Ruiz, Hugo Felix Perini, Lúcio Roberto Cañado Castellano, Marcos Vinícius da Silva.</i>	
CAPÍTULO 04	68
INTERAÇÕES DO <i>Plasmodium</i> E DE SEU PIGMENTO HEMOZÓINA COM O SISTEMA IMUNE E SUAS POSSÍVEIS COMPLICAÇÕES	
<i>Chamberttan Souza Desidério, Wesley Guimarães Bovi, Rafael Obata Trevisan, Gabriela Terra Silva, Malú Mateus Santos Obata, Hugo Felix Perini, Lúcio Roberto Cañado Castellano, Marcos Vinícius da Silva.</i>	
CAPÍTULO 05	81
<i>Plasmodium</i> E SEUS HOSPEDEIROS INVERTEBRADOS: ATUALIDADES SOBRE UMA ANTIGA RELAÇÃO	
<i>Malú Mateus Santos Obata, Thais Amanda De Lima Nunes, Wesley Guimarães Bovi, Hugo Felix Perini, Lúcio Roberto Cañado Castellano, Marcos Vinícius Da Silva.</i>	
CAPÍTULO 06	102
INTERAÇÃO PARASITO-VETOR: UMA BREVE ABORDAGEM DOS MECANISMOS ENVOLVIDOS NA TRANSMISSÃO DE LEISHMANIOSES	
<i>Beatriz Sodré Matos, Priscilla Elias Ferreira Da Silva, Hugo Felix Perini, Thaís Soares Farnesi de Assunção, Lúcio Roberto Cañado Castellano, Marcos Vinícius Da Silva.</i>	
CAPÍTULO 07	121
INTERAÇÃO <i>Toxoplasma gondii</i> E <i>Homo sapiens</i>: AGORA E PARA SEMPRE?	
<i>Anna Victória Bernardes e Borges, Hugo Felix Perini, Lúcio Roberto Cañado Castellano, Marcos Vinícius da Silva.</i>	
CAPÍTULO 08	139
ALTERAÇÕES HEPÁTICAS NA DOENÇA DE CHAGAS EXPERIMENTAL	
<i>Yarlla Loyane Lira Braga, José Rodrigues do Carmo Neto, Mariana Godoy Garcia, Rhanoica Oliveira Guerra, Priscilla Elias Ferreira da Silva, Karen Martins Mendes, Mara Rubia Nunes Celes, Flávia Aparecida de Oliveira, Marlene Antônia dos Reis, Juliana Reis Machado.</i>	

CAPÍTULO 09	154
<i>MICROBIOTA E PARASITISMO INTESTINAL</i>	
<i>Thais Cristina Vilela Rodrigues, Andrei Giacchetto Felice, Eduarda Guimarães Sousa, Marcela Rezende Lemes, Pedro Henrique Marques, Siomar de Castro Soares.</i>	
SOBRE OS ORGANIZADORES	183

PREFÁCIO

A evolução das doenças infecciosas e parasitárias acompanha a própria evolução da humanidade. Ao longo dos séculos, essas infecções afetaram diretamente e indiretamente as sociedades, e dessa forma moldaram o avanço da medicina e da saúde coletiva. Doenças causadas por protozoários, como *Trypanosoma cruzi*, *Toxoplasma gondii* e diferentes espécies de *Leishmania* e *Plasmodium*, continuam tendo imenso impacto na saúde global, sobretudo, para países considerados em desenvolvimento. Entretanto, não se limitam a esses, já que a globalização e o avanço dos meios de transportes levaram essas doenças para os países mais desenvolvidos afetando diferentes regiões do mundo. Este livro, *Atualizações em Doenças Infecto Parasitárias – Fisiopatogênese*, tem como objetivo fornecer uma visão atualizada e abrangente de diferentes doenças causadas por protozoários, assim como pontuar a interação parasito-hospedeiro.

O estudo desses mecanismos, dos aspectos mais gerais até os mais complexos, é essencial para compreender como os parasitas invadem o corpo humano, modulam respostas imunológicas e desencadeiam os processos patológicos envolvidos nas complexas sintomatologias das doenças. Assim, compreender a biologia dos diferentes protozoários abordados aqui auxilia no avanço e desenvolvimento de novas vacinas, terapias e até estratégias de controle. Além desses pontos, o livro foi construído para atender as necessidades de profissionais de saúde, pesquisadores e alunos que se dedicam ao estudo da interação entre hospedeiros e parasitas ou buscam conhecimento nesta área do conhecimento.

Esperamos, assim, que o livro possa contribuir como uma ferramenta de consulta às novas gerações interessadas no tema e que possa fornecer subsídios que reforcem o imprescindível papel na saúde.

Lúcio Roberto Caçado Castellano

Marcos Vinícius da Silva

Organizadores da Obra

CAPÍTULO 1

ATUALIDADES ACERCA DO CICLO DE VIDA DO *Plasmodium* NO HOSPEDEIRO VERTEBRADO E INTERAÇÕES COM CÉLULAS HEPÁTICAS E SANGUÍNEAS

Wesley Guimarães Bovi¹
Rafael Obata Trevisan¹
Chamberttan Souza Desidério²
Gabriela Terra Silva³
Malú Mateus Santos Obata¹
Hugo Felix Perini⁴
Lúcio Roberto Cançado Castellano⁵
Marcos Vinícius da Silva⁶

¹Doutorando em Medicina Tropical e Infectologia, Área de concentração Parasitologia e Imunologia Aplicadas – Universidade Federal do Triângulo Mineiro - UFTM.

²Estágio Pós-doutoral em Medicina Tropical e Infectologia – Universidade Federal do Triângulo Mineiro – UFTM.

³Graduanda do curso de Biomedicina da Universidade Federal do Triângulo Mineiro - UFTM.

⁴Estágio Pós-doutoral em Ciências da saúde – Universidade Federal do Triângulo Mineiro – UFTM.

⁵Professor efetivo da Escola Técnica de Saúde - Universidade Federal da Paraíba - UFPB.

⁶Professor efetivo do Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia. Universidade Federal do Triângulo Mineiro- UFTM.

RESUMO

O ciclo de vida de *Plasmodium* spp. envolve uma complexa interação com seus hospedeiros até o desenvolvimento da malária. Nesse capítulo, abordamos a relação desse parasito com o hospedeiro humano desde o momento da transmissão pelo vetor, até a colonização de eritrócitos. Após de mover até a corrente sanguínea, o tropismo por células hepáticas faz com que os esporozoítos de *Plasmodium* spp. cheguem ao fígado. Após proliferação, milhares de merozoítos recém-formados contidos nos vacúolos parasitóforo serão liberados na corrente sanguínea. A invasão dos eritrócitos pelo merozoíto é um processo bem orquestrado, mediado pela interação do ligante do merozoíto com proteínas das RBCs através de várias etapas distintas, as quais incluem, o contato inicial, a reorientação apical, a formação de junção oclusiva e invasão ativa. A interação com o sistema do humano envolve a adaptação a diferentes nichos e a regulação fina de fatores de interação e evasão do sistema imune. Aqui abordamos esses fatores em detalhes com o objetivo da compreensão do evento de infecção e colonização por *Plasmodium* spp.

Palavras-chave: Malária, parasito, infecção, doença.

1. CICLO DE VIDA NO HOSPEDEIRO VERTEBRADO

Em 1880, Alphonse Laveran descreveu o ciclo da Malária pela primeira vez. O ciclo de vida descrito pelo autor representou o desenvolvimento de *Plasmodium* spp., que ainda nos dias atuais, apresenta alta complexidade e é cercado de interações entre o parasito e seus hospedeiros vertebrado e invertebrado (1). Neste capítulo iremos abordar as interações entre o parasito e o hospedeiro vertebrado, em todos os momentos do seu ciclo de vida neste hospedeiro. Abordaremos inicialmente todas as etapas que compõem o ciclo biológico deste parasito, do momento da entrada sob a derme durante o repasto sanguíneo, até o momento em que os gametócitos são ingeridos pelo hospedeiro invertebrado. Nestes processos de migração, invasão celular, proliferação, inúmeras moléculas do parasito serão fundamentais na interação com o hospedeiro humano, para que o parasito consiga executar cada etapa do seu ciclo de vida e, simultaneamente, escapar da resposta imunológica do hospedeiro (2).

De forma geral, considera-se o início do ciclo de vida do *Plasmodium* no humano quando, o anofelino (*Anopheles* sp.) faz a inoculação de esporozoítos na derme durante o repasto sanguíneo (Fig. 1). Neste estágio dermal, os esporozoítos irão migrar da derme para o fígado, no entanto, este processo não é imediato, sendo demonstrado experimentalmente que os esporozoítos podem ficar por muito tempo no local da inoculação, movendo-se de forma aparentemente aleatória e migrando e invadindo células ativamente até encontrar vasos sanguíneos e entrar na corrente sanguínea (3). Entretanto, nem todos os esporozoítos inoculados atingem a corrente sanguínea ou o fígado. Alguns podem permanecer na pele no local da inoculação e serem eliminados por células fagocíticas, enquanto outros entram no sistema linfático e atingem os linfonodos de drenagem, onde são finalmente degradados (4).

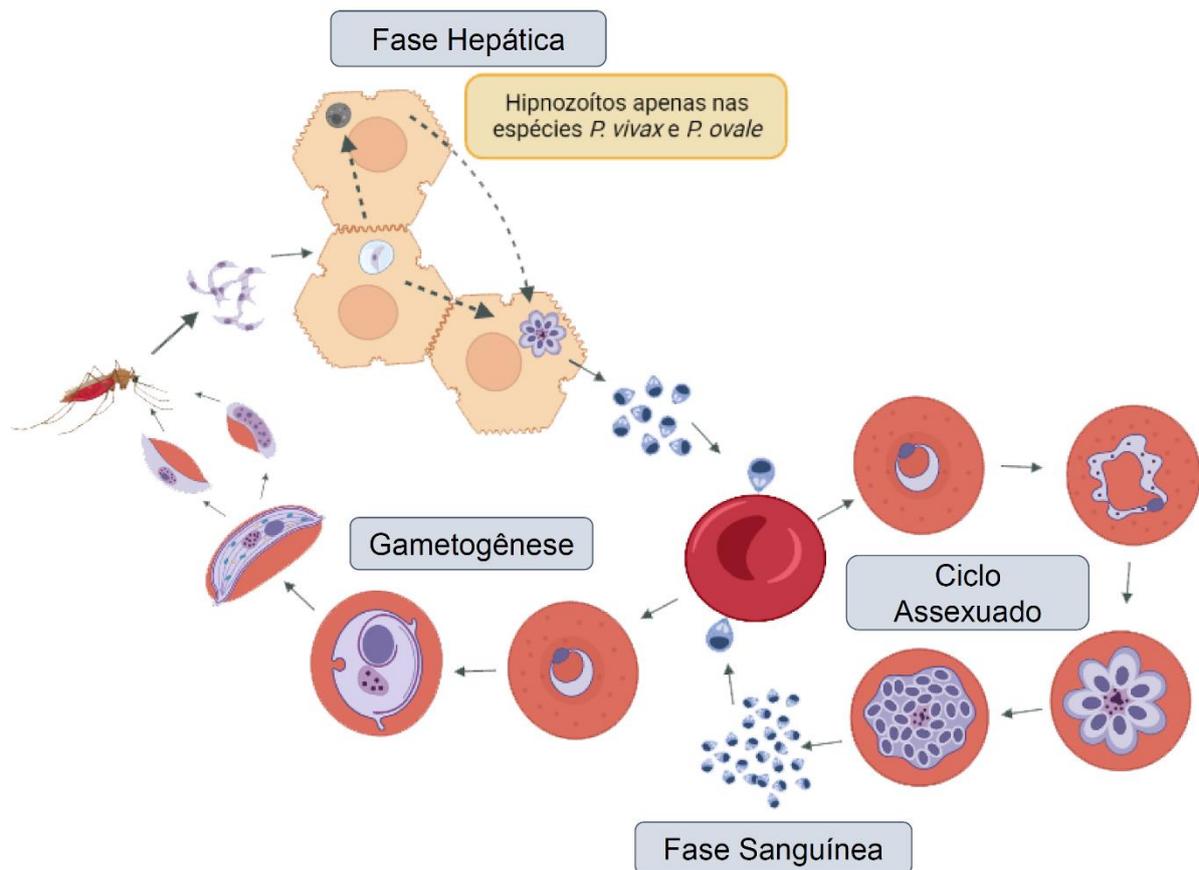
Após a inoculação na pele, os esporozoítos usam o movimento de deslizamento para migrar através da pele para os vasos sanguíneos cutâneos. Uma vez no sistema circulatório, os esporozoítos atingem rapidamente os sinusoides do fígado. O tropismo pronunciado dos esporozoítos para os hepatócitos sugere a ocorrência de interações específicas entre as proteínas de

superfície do *Plasmodium* e as moléculas do hospedeiro. Os proteoglicanos de heparan sulfato (HSPGs) dos hepatócitos demonstraram desempenhar um papel fundamental nesses processos através de sua interação com a proteína circunsporozoíta (CSP), a principal proteína de superfície dos esporozoítos. Em seu caminho para o fígado, os esporozoítos podem passar por vários tipos de células: células da pele próximas ao local da inoculação, células endoteliais que revestem os vasos sanguíneos e células de Kupffer dentro dos sinusoides do fígado. Além disso, os esporozoítos atravessam vários hepatócitos dentro do fígado antes de invadir produtivamente o último hepatócito para formar um vacúolo parasitoide (5). Após a invasão produtiva, os esporozoítos do parasita da malária se desenvolvem e proliferam em milhares de merozoítos recém-formados contidos nos vacúolos parasitóforo até serem liberados na corrente sanguínea. No final do processo de desenvolvimento no fígado, o parasita da malária se diferencia em merozoítos contidos em vesículas derivadas de células hospedeiras chamadas merossomas (6). Embora muito similar, os ciclos de vida das quatro principais espécies de *Plasmodium* que infectam o homem, apresentam algumas diferenças entre si, um exemplo disso é a formação de hipnozoítos durante a fase hepática do ciclo, que ocorre apenas nas espécies *P. ovale* e *P. vivax*, que se trata de uma forma parasitária latente, que fica alojada nos hepatócitos sendo responsáveis por reativar o ciclo no hospedeiro e conseqüentemente a volta da doença (7).

O contato inicial entre merozoítos e eritrócitos é uma etapa crítica, pois o parasita precisa distinguir entre eritrócitos aptos para invasão e outros tipos de células. A fixação inicial de merozoítos pode ocorrer em qualquer lugar da superfície parasitária. Então reorientação apical ocorre, um evento onde a membrana eritrocitária parece curvar-se envolta do merozoíto. O objetivo deste evento é posicionar o ápice dos merozoítos justaposto à membrana dos glóbulos vermelhos. Para entrar na célula, as chamadas junções oclusivas são formadas entre o parasita e a membrana do hospedeiro. Uma série de eventos impulsionados pelo motor actina-miosina do parasita transloca o merozoíto pelas junções oclusivas para o interior da hemácia (8). Um dos eventos mais proeminentes é a remoção ou "descascamento" do revestimento que cobre a superfície do merozoíto. À medida que a junção oclusiva se move em direção à extremidade posterior, ela deve remover os ligantes que medeiam o processo de

invasão. Quando um parasito invade uma célula hospedeira, ele cria um vacúolo parasitóforo para se isolar do citoplasma da célula hospedeira e criar um ambiente favorável ao seu desenvolvimento (9).

Uma vez que a invasão está completa, os merozoítos se transformam em um trofozoíto jovem, tomando a forma de um anel, iniciando a fase assexual do ciclo sanguíneo da malária. A expansão desse trofozoíto é acompanhada por alta atividade metabólica envolvendo a absorção e utilização de grandes quantidades de glicose, captação de componentes do citoplasma da célula hospedeira e proteólise da fração globina da hemoglobina. Os parasitas não conseguem degradar a fração heme que é tóxica para os parasitas, portanto, eles a polimerizam em um composto chamado hemozoína (10). Durante este período, muitos estágios de reprodução parasitária ocorrem, no entanto, sem citocinese, levando à formação de esquizontes. Cada esquizonte hospeda aproximadamente 20 merozoítos. Os merozoítos são liberados após a ruptura dos glóbulos vermelhos e estão aptos a invadirem novos glóbulos vermelhos (11). Uma pequena fração dos merozoítos acabará por iniciar a gametocitogênese, e se diferenciarão em micro e macro gametócitos (masculino e feminino, respectivamente), que não interferem no ciclo do hospedeiro vertebrado, mas são essenciais na continuidade da espécie, já que são os gametas que os mosquitos *Anopheles* se infectam durante o repasto sanguíneo (12).

Figura 1 - Ciclo de vida do *Plasmodium spp* no hospedeiro vertebrado

Fonte: Adaptado de Doerig, 2015 (13). Esta figura é derivada de imagens atribuídas à "Biorender app", usada sob os termos de licença Creative Commons Attribution 3.0 France (CC BY 3.0 FR).

2. INTERAÇÃO COM CÉLULAS HEPÁTICAS

Quando inoculados em um hospedeiro vertebrado, os esporozoítos entram em contato e proliferam dentro dos hepatócitos. Diversas moléculas controlam essa interação, e há muita especulação sobre sua importância na manutenção da circulação hepática.

O estágio invasivo dos parasitas como *P. falciparum* e outros parasitos do grupo Apicomplexa - células polarizadas caracterizadas por organelas secretoras apicais especializadas chamadas micronemas e rôptrias - envolve a secreção controlada de componentes para a migração ativa e posterior invasão da célula hospedeira; as funções dessas organelas e as vias de sinalização envolvidas em sua secreção têm sido extensivamente estudadas, particularmente em merozoítos de estágio sanguíneo de parasitos *Plasmodium*

e seus taquizoítos de *Toxoplasma* (14). No entanto, em contraste com esses estágios que invadem rapidamente as células, os esporozoítos migram extensivamente até o parênquima hepático, antes de finalmente se envolverem na invasão das células hospedeiras (15).

A migração de esporozoítos do local de inoculação na pele para seu local final no fígado requer o cruzamento de múltiplas barreiras celulares, incluindo fibroblastos da pele, células endoteliais, células endoteliais sinusoidais hepáticas (LSECs) e células de Kupffer (KCs) (16). Enquanto os KCs atuam como um portal essencial para esporozoítos no fígado, estudos demonstraram que os esporozoítos podem migrar através de KCs/LSECs ou usar uma rota paracelular para alcançar os hepatócitos subjacentes (16, 17)

Os esporozoítos podem romper a membrana plasmática da célula ao entrar ou formar primeiro vacúolos transitórios (TVs) e então, romperão a membrana do vacúolo antes de sair da célula (18). A invasão produtiva é caracterizada pela formação de um compartimento especializado ligado à membrana, o vacúolo parasitóforo (PV), dentro do qual o parasita se replica em milhares de merozoítos invasivos de eritrócitos (19). Por analogia com outros estágios invasivos de apicomplexo, os esporozoítos presumivelmente formam seu PV invadindo as células através de uma chamada junção móvel (MJ) (20, 21). Essa junção é formada próxima da célula hospedeira e das membranas do parasita, e resolve-se como um anel através do qual o parasita penetra ativamente dentro de uma invaginação da membrana plasmática da célula hospedeira, levando à formação do PV (22, 23).

É importante ressaltar que, apesar das evidências indiretas sugerirem que os esporozoítos de *Plasmodium* spp. entram nas células através de MJ, esses eventos provaram ser difíceis de capturar por diferentes ensaios, portanto, a natureza molecular do MJ do esporozoítos permanece imprecisa (24-26).

Durante a internalização do parasito, a membrana do vacúolo parasitóforo (PVM) é remodelada, com exclusão seletiva de algumas proteínas da membrana do hospedeiro, resultando na formação de um compartimento não fusogênico dentro do qual o parasito se desenvolve com segurança nos estágios hepáticos (18). O PVM é ainda remodelado após a invasão com a integração de proteínas derivadas do parasito, desempenhando um papel importante no desenvolvimento do estágio hepático (27).

Dessa forma, os esporozoítos de *Plasmodium* são depositados na derme do hospedeiro mamífero pela picada de um mosquito anofelino infectado, atravessam fibroblastos dérmicos e células endoteliais, entram na circulação sanguínea e transitam para o fígado. Os esporozoítos são sequestrados nos sinusoides hepáticos através de interações entre a proteína circunsporozoíta e os proteoglicanos heparan sulfato e, em seguida, atravessam a barreira celular sinusoidal através das células endoteliais sinusoidais hepáticas ou células de Kupffer (15). No parênquima hepático, os esporozoítos atravessam vários hepatócitos, às vezes dentro de um vacúolo transitório, antes de mudar para a invasão produtiva de um hepatócito final com formação do vacúolo parasitóforo PV. Dentro do vacúolo, o parasito se desenvolve em uma forma exoeritrocítica replicativa (15).

3. PROCESSO DE INVASÃO DOS ERITRÓCITOS

A invasão dos eritrócitos (RBC) pelo merozoíto de *P. falciparum* é um processo bem orquestrado, mediado pela interação do ligante do merozoíto com proteínas das RBCs através de várias etapas distintas, as quais incluem, o contato inicial, a reorientação apical, a formação de junção oclusiva (TJ) e invasão ativa (28).

O contato inicial é um passo crucial, o qual envolve o merozoíto passar uma membrana da RBC, através de interações não específicas, reversíveis e de baixa afinidade, levando a uma discreta deformação da superfície de RBC, aumentando a área de contato com o merozoíto. A interação inicial é mediada pelas proteínas de superfície Mrz 1 a 10 (MSP-1 a MSP-10), a maioria delas graças à sua localização estão expostas ao sistema imunológico do hospedeiro, portanto possuem sequências altamente variáveis; suas regiões conservadas são cruciais a fim de estabelecer interações iniciais com células hospedeiras (29, 30).

As proteínas MSP-1, MSP-2, MSP-4, MSP-8 e MSP-10 são ligadas à membrana dos merozoítos através de âncoras de glicosilfosfatidilinositol (GPI) (31). Já as proteínas MSP-3, MSP-6, MSP-7 e MSP-9 são solúveis e fracamente ligadas à superfície do merozoíto ou associadas com outras proteínas de membrana, formando complexos moleculares de alto peso com um grau

complexo de interação entre eles (20, 29). Essas proteínas são processadas durante a invasão da célula hospedeira; os fragmentos de GPI ancorados à membrana dos merozoítos são os únicos que penetram nas hemácias (28).

MSP-1 é a proteína de superfície merozoítos mais abundante; esta proteína é o ligante mais importante envolvido no contato inicial da célula hospedeira. Sofre processamento proteolítico quando 8 a 24 merozoítos são liberados durante a ruptura do esquizonte (32). Alguns fragmentos, mais especificamente MSP-1₄₂ e MSP-1₃₃ se ligam a moléculas semelhantes à heparina, localizadas na superfície das hemácias. Essas moléculas estão envolvidas em diferentes processos biológicos, como proliferação celular, angiogênese, modulação do sistema imunológico, migração celular e invasão celular (33).

Outra proteína relacionada com o contato inicial é Glicoforina A (GYPA); é uma proteína transmembrana e uma das mais abundantes na membrana da RBC. GYPA foi descrita entre os principais determinantes antigênicos para grupos sanguíneos e está envolvida com a interação das RBCs com o endotélio vascular (34).

Ainda sobre o contato inicial, têm-se também a proteína Band 3. Essa glicoproteína está presente em 25% da membrana das RBCs e é um receptor essencial nas vias de invasão independentes de ácido siálico de *P. falciparum* (35). Band 3 está associada ao GPA através de suas oito hélices transmembranares, formando uma proteína dupla, essa associação pode aumentar a probabilidade de adesão dos ligantes do parasito envolvido no contato com as células hospedeiras. Todos os itens acima indicam um papel importante para a formação do complexo MSP-1-band 3/GPA durante a fase inicial de adesão da invasão de RBC por *P. falciparum* (28).

Após o contato inicial se faz preciso fazer a reorientação apical; os merozoítos se reorientam, colocando seus polos apicais em contato com a membrana eritrocitária, estabelecendo interações específicas e de alta afinidade de ligação mediadas por ligantes das famílias erythrocyte-binding like (EBL) ou da família reticulocyte-binding protein (PfRh), criando uma forte deformação da membrana RBC (30). Os membros da família EBL são proteínas transmembrana tipo 1 localizadas nos micronemas do polo apical do merozoíto; essas proteínas

são importantes para a invasão das RBCs e se ligam a eritrócitos de maneira dependente de ácido siálico (20, 36).

A família RH compreende *PfRH1*, *PfRH2a*, *PfRH2b*, *PfRH3*, *PfRH4* e *PfRH5*, no entanto, *PfRH3* tem mutações que ocorrem no sentido contrário e é um pseudogene que é transcrito, porém, não traduzido durante qualquer uma das fases do ciclo de vida do parasito (37). Dessa forma, é sugerido que todas essas proteínas trabalham juntas e tem suas funções combinadas (30). Para compreendermos com maior facilidade o processo de reorientação apical, apresentaremos algumas proteínas diretamente envolvidas nesse processo:

EBA-175 – GYPA: O EBA-175 liga-se ao GYPA; tal ligação é facilitada por RII altamente conservado formado pelas regiões F1 ricas em Cys (resíduos 8-282) e F2 (resíduos 297-603) (38).

EBA-140 – Glicoforina C: EBA-140 (BAEBL ou *PfEBP-2*) é um parálogo EBA-175, ou seja, compartilha homologia estrutural em relação aos domínios *Duffy binding protein* (DBL) incluindo RII dentro de seus domínios homólogos F1 e F2 (38).

EBA-181: EBA-181 é codificado no cromossomo 1 do *P. falciparum*. Sua estrutura primária consiste em uma região hidrofóbica N-terminal com duas regiões ricas em Cys (F1-F2) no domínio extracelular e um domínio rico em Cys na região C-terminal, um domínio transmembranar curto e cauda citoplasmática. Esta proteína é estruturalmente semelhante a EBA-175 (25,3%) e EBA-140 (24,6%), especialmente no domínio F1-F2 (39).

EBL-1 – Glicoforina B: EBL-1 foi o segundo membro da família EBL a ser identificado, com base na homologia de sequência. É expresso durante o estágio final de esquizonte como uma proteína inacabada devido a mutações missense; possui dois domínios ricos em Cys no domínio DBL da região N terminal (D2), incluindo os subdomínios F1 e F2, e um domínio Cys adjacente à região transmembranar C-terminal (40, 41).

MAEBL: MAEBL é uma proteína de membrana expressa em róprias e micronemas dos merozoítos. É considerada uma proteína anômala na família EBL devido ao seu domínio rico em Cys que se assemelha a resíduos com antígeno de membrana apical-1 (AMA1) em vez de um domínio DBL. O receptor MAEBL na membrana RBC ainda não foi identificado; no entanto, foi descrito que AMA-1 tem alta capacidade de ligação de RBC(42, 43).

PfRH1: *PfRH1* é expresso nas róprias. Sofre processamento proteolítico durante a invasão, sendo clivados dois fragmentos; ambos estão localizados no TJ e estão envolvidos na formação do anel parasitário (44).

PfRH2a e PfRH2b: *PfRH2a* e *PfRH2b* estão localizados no pescoço da rópria sendo codificados por dois genes contíguos no cromossomo 13, compartilhando forte similaridade de sequência, mas sendo divergentes no último C-terminal, que determinam suas diferentes funções de ligação durante a invasão do merozoíto (45).

PfRH4: A *PfRH4* interage com o receptor 1 do complemento (CR1) durante a invasão; CR1 é uma proteína imunorreguladora na membrana de RBC e leucócitos. Está envolvido na ativação do sistema complemento e na eliminação de complexos imunes (46),

PfRH5: A estrutura cristalina do *PfRH5* determinou que ele se liga ao receptor BSG tipo 2 (CD147) pelo extremo C-terminal, onde atua no intuito de diminuir a deformação da membrana RBC. Esta interação foi considerada essencial para a invasão de RBC por múltiplas cepas de *P. falciparum* (47).

PfRipr: *PfRipr* está localizado nos micronemas dos merozoítos sendo liberada durante a invasão de RBC e forma um complexo com *PfRH5* e CyRPA (48); CyRPA é uma proteína localizada em micronemas dos merozoítos (49).

Para que o parasito consiga invadir a célula, é necessário formar a TJ entre o *P. falciparum* e a membrana da célula hospedeira; esta junção irreversível ocorre após em uma série complexa de eventos suportados por interações de alta afinidade envolvendo proteínas do pescoço das róprias (RON 2, 4 e 5). Estes são liberados das róprias e translocadas para a membrana RBC para interagir com AMA-1 redirecionamento do complexo apical (50). A invasão bem-sucedida requer uma miosina de cabeça única aderida à membrana RBC para direcionar os filamentos curtos de actina para transmitir força motriz. Os filamentos de actina são acoplados a invasinas que pertencem à família de proteínas adesivas relacionadas à trombospondina (TRAP). Acredita-se que as proteínas da família TRAP interagem com os receptores do hospedeiro através das regiões extracelulares, ativando assim o motor actina-miosina durante o movimento para frente do parasita (51).

Todos os processos de várias etapas acima ocorrem em cerca de 60 segundos, um período eficiente, mas crítico, porque representa um curto período

no ciclo de vida do parasita quando exposto diretamente ao sistema imunológico de um hospedeiro (28). O parasita entra no RBC por uma junção móvel e está localizado na membrana do vacúolo parasitóforo (PVM); este vacúolo é útil para se isolar do citoplasma de uma célula hospedeira e formar um ambiente propício ao seu desenvolvimento (30), há controvérsia sobre se o PVM é derivado do parasita, do material do hospedeiro ou de ambos, e seu pequeno tamanho representa dificuldades técnicas para o isolamento específico do conteúdo de PV para análise proteômica (28). O parasito permanece em sua forma anelar durante as primeiras 18 horas de seu ciclo de vida, apresentando baixa atividade metabólica e pouca alteração morfológica em relação às células hospedeiras. Então, amadurece em sua forma trofozoíto, onde se torna mais metabolicamente ativo e cresce rapidamente dando continuidade ao seu ciclo de vida (28).

REFERÊNCIAS

1. Garnham PCC. History of Discoveries of Malaria Parasites and of Their Life Cycles. *History and Philosophy of the Life Sciences*. 1988;10(1):93-108.
2. Florens L, Washburn MP, Raine JD, Anthony RM, Grainger M, Haynes JD, et al. A proteomic view of the *Plasmodium falciparum* life cycle. *Nature*. 2002;419(6906):520-6.
3. Yamauchi LM, Coppi A, Snounou G, Sinnis P. *Plasmodium* sporozoites trickle out of the injection site. *Cell Microbiol*. 2007;9(5):1215-22.
4. Amino R, Giovannini D, Thiberge S, Gueirard P, Boisson B, Dubremetz JF, et al. Host cell traversal is important for progression of the malaria parasite through the dermis to the liver. *Cell Host Microbe*. 2008;3(2):88-96.
5. Coppi A, Tewari R, Bishop JR, Bennett BL, Lawrence R, Esko JD, et al. Heparan sulfate proteoglycans provide a signal to *Plasmodium* sporozoites to stop migrating and productively invade host cells. *Cell Host Microbe*. 2007;2(5):316-27.
6. Baer K, Klotz C, Kappe SH, Schnieder T, Frevert U. Release of hepatic *Plasmodium yoelii* merozoites into the pulmonary microvasculature. *PLoS Pathog*. 2007;3(11):e171.
7. Cogswell FB. The hypnozoite and relapse in primate malaria. *Clin Microbiol Rev*. 1992;5(1):26-35.
8. Mitchell GH, Thomas AW, Margos G, Dluzewski AR, Bannister LH. Apical membrane antigen 1, a major malaria vaccine candidate, mediates the close attachment of invasive merozoites to host red blood cells. *Infect Immun*. 2004;72(1):154-8.
9. Cowman AF, Crabb BS. Invasion of red blood cells by malaria parasites. *Cell*. 2006;124(4):755-66.
10. Miller LH, Baruch DI, Marsh K, Doumbo OK. The pathogenic basis of malaria. *Nature*. 2002;415(6872):673-9.
11. Cowman AF, Healer J, Marapana D, Marsh K. Malaria: Biology and Disease. *Cell*. 2016;167(3):610-24.
12. Tuteja R. Malaria - an overview. *FEBS J*. 2007;274(18):4670-9.

13. Doerig C, Rayner JC, Scherf A, Tobin AB. Post-translational protein modifications in malaria parasites. *Nat Rev Microbiol.* 2015;13(3):160-72.
14. Dubois DJ, Soldati-Favre D. Biogenesis and secretion of micronemes in *Toxoplasma gondii*. *Cell Microbiol.* 2019;21(5):e13018.
15. Loubens M, Vincensini L, Fernandes P, Briquet S, Marinach C, Silvie O. *Plasmodium* sporozoites on the move: Switching from cell traversal to productive invasion of hepatocytes. 2021;115(5):870-81.
16. Tavares J, Formaglio P, Thiberge S, Mordelet E, Van Rooijen N, Medvinsky A, et al. Role of host cell traversal by the malaria sporozoite during liver infection. *The Journal of experimental medicine.* 2013;210(5):905-15.
17. Pradel G, Frevert U. Malaria sporozoites actively enter and pass through rat Kupffer cells prior to hepatocyte invasion. *Hepatology (Baltimore, Md).* 2001;33(5):1154-65.
18. Risco-Castillo V, Topçu S, Marinach C, Manzoni G, Bigorgne AE, Briquet S, et al. Malaria Sporozoites Traverse Host Cells within Transient Vacuoles. *Cell Host Microbe.* 2015;18(5):593-603.
19. Frischknecht F, Matuschewski K. *Plasmodium* Sporozoite Biology. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine.* 2017;7(5).
20. Cowman AF, Tonkin CJ, Tham WH, Duraisingh MT. The Molecular Basis of Erythrocyte Invasion by Malaria Parasites. *Cell Host Microbe.* 2017;22(2):232-45.
21. Frénel K, Dubremetz JF, Lebrun M, Soldati-Favre D. Gliding motility powers invasion and egress in Apicomplexa. *Nat Rev Microbiol.* 2017;15(11):645-60.
22. Riglar DT, Richard D, Wilson DW, Boyle MJ, Dekiwadia C, Turnbull L, et al. Super-resolution dissection of coordinated events during malaria parasite invasion of the human erythrocyte. *Cell Host Microbe.* 2011;9(1):9-20.
23. Shen B, Sibley LD. The moving junction, a key portal to host cell invasion by apicomplexan parasites. *Current Opinion in Microbiology.* 2012;15(4):449-55.
24. Bargieri D, Lagal V, Andenmatten N, Tardieux I, Meissner M, Ménard R. Host Cell Invasion by Apicomplexan Parasites: The Junction Conundrum. *PLOS Pathogens.* 2014;10(9):e1004273.
25. Ishino T, Murata E, Tokunaga N, Baba M, Tachibana M, Thongkukiatkul A, et al. Rhoptry neck protein 2 expressed in *Plasmodium* sporozoites plays a crucial role during invasion of mosquito salivary glands. 2019;21(1):e12964.
26. Yang ASP, Lopatnicki S, O'Neill MT, Erickson SM, Douglas DN, Kneteman NM, et al. AMA1 and MAEBL are important for *Plasmodium falciparum* sporozoite infection of the liver. 2017;19(9):e12745.
27. . Mueller A-K, Camargo N, Kaiser K, Andorfer C, Frevert U, Matuschewski K, et al. *Plasmodium* liver stage developmental arrest by depletion of a protein at the parasite-host interface. 2005;102(8):3022-7.
28. Molina-Franky J, Patarroyo ME, Kalkum M, Patarroyo MA. The Cellular and Molecular Interaction Between Erythrocytes and *Plasmodium falciparum* Merozoites. *Frontiers in cellular and infection microbiology.* 2022;12:816574.
29. Beeson JG, Drew DR, Boyle MJ, Feng G, Fowkes FJI, Richards JS. Merozoite surface proteins in red blood cell invasion, immunity and vaccines against malaria. *FEMS Microbiology Reviews.* 2016;40(3):343-72.
30. Weiss GE, Crabb BS, Gilson PR. Overlaying Molecular and Temporal Aspects of Malaria Parasite Invasion. *Trends in parasitology.* 2016;32(4):284-95.
31. Sanders PR, Kats LM, Drew DR, O'Donnell RA, O'Neill M, Maier AG, et al. A set of glycosylphosphatidyl inositol-anchored membrane proteins of *Plasmodium falciparum* is refractory to genetic deletion. *Infect Immun.* 2006;74(7):4330-8.
32. McBride JS, Heidrich HG. Fragments of the polymorphic Mr 185,000 glycoprotein from the surface of isolated *Plasmodium falciparum* merozoites form an antigenic complex. *Molecular and biochemical parasitology.* 1987;23(1):71-84.

33. Boyle MJ, Richards JS, Gilson PR, Chai W, Beeson JG. Interactions with heparin-like molecules during erythrocyte invasion by *Plasmodium falciparum* merozoites. *Blood*. 2010;115(22):4559-68.
34. Tomita M, Marchesi VT. Amino-acid sequence and oligosaccharide attachment sites of human erythrocyte glycophorin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1975;72(8):2964-8.
35. Goel VK, Li X, Chen H, Liu S-C, Chishti AH, Oh SS. Band 3 is a host receptor binding merozoite surface protein 1 during the *Plasmodium falciparum* invasion of erythrocytes. 2003;100(9):5164-9.
36. Tham WH, Healer J, Cowman AF. Erythrocyte and reticulocyte binding-like proteins of *Plasmodium falciparum*. *Trends in parasitology*. 2012;28(1):23-30.
37. Ord RL, Rodriguez M, Lobo CA. Malaria invasion ligand RH5 and its prime candidacy in blood-stage malaria vaccine design. *Human Vaccines & Immunotherapeutics*. 2015;11(6):1465-73.
38. Adams JH, Sim BK, Dolan SA, Fang X, Kaslow DC, Miller LH. A family of erythrocyte binding proteins of malaria parasites. 1992;89(15):7085-9.
39. Gilberger TW, Thompson JK, Triglia T, Good RT, Duraisingh MT, Cowman AF. A novel erythrocyte binding antigen-175 paralogue from *Plasmodium falciparum* defines a new trypsin-resistant receptor on human erythrocytes. *The Journal of biological chemistry*. 2003;278(16):14480-6.
40. Peterson DS, Miller LH, Wellems TE. Isolation of multiple sequences from the *Plasmodium falciparum* genome that encode conserved domains homologous to those in erythrocyte-binding proteins. 1995;92(15):7100-4.
41. Peterson DS, Wellems TE. EBL-1, a putative erythrocyte binding protein of *Plasmodium falciparum*, maps within a favored linkage group in two genetic crosses. *Molecular and biochemical parasitology*. 2000;105(1):105-13.
42. Ghai M, Dutta S, Hall T, Freilich D, Ockenhouse CF. Identification, expression, and functional characterization of MAEBL, a sporozoite and asexual blood stage chimeric erythrocyte-binding protein of *Plasmodium falciparum*. *Molecular and biochemical parasitology*. 2002;123(1):35-45.
43. Rodriguez LE, Ocampo M, Vera R, Puentes A, Lopez R, Garcia J, et al. *Plasmodium falciparum* EBA-140 kDa protein peptides that bind to human red blood cells. *The journal of peptide research : official journal of the American Peptide Society*. 2003;62(4):175-84.
44. Triglia T, Tham W-H, Hodder A, Cowman AF. Reticulocyte binding protein homologues are key adhesins during erythrocyte invasion by *Plasmodium falciparum*. 2009;11(11):1671-87.
45. Dvorin JD, Bei AK, Coleman BI, Duraisingh MT. Functional diversification between two related *Plasmodium falciparum* merozoite invasion ligands is determined by changes in the cytoplasmic domain. *Molecular microbiology*. 2010;75(4):990-1006.
46. Tham W-H, Wilson DW, Lopaticki S, Schmidt CQ, Tetteh-Quarcoo PB, Barlow PN, et al. Complement receptor 1 is the host erythrocyte receptor for *Plasmodium falciparum* PfRh4 invasion ligand. 2010;107(40):17327-32.
47. Volz JC, Yap A, Sisquella X, Thompson JK, Lim NT, Whitehead LW, et al. Essential Role of the PfRh5/PfRipr/CyRPA Complex during *Plasmodium falciparum* Invasion of Erythrocytes. *Cell Host Microbe*. 2016;20(1):60-71.
48. Reddy KS, Amlabu E, Pandey AK, Mitra P, Chauhan VS, Gaur D. Multiprotein complex between the GPI-anchored CyRPA with PfRH5 and PfRipr is crucial for *Plasmodium falciparum* erythrocyte invasion. 2015;112(4):1179-84.
49. Ragotte RJ, Higgins MK, Draper SJ. The RH5-CyRPA-Ripr Complex as a Malaria Vaccine Target. *Trends in parasitology*. 2020;36(6):545-59.
50. Alexander DL, Arastu-Kapur S, Dubremetz JF, Boothroyd JC. *Plasmodium falciparum* AMA1 binds a rhoptry neck protein homologous to TgRON4, a

- component of the moving junction in *Toxoplasma gondii*. Eukaryotic cell. 2006;5(7):1169-73.
51. Bartholdson SJ, Bustamante LY, Crosnier C, Johnson S, Lea S, Rayner JC, et al. Semaphorin-7A is an erythrocyte receptor for *P. falciparum* merozoite-specific TRAP homolog, MTRAP. PLoS Pathog. 2012;8(11):e1003031

CAPÍTULO 2

DOENÇA DE CHAGAS: ATUALIZAÇÕES NA RELAÇÃO DO PARASITO COM O HOSPEDEIRO VERTEBRADO

José Rodrigues do Carmo Neto¹
Pablo Igor Ribeiro Franco¹
Thainá Silva Bologna²
Isabella de Oliveira Ferrato de Sousa²
Hugo Felix Perini³
Priscilla Elias Ferreira da Silva⁴
Juliana Reis Machado⁵
Lúcio Roberto Cançado Castellano⁶
Marcos Vinícius da Silva⁷

¹Doutor pelo Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás – UFG.

²Mestranda em Medicina Tropical e Infectologia - Universidade Federal do Triângulo Mineiro – UFTM.

³Estágio Pós-doutoral em Ciências de Saúde - Universidade Federal do Triângulo Mineiro – UFTM.

⁴Doutora em Medicina Tropical e Infectologia - Universidade Federal do Triângulo Mineiro – UFTM.

⁵Professora efetiva do Departamento de Patologia, Genética e Evolução. Universidade Federal do Triângulo Mineiro- UFTM.

⁶Professor efetivo da Escola Técnica de Saúde - Universidade Federal da Paraíba - UFPB

⁷Professor efetivo do Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia. Universidade Federal do Triângulo Mineiro- UFTM.

RESUMO

Trypanosoma cruzi é um protozoário parasita descrito como agente etiológico da doença de Chagas. Seu ciclo de vida é caracterizado como heteroxênico, pois apresenta três fases distintas, necessitando de dois hospedeiros (um vertebrado e um invertebrado) para sua biologia básica. A doença de Chagas é uma doença negligenciada descrita pelo pesquisador brasileiro Carlos Chagas no começo do século XX representando atualmente um problema de saúde pública alarmante. O parasita apresenta uma biologia de infecção e invasão celular que envolve diversas moléculas e estruturas, como proteínas e carboidratos, que atuam ativando uma série de vias e mecanismos intracelulares. No hospedeiro vertebrado qualquer que seja a forma de transmissão, a forma evolutiva tripomastigota necessita penetrar uma célula a fim de cumprir o seu ciclo evolutivo. Com o rompimento celular, tripomastigotas circulantes irão infectar novas células perpetuando o ciclo, e gerando as alterações imunológicas e teciduais no hospedeiro. Nesse contexto, esse capítulo sumariza a relação

intrínseca entre parasito-hospedeiro, bem como os aspectos da infecção e o perfil de resposta imunológica associada.

Palavras-chave: *Trypanosoma cruzi*, Interação parasito-hospedeiro, Patogenia, Imunologia.

1. INTRODUÇÃO

De caráter insidioso, a doença de Chagas, também conhecida como tripanossomíase Americana é causada pelo protozoário flagelado *Trypanosoma cruzi*. Trata-se do único tripanossoma humano que é transmitido por meio da excreta de um vetor invertebrado (1,2). Ao longo do seu ciclo vital, *T. cruzi* assume diferentes formas evolutivas: tripomastigotas (formas infectantes), amastigotas, esferomastigotas e epimastigotas (1,2).

A transmissão é realizada por insetos da ordem Hemiptera, família Reduviidae e subfamília Triatominae. Esses insetos possuem ampla distribuição em diferentes ecótopos naturais de regiões tropicais e subtropicais; sendo conhecidos popularmente no Brasil como barbeiros, chupões, finções, bicudos, chupanças, etc. (2,3). Os vetores de importância médica são: *Triatoma infestans* (Argentina, Bolívia, Brasil, Chile, Paraguai, Uruguai e Peru), *Rhodnius prolixus* (Colômbia, Venezuela e América Central), *Triatoma dimidiata* (Equador e América Central) e *Rhodnius pallescens* (Panamá) (1–3). Roedores, marsupiais e outros mamíferos selvagens podem se comportar como fontes de infecção para os insetos triatomíneos. Assim como os animais domésticos como cães e gatos que também poderão ser fontes de infecção e levar o *T. cruzi* para o ambiente intradomiciliar (2).

É importante ressaltar que a literatura apresenta evidências científicas de transmissão por outras rotas, como por exemplo, transfusão de sangue; transplantes de órgãos; transmissão congênita durante a gravidez ou através do parto; acidentes de laboratório e ainda pelo consumo acidental de alimentos contaminados com resíduos de triatomíneos infectados, nesses casos, surtos em áreas consideradas endêmicas para a doença deverão ser criteriosamente observados (4–8).

A doença de Chagas afeta primariamente pessoas em situações de vulnerabilidade socioeconômica (1,9). Com incidência anual média de 30.000 novos casos nas Américas e 12.000 mortes por ano, a enfermidade, configura-se em um grande problema de saúde pública e social nas Américas. Estima-se que nessas localidades, cerca de 70 milhões de pessoas vivem em áreas de exposição com grandes riscos de se contaminarem com o *Trypanosoma cruzi* (1,10).

De modo geral, os parasitos entram no corpo quando o indivíduo exposto à picada do inseto instintivamente coça o local e introduz as fezes deixadas na região. É sabido que o ato de tocar outros locais que possuam cortes/feridas abertas e regiões das mucosas podem ser portas de entrada para o protozoário (1). Nos casos da picada do triatomíneo, os primeiros sinais visíveis e geralmente característicos da infecção são o chagoma de inoculação (erupção cutânea e nódulos inflamatórios no local da picada do triatomíneo) e o sinal de Romana (edema periocular unilateral e palpebral) (1).

A doença de Chagas apresenta duas fases clínicas: aguda e crônica. Na fase aguda, durante o período que compreende 4 a 8 semanas, observa-se alto número de parasitos circulantes no sangue. Após esse período, a doença passará para a fase crônica com indivíduos assintomáticos ou sintomáticos. Nos assintomáticos, a doença evolui sem a presença de sinais clínicos evidentes e 60% apresentarão a forma indeterminada. Dentre os sintomáticos, com sintomas específicos da doença, 40% poderão apresentar uma das seguintes formas: forma cardíaca (20-30% cardiomiopatias, fenômenos tromboembólicos, anormalidades do ritmo cardíaco, aneurisma apical, insuficiência cardíaca); forma digestiva (10-15% megaesôfago/megacólon e perda do peristaltismo esofágico) ou a forma cardiodigestiva (1-5%) (5,6,11-13). É importante ressaltar que nos casos de ocorrência da forma nervosa, alterações neurológicas, encefalites e meningoencefalites bem como a redução da população neuronal poderão ocorrer. Além dos sinais de entrada do parasito, a doença pode apresentar sintomas comuns na fase aguda, tais como: febre, dores de cabeça, aumento dos gânglios linfáticos, náusea, diarreia, vômito, palidez, dificuldades para respirar, inchaço e dores abdominais ou torácicas (1,5).

O diagnóstico da doença deve-se basear em aspectos clínicos, epidemiológicos e laboratoriais (exames parasitológicos e sorologia específica). Importante ressaltar que na fase aguda da doença, o diagnóstico geralmente é preciso, dado a alta quantidade de parasitos circulantes que podem ser observados no sangue. O padrão ouro consiste na busca e reconhecimento do parasito no sangue. Na fase crônica além da avaliação clínica bem executada, histórico epidemiológico e sorologia deverão ser solicitados, nesses casos utiliza-se técnicas de sorologia que detectem a presença de anticorpos específicos no soro do paciente (1,14).

No que tange ao tratamento da doença, na fase aguda recomenda-se a utilização do Benzonidazol ou Nifurtimox, ambas drogas são eficazes contra o *T. cruzi*. Contudo, é válido ressaltar que a eficácia dessas drogas diminui nos casos crônicos. Ademais, em mulheres grávidas, pessoas com insuficiência renal ou hepática tais drogas são contraindicadas (1,14,15). Nas manifestações cardíacas, digestivas ou neurológicas, tratamentos específicos deverão ser indicados (16,17).

2. CICLO DE VIDA DO *T. cruzi* NO HOSPEDEIRO VERTEBRADO

O ciclo de vida do *T. cruzi* apresenta três formas distintas: (1) a forma tripomastigota metacíclica, encontrada no intestino posterior do triatomíneo, ao fim do desenvolvimento do parasito, no interior da célula do mamífero, imediatamente antes da lise celular e também na corrente sanguínea; (2) a forma amastigota, encontrada no interior das células dos hospedeiros mamíferos e possivelmente também no sangue; e a (3) forma epimastigota, encontrada no tubo digestivo do inseto vetor e também na maior parte das culturas axênicas (18).

A forma tripomastigota sanguínea penetra ativamente em qualquer célula do organismo e diferencia-se na forma amastigota intracelular encurtando seu flagelo e incorporando-o ao seu corpo. É capaz de destruir a membrana do vacúolo parasitóforo e ficar livre no citoplasma da célula. Após um período de 35 horas de latência o parasita começa uma fase de divisão binária que ocorre por vários dias, dependendo da cepa de *T. cruzi*. Em 5 dias há cerca de 500 amastigotas no interior da célula. Começa, então, o processo de diferenciação

de amastigotas em tripomastigotas sanguíneo, que sob esta forma, rompem a célula hospedeira, invadem as células vizinhas ou caem na corrente circulatória dando início ao novo ciclo (1).

O parasito adere-se à membrana da célula hospedeira invadindo-a, formando o vacúolo parasitóforo. Organelas do sistema endolisossomal fundem-se a esse vacúolo liberando seu conteúdo enzimático e tornando o meio do fagolisossoma ácido. Se a forma tripomastigota for opsonizada, ocorre ativação da enzima de membrana NAD(P)H oxidase, ocasionando a formação de radicais de oxigênio e água oxigenada, lesando a membrana do parasito o que leva à sua destruição e digestão. No citoplasma da célula hospedeira o parasito na forma amastigota começa um processo de divisão e, após sucessivas divisões, inicia-se um processo de diferenciação para tripomastigota, que perdura por algumas horas. Esta forma apresenta intenso movimento, ocasionando a ruptura da célula e liberando o parasito no espaço intercelular (18). O *T. cruzi*, *in vivo* e *in vitro*, replica-se de forma intracelular, sendo que, uma vez no hospedeiro, pode infectar várias células nucleadas (19). Portanto trata-se de um parasito intracelular importante e bem-sucedido, devido a sua virulência e capacidade de infectar vários tipos celulares (5).

3. O PROCESSO DE INVASÃO CELULAR

Numerosos estudos têm sido conduzidos no sentido de compreender os mecanismos moleculares que comandam o processo de invasão das células hospedeiras pelo *T. cruzi* (20). Já existem hoje muitas evidências que tornam claro que as interações e posteriores cascatas de sinalização intracelular envolvidas no processo de entrada do parasito envolvem tanto moléculas do parasito quanto da célula hospedeira (21–23). Dessa forma, na Tabela 2, são expostos os componentes principais do parasito e suas respectivas participações no processo de invasão celular.

Uma vez dentro da célula hospedeira, os tripomastigotas passam por um processo de desenvolvimento que culmina na formação de amastigotas replicativas que proliferam em citoplasma da célula hospedeira por 5 a 6 dias até ocupar a maior parte da célula volume. Neste estágio, a divisão amastigota cessa e a diferenciação para tripomastigotas ocorre seguido de ruptura do plasma da

célula hospedeira membrana (24). Amastigotas, prematuramente liberadas das células infectadas ou geradas pela diferenciação em cultura, também podem infectar células (25–28).

Para que a invasão das células do hospedeiro ocorra, ele deve primeiro se fixar na célula alvo (29–31). As tripomastigotas se fixam e invadem a célula através de um mecanismo ativo, que requer gasto de energia do parasito (31,32). Neste ponto a invasão por parte de amastigotas difere, sendo que estas necessitam de uma interação com microfilamentos da célula hospedeira (33,34).

Um dos conceitos mais aceitos em nossa compreensão da biologia das interações iniciais de *T. cruzi*-célula hospedeira é que as formas tripomastigotas infectantes de mamíferos do parasita devem transitar no compartimento lisossomal da célula hospedeira para estabelecer uma infecção intracelular produtiva (35). Entre as estratégias usadas pelo parasito para a invasão das células destaca-se a via lisossomo dependente, onde o cálcio exerce efeito sobre estas organelas, atraindo-as à membrana da célula e ativando processos de sinalização, que estão envolvidos na invasão pelas formas tripomastigotas (36–38), nesse caso, o ambiente de baixo pH dos lisossomos facilita a saída do parasita do vacúolo e a entrega no citosol do hospedeiro, uma etapa crítica no programa de desenvolvimento do *T. cruzi*. Estudos recentes também sugerem que a fusão inicial do lisossomo com parasitas invasores ou recentemente internalizados é fundamental para a retenção celular de parasitas (39).

O mecanismo de invasão da célula do hospedeiro pelo *T. cruzi* é pautado na subversão do mecanismo de reparo da membrana plasmática. Este ocorre a partir de lesões na membrana e envolve receptores que estão localizados na superfície celular. A consequência principal desses eventos reflete diretamente nas vias de sinalização da célula hospedeira, aumentando níveis de cálcio intracelular, promovendo recrutamento de lisossomos para, finalmente, iniciar o processo de internalização parasitária por endocitose (40).

Todavia, existem células que dificultam o processo de invasão do parasita, tais como àquelas sem proteínas de membrana, 1 e 2, associadas ao lisossomo, denominadas LAMP1 e LAMP2. O desequilíbrio da proporção destas afeta diretamente o processo invasivo celular, já que é conhecido o potencial de reparo membranoso de LAMP2. Este fato se correlaciona com o desencadeamento da via de sinalização endocítica, logo, a internalização

parasitária permanece prejudicada. Ainda se sabe que LAMP2 participa da exportação de colesterol para os compartimentos lisossomais, fato este que culmina em um acúmulo dessa molécula na membrana plasmática e, conseqüentemente, origina um ambiente intracelular divergente (40).

Uma molécula envolvida no processo de invasão parasitária na Doença de Chagas, é o fator de crescimento transformador da classe beta, o insigne TGF- β . A importância dessa citocina está relatada em muitos estudos, nos quais ela apresenta propriedades capazes de inibir a capacidade tripanocida de interferon-gama (IFN- γ), além de aumentar a replicação parasitária. Ainda nesse contexto, mais autores ilustram que um tratamento com TGF- β , em ratos infectados com *T. Cruzi*, resultou em parasitemia com menor taxa de sobrevivência (41).

É conhecido há vários anos que as fosfatidilinositol-3-quinases das células hospedeiras (PI3 quinases) desempenham um papel na invasão de células fagocíticas não ocupadas por tripomastigotas de *T. cruzi* (42–47). As tripomastigotas que usam esta via mobilizam PI3-K, levando a um acúmulo de PIP3 (o maior derivado da ação das PI3-K) na membrana da célula, durante a formação do vacúolo parasitóforo (42–47). Em relação à via PI3K/Akt, a ativação de Akt ocorre pela conversão de PIP2 em PIP3 por PI3K no plasma membrana. PIP3 se liga a Akt na membrana plasmática permitindo PDK1 para acessar e fosforilar Akt no resíduo T308, conseqüentemente ativando-o constantemente (41).

Algumas classes moleculares já são descritas como participantes do processo de invasão celular por *T. Cruzi*. É importante ressaltar que as vias endocíticas, das quais estes compostos participam, iniciam-se já com o reconhecimento das moléculas expostas na superfície celular e com o produto a ser internalizado, aqui, neste caso, o parasita (48).

Cerca de 70% dos parasitos se utilizam da via lisossomo independente, sendo que 50% se mantêm inicialmente associados com a membrana do vacúolo parasitóforo e 20% associados com PV e endossomos. Os outros 30% se utilizam da via lisossomo-dependente. Uma interessante observação foi feita mais recentemente, suportando a idéia de que, por qualquer via que o parasito penetre na célula, a associação do PV com os lisossomos ocorrerá, seja na

formação (no caso da via lisossomo-dependente) ou mais tardiamente (na via lisossomo-independente) (47).

A via lisossomo-endossomo, acusada como única participante da invasão de *T. Cruzi* por muito tempo, baseia-se na interação de cargas entre moléculas do parasita e àqueles presentes na membrana celular. Via de regra, após a ligação das moléculas aos receptores, o processo de internalização é iniciado e a carga resultante da interação molécula-receptor é entregue às organelas conhecidas como endossomos precoces. Estes são formados por túbulos unidos a vacúolos, cuja faixa de pH varia entre 6,5 e 6,0, e contêm alguns marcadores moleculares em suas membranas, como as proteínas Rab5 e EEA1 (“antígeno de endossomo precoce”). Posteriormente à triagem e ao transporte vesicular realizados pelos endossomos precoces, o endossomo tardio é formado e há troca do marcador Rab5 por Rab7 e, juntamente, as proteínas LAMP1 e LAMP2 são adquiridas a fim de proteger a organela de enzimas ácidas. Aqui, a faixa de pH varia de 4,5 a 5,0 e existem muitas vesículas, uma vez que o endossomo tardio se funde ao lisossomo. Há registros em trabalhos de que 50% dos tripomastigotas de *T. Cruzi*, ou mais, lançam mão da protusão da membrana plasmática (PM) da célula hospedeira durante a formação do vacúolo parasitóforo (PV). No estudo realizado, foi apontado que este PV é enriquecido com produtos da PI 3-quinase, fato tido como negativo para àqueles marcadores lisossômicos - 20% dos vacúolos contendo *T. cruzi* foram positivos para EEA1 e Rab 5, e aproximadamente 20% foram positivos para LAMP1. Estes citados anteriormente, fundem-se com o PM em uma via cálcio-dependente, posteriormente descoberta como responsável por 50% do processo de internalização parasitária (48).

Tabela 1 - Componentes envolvidos nos processos de adesão, reconhecimento, invasão e evasão celular de acordo com as formas de desenvolvimento de *T. cruzi*: interação parasito-hospedeiro vertebrado.

Componentes do protozoário	Forma de desenvolvimento	Participação	Referências
Glicoproteína 82	Tripomastigotas (sanguíneos ou metacíclicos)	Adesão, reconhecimento e invasão celular	(49–51)
Glicoproteína 30	Tripomastigotas metacíclicos	Adesão e reconhecimento	(52)
Glicoproteína 35/50	Tripomastigotas metacíclicos	Invasão celular	(53,54)
Glicoproteína 90	Tripomastigotas metacíclicos	Invasão celular	(55–57)
SAP	Tripomastigotas metacíclicos	Adesão, reconhecimento e invasão celular	(58,59)
TcSMP	Tripomastigotas metacíclicos	Adesão, reconhecimento e invasão celular	(60)
Prolil-oligopeptidase/Tc80	Tripomastigotas sanguíneos ou de cultura de células	Invasão celular	(61)
TS e iTS	Tripomastigotas sanguíneos ou de cultura de células	Invasão celular	(62–64)
Tc85	Tripomastigotas sanguíneos ou de cultura de células	Adesão e invasão celular	(65,66)
TSSA	Tripomastigotas sanguíneos ou de cultura de células	Adesão celular	(67,68)
TcOPB	Tripomastigotas sanguíneos ou de cultura de células	Adesão celular	(69,70)
TC-TOX	Amastigotas	Rompimento do vacúolo parasitóforo	(71)
Neuraminidase/transsi-alidade (TS)	Amastigotas	Mecanismo de escape Rompimento do vacúolo parasitóforo	(71)
Proteína de superfície específica do estágio 4 (Ssp-4)	Amastigotas	Mecanismo de escape Invasão celular	(72)
Amastin	Amastigotas	Inibição de invasão celular	(73)
P21	Amastigotas	Fagocitose e remodelação de citoesqueleto de actina	(74,75)
TcMVK	Amastigotas	Remodelação de citoesqueleto de	(76)
Cruzipaína	Todas as formas de desenvolvimento	Invasão celular e desenvolvimento intracelular	(77)

Fonte: Autoria própria

4. INTERAÇÃO DO *Trypanosoma cruzi* COM O SISTEMA IMUNE E PATOGENIA

A resposta imune na doença de Chagas ocorre principalmente em três níveis, a fim de controlar a infecção: detecção e destruição dos parasitos diretamente, particularmente por macrófagos e células dendríticas; ativação de células dendríticas e macrófagos no intuito de potencializar suas funções como apresentadores de antígenos, e desta forma, direcionar uma resposta imune adaptativa eficiente; e por último, monitorando a infecção de células não-fagocíticas, que são o alvo primário da infecção por *T.cruzi*. A interação do parasito com o sistema imune do hospedeiro vertebrado é bastante complexa e engloba diversos componentes, tanto para o controle do protozoário quanto para a progressão da DC. Dessa forma, destacamos os principais pontos dessa interação e como adicional, consta, na Tabela 1, alguns dos principais componentes e suas funções.

A imunidade inata fornece a primeira linha de defesa por detecção do tipo de agente infeccioso através do teste padrão de reconhecimento de receptores, incluindo receptores toll-like (TLRs). Estes receptores reconhecem múltiplos testes padrões microbianos e são importantes para iniciar eventos necessários para ativar o sistema imune adaptativo. Foi observado que a estimulação da maioria de TLRs conduz a diferenciação de Th1 ou Th2, com prevalência de Th1 na doença de Chagas (78).

Como prova da importância desses receptores na defesa do hospedeiro contra *T. cruzi*, temos achados na literatura que camundongos deficientes de moléculas adaptadoras TLR e IL-1R MyD88 tiveram produção enfraquecida de citocinas inflamatórias, junto com a parasitemia e a mortalidade aumentadas (79). Outro papel importante da imunidade inata na doença de chagas seria a ativação de componentes como células NK (80,81) e macrófagos (82), bem como uma ativação policlonal de células T (83,84). A ativação de NFκB, a fosforilação das MAPKs, e a indução de genes codificadores de moléculas pró-inflamatórias são marcas registradas desta ativação, tanto em eventos iniciais quanto na fase crônica da infecção por *T. cruzi* (85–92).

Além de células da imunidade inata cardiomiocitos são integradas ativamente na resposta inflamatória durante a infecção por *T. cruzi* liberando NO,

citocinas e quimiocinas, que por sua vez, puderam atrair leucócito ao local inflamatório e controlar a replicação intracelular do parasita. Foi mostrado que o tecido do cardíaco expressa citocinas como IL-6, IL-1 β , TNF- α , e iNOS e mRNA e citocinas pro-inflamatórias (93).

Os mecanismos exatos que estão envolvidos na ativação destas vias pró-inflamatórias ainda não estão completamente elucidados, porém, algumas moléculas do parasito são associadas com esta indução. Entre as principais estão as âncoras-GPI (glicosilfosfaditilinositol) livres, glicoproteínas e mucinas relacionadas à GPI, e trans-sialidades (TS) (94,95). Já foi demonstrado que a capacidade das âncoras-GPI de ativarem macrófagos é muito potente, sendo capaz de induzir grandes quantidades de TNF- α e IL-12 e de Óxido Nítrico (96). O DNA do *T.cruzi* também é capaz de induzir resposta inflamatória, estimulando macrófagos e células dendríticas a produzir IL-12 (97). As células T compreendem a grande maioria das células no infiltrado inflamatório de pacientes chagásicos são prováveis que as células T são as principais controladoras da reatividade imune nesta doença (98).

No que diz respeito à ativação de célula T paciente chagásico crônica, mostrou-se que indivíduos com a forma indeterminada ou severa da doença de Chagas indiquem uma alta freqüência de circulação de células T CD4+ e CD8+ com ausência de molécula CD28 de superfície (99). As células T ativadas, particularmente a subpopulação de célula T CD8+, foram também encontradas no infiltrado inflamatório das lesões (98). CARDONI *et al.*,(1999) avaliaram a cinética das células NK e a produção de IL-12 e IFN- γ pelas células do baço de camundongos, infectados experimentalmente com cepas de *T.cruzi* (100). Afirmaram que o efeito central do IFN- γ *in vivo* seria a geração do óxido nítrico, que participa da destruição intracelular dos parasitas. Observaram que durante toda a fase aguda houve um aumento na produção IL-12 e IFN- γ pelas células esplênicas, devido ao aumento da atividade das células NK (100). Concluíram que a resposta global na fase aguda foi, predominantemente, do tipo Th1 nas diferentes cepas de camundongos e que os fatores que controlam essa resposta protetora são de importância primária para determinar a resistência à infecção ou o dano tissular (100). Assim como MANTOVANI, 2004 chegaram às mesmas conclusões que o perfil Th1 representado principalmente pelas citocinas inflamatórias IFN- γ e TNF- α , ativam macrófagos (101), assim como o próprio

parasito pode ativar resultando em um padrão caracterizado pela produção elevada de agentes antimicrobicidas como o óxido nítrico (NO) e as espécies reativas do oxigênio. Assim, parece claro que a ativação clássica dos macrófagos por citocinas pro-inflamatórias exercem um papel fundamental no controle da parasitemia e mortalidade na fase aguda da infecção por *T. cruzi* (102–104).

Usando um painel de anticorpos monoclonais e policlonais, REIS *et al.*, (1993), caracterizaram imunohistoquimicamente as células inflamatórias em corações de pacientes com cardiopatia chagásica crônica; demonstraram que o tipo de célula dominante nas lesões inflamatórias era linfócito T CD8 muitos dos quais expressavam granzyme A, as células B e macrófagos (98). Granzyme A é um mediador solúvel presente nos lisossomos dos linfócitos T citotóxicos e penetram nos poros da membrana das células, degradando substâncias no interior dessas e ativando o processo de apoptose. Encontraram ainda poucos macrófagos que expressavam TNF- α e poucas células NK e linfócitos B nas lesões. Concluíram que a demonstração de linfócitos granzyme A⁺ nas lesões cardíacas dos chagásicos cardiopatas gerava fortes evidências para o envolvimento de eventos citotóxicos na destruição dos tecidos miocárdicos, enfatizando a grande participação das células T CD8⁺ na doença de Chagas humana (98).

Foi sugerido que indivíduo com doença na forma severa tenha uma tendência a produzir mais IFN- γ comparado com os pacientes indeterminados sob estimulação com antígenos do parasita (105) e que clones de células T derivadas dos corações de pacientes cardíacos produza predominante IFN- γ (106). Uma correlação entre níveis de TNF- α e a ocorrência das formas graves da doença tem sido também estabelecida (107). Logo após este controle inicial da parasitemia e do parasitismo tecidual, a miocardite, bem como a ativação policlonal de linfócitos, são atenuados durante a fase crônica da doença. Mecanismos imunoreguladores entram em cena, controlando atividade do sistema imune, fator necessário para prevenção dos aspectos deletérios da estimulação imunológica excessiva (HUNTER *et al.*, 2007). A diminuição da proliferação das células T está correlacionada com ativação de macrófagos, produção de NO e produção ineficiente de IL-12 (108).

Neste período de imunoregulação as prostaglandinas e o óxido nítrico parecem ter um importante papel, uma vez que a interferência em seus níveis, diminuindo-os, está correlacionada com a restauração da resposta proliferativa dos linfócitos contra antígenos parasitários e uma aumentada produção de moléculas pró-inflamatórias (109). Outro importante aspecto imunoregulador na resposta anti-*T. cruzi* é a indução de apoptose de células B e T (110–113).

Citocinas imunoregulatórias, como TGF- β , IL-4 e IL-10, também têm importante papel no controle da resposta imune durante a infecção com *T. cruzi* e modelos experimentais reforçam a importância destas citocinas. Por exemplo, camundongos deficientes de IL-10 exibem uma forte resposta inflamatória e embora controlem bem o parasitismo, sucumbem perante uma resposta inflamatória exacerbada (114). A depleção de IL-12 tem um efeito retardante na morte destes animais (114), reforçando o papel deletério da resposta inflamatória exagerada. No caso da IL-4, animais que são deficientes nesta citocina mostram uma clara polarização Th1, cursando desta forma com um parasitismo reduzido e com intensa miocardite, porém, a IL-4 demonstra ter um papel menor na regulação da resposta imune na doença de Chagas (115,116). Outro aspecto importante no que diz respeito às citocinas que imunoregulam a resposta anti-*T. cruzi* é a demonstração de que mRNA de IL-4 e IL-10 já são observados 15 dias após a infecção, sugerindo sua participação desde os eventos iniciais da doença (117).

Um importante aspecto a ser considerado neste cenário de imunoregulação da resposta imune na doença de Chagas é a possibilidade de utilização destas vias, por parte do parasito, a fim de escapar dos mecanismos imunes efetores, promovendo assim sua sobrevivência e estabelecimento de uma infecção crônica (117). De fato, os efeitos, principalmente de IL-10 e TGF- β tem repercussões diretas na capacidade microbida dos macrófagos (118,119). Outro aspecto importante que pode estar relacionado com esta imunoregulação é a participação das células T reguladoras, especialmente as ditas “naturais”, que tem um fenótipo CD4+CD25+, na doença de Chagas; embora os estudos relacionados à esta população celular estejam cada vez mais comuns, sua participação exata na doença de Chagas ainda necessita ser determinada (117).

Este período de dita “latência” da infecção pode perdurar por toda a vida do hospedeiro. Porém, em uma parcela dos indivíduos este equilíbrio é quebrado e as manifestações clínicas da doença se manifestam. A exata relação parasito-hospedeiro envolvida neste desequilíbrio ainda é muito controversa, com as teorias fundamentadas principalmente em três hipóteses: a patologia sendo derivada da presença contínua do parasito no indivíduo; a patologia sendo gerada a partir da indução de resposta autoimune exacerbada; e ultimamente, uma tentativa de conciliação destas duas teorias, onde a interação dos genomas do parasito e do hospedeiro tem um papel crucial.

As primeiras teorias acerca da patogênese da doença de Chagas vieram a partir da identificação direta do parasito nos tecidos. Desta forma, a patologia seria devido a uma ruptura da célula parasitada e liberação dos antígenos do parasito, afetando o tecido e direcionando uma inflamação crônica. Contudo, esta teoria esbarrava na ausência de demonstração de parasitos nos tecidos de cerca de 80% dos indivíduos já com a patologia desenvolvida (120). Esta dificuldade foi resolvida com o advento de testes imunológicos e, em especial moleculares, que demonstraram a presença de kDNA de *Trypanosoma cruzi* nos tecidos de indivíduos chagásicos (121,122). No entanto, somente a detecção de DNA nuclear, ou seja, nDNA é indicativo de uma infecção ativa com *T.cruzi* (123,124). De fato, as manifestações crônicas da doença de Chagas não estão relacionadas com severa parasitemia, pelo contrário, esta é praticamente ausente na fase crônica da doença (120).

Nas últimas 3 décadas a autoimunidade tem sido considerada um importante aspecto na patogenia da doença de Chagas, recebendo atenção e suporte substanciais (125,126). O aspecto chave da destruição de células livres de parasitos, por células do inflamatório mononuclear passou a ser explorado, avaliando-se *in vivo* e *in vitro*. Dados experimentais têm demonstrado que a autoimunidade é um importante componente da patogênese da Doença de Chagas. Sendo assim os fenômenos autoimunes relacionados seriam: I a presença dos anticorpos e de células autoreativas (127); II mimetismo molecular entre os componentes do hospedeiro e do parasita (128); III a observação de que células mononucleares de pacientes chagásicos podem responder a antígenos autólogos *in vitro* (129,130) e IV a ocorrência de populações de células circulando relacionadas a auto-imunidade, tal como células B CD5+, nos

pacientes chagásicos (131). É atualmente aceito que resposta antiparasitas e autoreativas não são mutuamente exclusivas na doença de Chagas e que as combinações destes tipos de resposta imune podem estar envolvidas no estabelecimento da patologia (131). Há uma evidência demonstrando que além da auto-imunidade fatores genéticos do parasita e hospedeiro também podem influenciar o resultado da infecção (132).

GIRONES e FRESNO, 2003 postularam que essa persistência do *Trypanosoma cruzi*, junto com a resposta imune específico induzida por antígenos miocárdicos múltiplos pode causar danos cardíacos (125). Estes mesmos autores encontraram que a auto-reatividade encontrada na fase crônica da infecção por *Trypanosoma cruzi* está ligada à parasitemia; os anticorpos e células T reativas contra o auto-antígeno (125). Que mostrou ser significativamente mais baixa em ratos C57BL/6 do que nos ratos BALB/c. A este respeito, a eliminação do parasita na fase aguda poderia revogar potencialmente a indução da auto-imunidade (132).

Para MORRIS, 1990 está claro que a destruição do tecido que é característica das formas clínicas mais severas da doença de Chagas é causada por uma reação inflamatória progressiva multifocal (133). Dessa forma, foi proposto que a miosite e linfócitos T que se infiltram no tecido do coração são envolvidos no dano cardíaco (89,134). Chagásicos com doença cardíaca evidente produziram altos níveis de IFN- γ , mas diminuída produção de IL-4 após estimulação *in vitro*, sugerindo que dano do coração poderia ser resultado das citocinas inflamatórias. A persistência da inflamação pode ser relacionada à citocinas produzidos pelas células T CD4+ específicas. DUTRA *et al.* (2005) sugerem uma provável combinação de composição genética do hospedeiro e do parasita, além do que o sistema imune do hospedeiro e o ambiente, contribuem para a determinação do resultado clínico da doença (131).

Atualmente quatro mecanismos principais são definidos como responsáveis pelo desenvolvimento das formas clínicas da Doença de Chagas, sendo eles: Agressão dependente do parasito, alterações do sistema nervoso autônomo, agressão imunomediada com processos inflamatórios nos tecidos e aparente ausência de parasitos e alterações microvasculares (135).

Tabela 2 - Principais componentes imunológicos participantes da relação *T. cruzi*-hospedeiro vertebrado e suas funções.

Componentes imunológicos	Função	Referências
TLR2/TLR6	Reconhecimento do parasito via GPIs Reconhecimento de proteína Tc52 Resposta imune inata com produção de IL-12 e NO Maturação de células dendríticas Resistência a infecção Perfil Th1 e suposto papel imunoregulador	(79,87,136,137)
TLR4	Reconhecimento de GLIPs Função ainda controversa	(136)
TLR9	Reconhecimento de genoma do protozoário Controle de parasitemia Produção de IL-12, IFN- γ , TNF- α , IL-6 e NO Resistência a infecção Perfil Th1	(136,137)
Nod1	Controle de parasitemia e mortalidade Resistência a infecção	(136)
IL-6	Fase aguda: Resistência a infecção Fase crônica (excesso): formas sintomáticas da doença de Chagas	(87,138,139)
TNF- α	Fase inicial da doença/aguda: Indução de ROS Resistência a infecção Fase crônica (excesso): formas sintomáticas da doença de Chagas	(87,137–139)
IL-12	Produção em excesso leva ao dano tecidual Fase aguda: Mediador da produção de IFN- γ e NO Ativação de células NK e Indução de perfil Th1 Fase crônica (excesso): formas sintomáticas da doença de Chagas	(87,136–139)
IFN- γ	Produção em excesso leva ao dano tecidual Fase inicial da doença/aguda: Ativação de macrófagos Indução de iNOS e ROS Inibição de replicação do parasito em macrófagos Resistência a infecção Fase crônica (excesso): formas sintomáticas da doença de Chagas	(87,136–139)
IL-5	Produção em excesso leva ao dano tecidual Fase crônica: forma assintomática da doença de Chagas	(87)
IL-4	Fase aguda: Susceptibilidade a infecção Fase crônica: forma assintomática da doença de Chagas	(87,138)
IL-10	Fase aguda: Favorecimento da infecção e persistência do parasito Fase crônica: forma assintomática da doença de Chagas	(87,138,139)
TGF- β	Regulação de processo de invasão do parasito Indução de fibrose cardíaca	(87)
IL-17	Papel controverso Fase aguda: resistência a infecção	(87,139)
CCR5	Fase crônica: forma assintomática da doença de Chagas Receptor para CL2, CCL3, CCL4 e CCL5 Controle da fase aguda Dano tecidual: miocardite Papel dual	(93,138,140)
CXCL9 e CXCL10	Controle de carga parasitária na fase aguda Miocardite na fase crônica Papel controverso	(93,138,140)
NO	Citotoxicidade ao protozoário Inibição de replicação do parasito	(87,138)
ROS	Excesso leva a dano tecidual Citotoxicidade ao protozoário Inibição de replicação do parasito Excesso leva a dano tecidual	(87,138)

Fonte: Autoria própria.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

É clara a importância de todas as formas parasitárias do *T. cruzi*. Entretanto, a sua forma tripomastigota sanguínea, e a forma multiplicativa, amastigota, são imprescindíveis para o sucesso da infecção. Nesse âmbito, as cascatas de sinalização intracelular, bem como moléculas do próprio parasito e da célula hospedeira, são peças essenciais para maiores entendimentos e estudos sobre a doença de Chagas.

Quando se trata da resposta imune acerca da doença de Chagas, espera-se que a imunidade inata forneça a primeira defesa, contando com receptores, ativação de células NK, células T e indução de diversas moléculas pró-inflamatórias a fim de efetivar um controle inicial da parasitemia. Logo após a fase inicial, os mecanismos imunorreguladores marcam a fase crônica da doença, considerando a produção e ativação de NO, IL-12, regulação de prostaglandinas e demais citocinas pró-inflamatórias para atuar uma resposta imune eficiente, no entanto, sabe-se que a resposta inflamatória pode ser exacerbada, prejudicando os indivíduos infectados.

Em suma, sabe-se a necessidade de produção científica a respeito do tema tratado, não só para adquirir novos conhecimentos sobre o *T. cruzi*, sua infecção e o perfil de resposta imunológica associada, bem como para melhoria de entendimento para os profissionais da saúde que lidam diariamente sobre o tema.

REFERÊNCIAS

1. Pérez-Molina JA, Molina I. Chagas disease [Internet]. Vol. 391, The Lancet. Lancet Publishing Group; 2018 [cited 2020 Dec 22]. p. 82–94. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28673423/>
2. Coura JR. Dinâmica das doenças infecciosas e parasitárias. volumen 1. volumen 2.
3. Mills RM. Chagas Disease: Epidemiology and Barriers to Treatment. Am J Med [Internet]. 2020 Nov 1 [cited 2022 Sep 29];133(11):1262–5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32592664/>
4. Bern C, Montgomery SP, Katz L, Caglioti S, Stramer SL. Chagas disease and the US blood supply. Curr Opin Infect Dis [Internet]. 2008 Oct [cited 2022 Sep 29];21(5):476–82. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18725796/>
5. Jr AR, Rassi A, Marin-Neto JA, Lancet. Chagas disease. Lancet. 2018;391(10115):82–94.

6. Bonney KM. Chagas disease in the 21st century: a public health success or an emerging threat? *Parasite* [Internet]. 2014 [cited 2022 Sep 29];21. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24626257/>
7. Guarner J. Chagas disease as example of a reemerging parasite. *Semin Diagn Pathol* [Internet]. 2019 May 1 [cited 2022 Sep 29];36(3):164–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31006555/>
8. Echeverria LE, Morillo CA. American Trypanosomiasis (Chagas Disease). *Infect Dis Clin North Am* [Internet]. 2019 Mar 1 [cited 2022 Sep 29];33(1):119–34. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30712757/>
9. Rachou O, Cruz B, Horizonte B, Correspondência JCP, Dias C, De Pesquisas R, et al. Globalização, iniquidade e doença de Chagas. *Cad Saude Publica* [Internet]. 2007 [cited 2022 Sep 29];23(SUPPL. 1):S13–22. Available from: <http://www.scielo.br/j/csp/a/Ftv38v6jcYkbjKvPLJdHXKM/?lang=pt>
10. Simões MV, Romano MMD, Schmidt A, Martins KSM, Marin-Neto JA. Chagas Disease Cardiomyopathy. *Int J Cardiovasc Sci* [Internet]. 2018 [cited 2022 Sep 28];31:173–89. Available from: <http://www.scielo.br/j/ijcs/a/X6TQyt7tnM7cQn5SLVTnYpz/abstract/?lang=en>
11. Andrade ZA. Immunopathology of Chagas disease. *Mem Inst Oswaldo Cruz* [Internet]. 1999 [cited 2022 Sep 29];94 Suppl 1(SUPPL. 1):71–80. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10677693/>
12. Coura JR, Borges-Pereira J. Chagas disease: 100 years after its discovery. A systemic review. *Acta Trop* [Internet]. 2010 Jul [cited 2022 Sep 29];115(1–2):5–13. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20382097/>
13. De Bona E, Lidani KCF, Bavia L, Omidian Z, Gremski LH, Sandri TL, et al. Autoimmunity in chronic chagas disease: A road of multiple pathways to cardiomyopathy? [Internet]. Vol. 9, *Frontiers in Immunology*. Frontiers Media S.A.; 2018 [cited 2020 Oct 6]. Available from: </pmc/articles/PMC6088212/?report=abstract>
14. Chao C, Leone JL, Vigliano CA. Chagas disease: Historic perspective. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis* [Internet]. 2020 May 1 [cited 2022 Sep 29];1866(5). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32001300/>
15. Ferraz LR de M, Alves AÉG, Nascimento DDS da S, Amariz IA e., Ferreira AS, Costa SPM, et al. Technological innovation strategies for the specific treatment of Chagas disease based on Benznidazole. *Acta Trop* [Internet]. 2018 Sep 1 [cited 2022 Sep 29];185:127–32. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29452113/>
16. Villanueva MS. Trypanosomiasis of the central nervous system. *Semin Neurol* [Internet]. 1993 [cited 2022 Sep 29];13(2):209–18. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8356356/>
17. Pays J. [Human American trypanosomiasis 90 years after its discovery by Carlos Chagas. II--Clinical aspects, physiopathology, diagnosis and treatment] - PubMed. *Med Trop* [Internet]. 1999 [cited 2022 Sep 29];59(1):79–94. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10472588/>
18. Moretti NS, Mortara RA, Schenkman S. *Trypanosoma cruzi*. *Trends Parasitol* [Internet]. 2020 Apr 1 [cited 2022 Sep 29];36(4):404–5. Available from: <http://www.cell.com/article/S1471492219302442/fulltext>
19. Tyler KM, Engman DM. The life cycle of *Trypanosoma cruzi* revisited. *Int J Parasitol* [Internet]. 2001 May 1 [cited 2022 Sep 29];31(5–6):472–81. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11334932/>
20. Mortara RA, Andreoli WK, Tantwaki NN, Fernandes AB, Da Silva C V., Fernandes MCDC, et al. Mammalian cell invasion and intracellular trafficking by *Trypanosoma cruzi* infective forms. *An Acad Bras Cienc* [Internet]. 2005 [cited 2022 Sep 29];77(1):77–94. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15692679/>
21. Burleigh BA, Woolsey AM. Cell signalling and *Trypanosoma cruzi* invasion. *Cell*

- Microbiol [Internet]. 2002 Nov 1 [cited 2022 Sep 29];4(11):701–11. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12427093/>
22. Rodríguez-Bejarano OH, Avendaño C, Patarroyo MA. Mechanisms Associated with *Trypanosoma cruzi* Host Target Cell Adhesion, Recognition and Internalization. *Life* (Basel, Switzerland) [Internet]. 2021 Jun 1 [cited 2022 Sep 29];11(6). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34207491/>
 23. Nájera CA, Batista MF, Meneghelli I, Bahia D. Mixed signals - how *Trypanosoma cruzi* exploits host-cell communication and signaling to establish infection. *J Cell Sci* [Internet]. 2021 Mar 1 [cited 2022 Sep 29];134(5). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33692153/>
 24. Costales J, Rowland EC. A role for protease activity and host-cell permeability during the process of *Trypanosoma cruzi* egress from infected cells. *J Parasitol* [Internet]. 2007 Dec [cited 2022 Sep 29];93(6):1350–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18314679/>
 25. Behbehani K. Developmental cycles of *Trypanosoma* (*Schizotrypanum*) *cruzi* (Chagas, 1909) in mouse peritoneal macrophages in vitro. *Parasitology* [Internet]. 1973 [cited 2022 Sep 29];66(2):343–53. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4595116/>
 26. Hudson L, Snary D, Morgan SJ. *Trypanosoma cruzi*: continuous cultivation with murine cell lines - PubMed [Internet]. *Parasitology*. 1984 [cited 2022 Sep 29]. p. 283–94. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6371672/>
 27. Ley V, Andrews NW, Robbins ES, Nussenzweig V. Amastigotes of *Trypanosoma cruzi* sustain an infective cycle in mammalian cells. *J Exp Med* [Internet]. 1988 Aug 1 [cited 2022 Sep 29];168(2):649–59. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3045248/>
 28. Nogueira N, Cohn Z. *Trypanosoma cruzi*: mechanism of entry and intracellular fate in mammalian cells. *J Exp Med* [Internet]. 1976 Jun 1 [cited 2022 Sep 29];143(6):1402–20. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/775012/>
 29. ANDREWS NW, COLLI W. Adhesion and interiorization of *Trypanosoma cruzi* in mammalian cells. *J Protozool* [Internet]. 1982 [cited 2022 Sep 29];29(2):264–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7047731/>
 30. Meirelles MNL, Juliano L, Carmona E, Silva SG, Costa EM, Murta ACM, et al. Inhibitors of the major cysteinyl proteinase (GP57/51) impair host cell invasion and arrest the intracellular development of *Trypanosoma cruzi* in vitro. *Mol Biochem Parasitol* [Internet]. 1992 [cited 2022 Sep 29];52(2):175–84. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1620157/>
 31. Schenkman S, Jiang MS, Hart GW, Nussenzweig V. A novel cell surface trans-sialidase of *Trypanosoma cruzi* generates a stage-specific epitope required for invasion of mammalian cells. *Cell* [Internet]. 1991 Jun 28 [cited 2022 Sep 29];65(7):1117–25. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1712251/>
 32. Schenkman S, Mortara RA. HeLa cells extend and internalize pseudopodia during active invasion by *Trypanosoma cruzi* trypomastigotes. *J Cell Sci* [Internet]. 1992 [cited 2022 Sep 29];101 (Pt 4)(4):895–905. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1527184/>
 33. Procópio DO, Barros HC, Mortara RA. Actin-rich structures formed during the invasion of cultured cells by infective forms of *Trypanosoma cruzi*. *Eur J Cell Biol* [Internet]. 1999 [cited 2022 Sep 29];78(12):911–24. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10669110/>
 34. Procópio DO, Da Silva S, Cunningham CC, Mortara RA. *Trypanosoma cruzi*: effect of protein kinase inhibitors and cytoskeletal protein organization and expression on host cell invasion by amastigotes and metacyclic trypomastigotes. *Exp Parasitol* [Internet]. 1998 [cited 2022 Sep 29];90(1):1–13. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9709024/>
 35. Caradonna KL, Burleigh BA. Mechanisms of host cell invasion by *Trypanosoma cruzi*. *Adv Parasitol* [Internet]. 2011 [cited 2022 Sep 29];76:33–61. Available from:

- <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21884886/>
36. Tardieux I, Webster P, Ravesloot J, Boron W, Lunn JA, Heuser JE, et al. Lysosome recruitment and fusion are early events required for trypanosome invasion of mammalian cells. *Cell* [Internet]. 1992 Dec 24 [cited 2022 Sep 29];71(7):1117–30. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1473148/>
 37. Tardieux I, Nathanson MH, Andrews NW. Role in host cell invasion of *Trypanosoma cruzi*-induced cytosolic-free Ca²⁺ transients. *J Exp Med* [Internet]. 1994 Mar 1 [cited 2022 Sep 29];179(3):1017–22. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8113670/>
 38. Burleigh BA, Andrews NW. Signaling and host cell invasion by *Trypanosoma cruzi*. *Curr Opin Microbiol* [Internet]. 1998 [cited 2022 Sep 29];1(4):461–5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10066513/>
 39. Mott GA, Burleigh BA. The role of host cell lysosomes in *Trypanosoma cruzi* invasion. *Subcell Biochem* [Internet]. 2008 [cited 2022 Sep 29];47:165–73. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18512350/>
 40. Oliveira ACS, Rezende L, Gorshkov V, Melo-Braga MN, Verano-Braga T, Fernandes-Braga W, et al. Biological and Molecular Effects of *Trypanosoma cruzi* Residence in a LAMP-Deficient Intracellular Environment. *Front Cell Infect Microbiol* [Internet]. 2022 Jan 6 [cited 2022 Sep 29];11. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35071040/>
 41. Ferreira RR, Waghbi MC, Bailly S, Feige JJ, Hasslocher-Moreno AM, Saraiva RM, et al. The Search for Biomarkers and Treatments in Chagas Disease: Insights From TGF-Beta Studies and Immunogenetics. *Front Cell Infect Microbiol* [Internet]. 2022 Feb 2 [cited 2022 Sep 29];11. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35186778/>
 42. Yoshida N. Molecular basis of mammalian cell invasion by *Trypanosoma cruzi*. *An Acad Bras Cienc* [Internet]. 2006 [cited 2022 Sep 30];78(1):87–111. Available from: <http://www.scielo.br/j/aabc/a/nj6NC7Yj86fwJ6BjwzsnDpn/?lang=en>
 43. Chuenkova M V., PereiraPerrin M. Chagas' disease parasite promotes neuron survival and differentiation through TrkA nerve growth factor receptor. *J Neurochem* [Internet]. 2004 Oct [cited 2022 Sep 30];91(2):385–94. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15447671/>
 44. Wilkowsky SE, Barbieri MA, Stahl P, Isola ELD. *Trypanosoma cruzi*: phosphatidylinositol 3-kinase and protein kinase B activation is associated with parasite invasion. *Exp Cell Res* [Internet]. 2001 Apr 1 [cited 2022 Sep 30];264(2):211–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11262178/>
 45. Fernandes MC, Andrews NW. Host cell invasion by *Trypanosoma cruzi*: a unique strategy that promotes persistence. *FEMS Microbiol Rev* [Internet]. 2012 May [cited 2022 Sep 30];36(3):734–47. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22339763/>
 46. Woolsey AM, Sunwoo L, Petersen CA, Brachmann SM, Cantley LC, Burleigh BA. Novel PI 3-kinase-dependent mechanisms of trypanosome invasion and vacuole maturation. *J Cell Sci* [Internet]. 2003 Sep 1 [cited 2022 Sep 30];116(Pt 17):3611–22. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12876217/>
 47. Burleigh BA. Host cell signaling and *Trypanosoma cruzi* invasion: do all roads lead to lysosomes? *Sci STKE* [Internet]. 2005 [cited 2022 Sep 30];2005(293). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16030288/>
 48. Barrias ES, de Carvalho TMU, De Souza W. *Trypanosoma cruzi*: Entry into Mammalian Host Cells and Parasitophorous Vacuole Formation. *Front Immunol* [Internet]. 2013 [cited 2022 Sep 30];4(AUG). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23914186/>
 49. Teixeira MMG, Yoshida N. Stage-specific surface antigens of metacyclic trypomastigotes of *Trypanosoma cruzi* identified by monoclonal antibodies. *Mol Biochem Parasitol* [Internet]. 1986 [cited 2022 Oct 1];18(3):271–82. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3515178/>

50. Cortez C, Sobreira TJP, Maeda FY, Yoshida N. The gp82 surface molecule of *Trypanosoma cruzi* metacyclic forms. *Subcell Biochem* [Internet]. 2014 [cited 2022 Oct 1];74:137–50. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24264244/>
51. Ferri G, Edreira MM. All Roads Lead to Cytosol: *Trypanosoma cruzi* Multi-Strategic Approach to Invasion. *Front Cell Infect Microbiol*. 2021 Mar 5;11:89.
52. Cordero EM, Cortez C, Yoshida N, da Silveira JF. Signal peptide recognition in *Trypanosoma cruzi* GP82 adhesin relies on its localization at protein N-terminus. *Sci Reports* 2019 91 [Internet]. 2019 May 13 [cited 2022 Oct 1];9(1):1–14. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41598-019-43743-0>
53. Ramirez MI, De Cassia Ruiz R, Araya JE, Da Silveira JF, Yoshida N. Involvement of the stage-specific 82-kilodalton adhesion molecule of *Trypanosoma cruzi* metacyclic trypomastigotes in host cell invasion. *Infect Immun* [Internet]. 1993 [cited 2022 Oct 1];61(9):3636–41. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8359886/>
54. Dorta ML, Ferreira AT, Oshiro MEM, Yoshida N. Ca²⁺ signal induced by *Trypanosoma cruzi* metacyclic trypomastigote surface molecules implicated in mammalian cell invasion. *Mol Biochem Parasitol* [Internet]. 1995 [cited 2022 Oct 1];73(1–2):285–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8577342/>
55. Cordero EM, Gentil LG, Crisante G, Ramirez JL, Yoshida N, Añez N, et al. Expression of GP82 and GP90 surface glycoprotein genes of *Trypanosoma cruzi* during in vivo metacyclogenesis in the insect vector *Rhodnius prolixus*. *Acta Trop* [Internet]. 2008 Jan [cited 2022 Oct 1];105(1):87–91. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17889817/>
56. Martins RM, Covarrubias C, Rojas RG, Silber AM, Yoshida N. Use of L-proline and ATP production by *Trypanosoma cruzi* metacyclic forms as requirements for host cell invasion. *Infect Immun* [Internet]. 2009 Jul [cited 2022 Oct 1];77(7):3023–32. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19433547/>
57. Rodrigues JPF, Takahashi Sant'ana GH, Juliano MA, Yoshida N. Inhibition of Host Cell Lysosome Spreading by *Trypanosoma cruzi* Metacyclic Stage-Specific Surface Molecule gp90 Downregulates Parasite Invasion. *Infect Immun* [Internet]. 2017 Sep 1 [cited 2022 Oct 1];85(9). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3015561/>
58. Zanforlin T, Bayer-Santos E, Cortez C, Almeida IC, Yoshida N, Da Silveira JF. Molecular characterization of *Trypanosoma cruzi* SAP proteins with host-cell lysosome exocytosis-inducing activity required for parasite invasion. *PLoS One* [Internet]. 2013 Dec 31 [cited 2022 Oct 1];8(12). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24391838/>
59. Baida RCP, Santos MRM, Carmo MS, Yoshida N, Ferreira D, Ferreira AT, et al. Molecular characterization of serine-, alanine-, and proline-rich proteins of *Trypanosoma cruzi* and their possible role in host cell infection. *Infect Immun* [Internet]. 2006 Mar [cited 2022 Oct 1];74(3):1537–46. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16495524/>
60. Martins NO, Souza RT de, Cordero EM, Maldonado DC, Cortez C, Marini MM, et al. Molecular Characterization of a Novel Family of *Trypanosoma cruzi* Surface Membrane Proteins (TcSMP) Involved in Mammalian Host Cell Invasion. *PLoS Negl Trop Dis* [Internet]. 2015 Nov 13 [cited 2022 Oct 1];9(11). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26565791/>
61. Grellier P, Vendeville S, Joyeau R, Bastos IMD, Drobecq H, Frappier F, et al. *Trypanosoma cruzi* prolyl oligopeptidase Tc80 is involved in nonphagocytic mammalian cell invasion by trypomastigotes. *J Biol Chem* [Internet]. 2001 Dec 14 [cited 2022 Oct 1];276(50):47078–86. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11598112/>
62. Chuenkova M V., Furnari FB, Cavenee WK, Pereira MA. *Trypanosoma cruzi* trans-sialidase: a potent and specific survival factor for human Schwann cells by means of phosphatidylinositol 3-kinase/Akt signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A*

- [Internet]. 2001 Aug 14 [cited 2022 Oct 1];98(17):9936–41. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11481434/>
63. Butler CE, de Carvalho TMU, Grisard EC, Field RA, Tyler KM. Trans-sialidase stimulates eat me response from epithelial cells. *Traffic* [Internet]. 2013 Jul [cited 2022 Oct 1];14(7):853–69. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23601193/>
 64. Campetella O, Buscaglia CA, Mucci J, Leguizamón MS. Parasite-host glycan interactions during *Trypanosoma cruzi* infection: trans-Sialidase rides the show. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis* [Internet]. 2020 May 1 [cited 2022 Oct 1];1866(5). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31972227/>
 65. Magdesian MH, Tonelli RR, Fessel MR, Silveira MS, Schumacher RI, Linden R, et al. A conserved domain of the gp85/trans-sialidase family activates host cell extracellular signal-regulated kinase and facilitates *Trypanosoma cruzi* infection. *Exp Cell Res* [Internet]. 2007 Jan 1 [cited 2022 Oct 1];313(1):210–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17101128/>
 66. Mattos EC, Tonelli RR, Colli W, Alves MJM. The Gp85 surface glycoproteins from *Trypanosoma cruzi*. *Subcell Biochem* [Internet]. 2014 [cited 2022 Oct 1];74:151–80. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24264245/>
 67. Cánepa GE, Degese MS, Budu A, Garcia CRS, Buscaglia CA. Involvement of TSSA (trypomastigote small surface antigen) in *Trypanosoma cruzi* invasion of mammalian cells. *Biochem J* [Internet]. 2012 Jun 1 [cited 2022 Oct 1];444(2):211–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22428617/>
 68. Cámara M de los M, Cánepa GE, Lantos AB, Balouz V, Yu H, Chen X, et al. The Trypomastigote Small Surface Antigen (TSSA) regulates *Trypanosoma cruzi* infectivity and differentiation. *PLoS Negl Trop Dis* [Internet]. 2017 Aug 1 [cited 2022 Oct 1];11(8). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28800609/>
 69. Caler E V., De Avalos SV, Haynes PA, Andrews NW, Burleigh BA. Oligopeptidase B-dependent signaling mediates host cell invasion by *Trypanosoma cruzi*. *EMBO J* [Internet]. 1998 Sep 1 [cited 2022 Oct 1];17(17):4975–86. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9724634/>
 70. Motta FN, Azevedo C dos S, Neves BP, Araújo CN de, Grellier P, Santana JM de, et al. Oligopeptidase B, a missing enzyme in mammals and a potential drug target for trypanosomatid diseases. *Biochimie* [Internet]. 2019 Dec 1 [cited 2022 Oct 1];167:207–16. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31628976/>
 71. Ochaya S, Franzén O, Buhwa DA, Foyn H, Butler CE, Stove SI, et al. Characterization of Evolutionarily Conserved *Trypanosoma cruzi* NatC and NatA-N-Terminal Acetyltransferase Complexes. *J Parasitol Res* [Internet]. 2019 [cited 2022 Oct 1];2019. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30956813/>
 72. Florentino PTV, Real F, Orikaza CM, da Cunha JPC, Vitorino FNL, Cordero EM, et al. A Carbohydrate Moiety of Secreted Stage-Specific Glycoprotein 4 Participates in Host Cell Invasion by *Trypanosoma cruzi* Extracellular Amastigotes. *Front Microbiol* [Internet]. 2018 Apr 10 [cited 2022 Oct 1];9(APR). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29692765/>
 73. Cruz MC, Souza-Melo N, da Silva CV, DaRocha WD, Bahia D, Araújo PR, et al. *Trypanosoma cruzi*: role of δ -amastin on extracellular amastigote cell invasion and differentiation. *PLoS One* [Internet]. 2012 Dec 18 [cited 2022 Oct 1];7(12). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23272170/>
 74. Rodrigues AA, Clemente TM, dos Santos MA, Machado FC, Gomes RGB, Moreira HHT, et al. A recombinant protein based on *Trypanosoma cruzi* P21 enhances phagocytosis. *PLoS One* [Internet]. 2012 Dec 10 [cited 2022 Oct 1];7(12). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23251513/>
 75. Teixeira SC, Lopes DS, Gimenes SNC, Teixeira TL, Da Silva MS, Brígido RTES, et al. Mechanistic Insights into the Anti-angiogenic Activity of *Trypanosoma cruzi* Protein 21 and its Potential Impact on the Onset of Chagasic Cardiomyopathy. *Sci Rep* [Internet]. 2017 Mar 21 [cited 2022 Oct 1];7. Available from:

- <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28322302/>
76. Ferreira ÉR, Horjales E, Bonfim-Melo A, Cortez C, Da Silva CV, De Groote M, et al. Unique behavior of *Trypanosoma cruzi* mevalonate kinase: A conserved glycosomal enzyme involved in host cell invasion and signaling. *Sci Rep* [Internet]. 2016 Apr 26 [cited 2022 Oct 1];6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27113535/>
 77. San Francisco J, Barría I, Gutiérrez B, Neira I, Muñoz C, Sagua H, et al. Decreased cruzipain and gp85/trans-sialidase family protein expression contributes to loss of *Trypanosoma cruzi* trypomastigote virulence. *Microbes Infect* [Internet]. 2017 Jan 1 [cited 2022 Oct 1];19(1):55–61. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27553285/>
 78. Schnare M, Barton GM, Holt AC, Takeda K, Akira S, Medzhitov R. Toll-like receptors control activation of adaptive immune responses. *Nat Immunol* [Internet]. 2001 [cited 2022 Sep 29];2(10):947–50. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11547333/>
 79. Campos MA, Gazzinelli RT. *Trypanosoma cruzi* and its components as exogenous mediators of inflammation recognized through Toll-like receptors. *Mediators Inflamm* [Internet]. 2004 Jun [cited 2022 Sep 29];13(3):139–43. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15223603/>
 80. Jensen HM, Chen I, DeVault MR, Lewis AE. Destruction of *Trypanosoma cruzi* by Natural Killer Cells. *Science* (80-) [Internet]. 1982 Oct 15 [cited 2022 Sep 29];218(4569):295–6. Available from: <https://www.science.org/doi/10.1126/science.6812218>
 81. Hatcher F, Kuhn R. Destruction of *Trypanosoma cruzi* by Natural Killer Cells | *Science*. *Science* (80-) [Internet]. 1982 [cited 2022 Sep 29];218(4569):295–6. Available from: <https://www.science.org/doi/10.1126/science.6812218>
 82. Williams DM, Sawyer S, Remington JS. Role of activated macrophages in resistance of mice to infection with *Trypanosoma cruzi*. *J Infect Dis* [Internet]. 1976 [cited 2022 Sep 29];134(6):610–4. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/826595/>
 83. Harel-Bellan A, Joskowicz M, Fradelizi D, Eisen H. T lymphocyte function during experimental Chagas' disease: production of and response to interleukin 2. *Eur J Immunol* [Internet]. 1985 [cited 2022 Sep 29];15(5):438–42. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3158531/>
 84. DosReis GA, Freire-De-Lima CG, Nunes MP, Lopes MF. The importance of aberrant T-cell responses in Chagas disease. *Trends Parasitol* [Internet]. 2005 [cited 2022 Sep 29];21(5):237–43. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15837613/>
 85. Wang Y, Wessel N, Kohse F, Khan A, Schultheiss H, Moreira M da C V., et al. Measurement of multiple cytokines for discrimination and risk stratification in patients with Chagas' disease and idiopathic dilated cardiomyopathy. *PLoS Negl Trop Dis* [Internet]. 2021 Mar 1 [cited 2022 Sep 29];15(3). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33755669/>
 86. Medeiros NI, Gomes JAS. Cytometric Bead Array (CBA) for Measuring Cytokine Levels in Chagas Disease Patients. *Methods Mol Biol* [Internet]. 2019 [cited 2022 Sep 29];1955:309–14. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30868537/>
 87. Cristovão-Silva AC, Brelaz-de-Castro MCA, Hernandez MZ, Pereira VRA. Chagas disease: Immunology of the disease at a glance. *Cytokine Growth Factor Rev* [Internet]. 2021 Dec 1 [cited 2022 Sep 29];62:15–22. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34696979/>
 88. Mateus J, Guerrero P, Lasso P, Cuervo C, González JM, Puerta CJ, et al. An Animal Model of Acute and Chronic Chagas Disease With the Reticulotropic Y Strain of *Trypanosoma cruzi* That Depicts the Multifunctionality and Dysfunctionality of T Cells. *Front Immunol* [Internet]. 2019 [cited 2022 Sep

- 28];10(APR). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31105709/>
89. Cunha-Neto E, Nogueira LG, Teixeira PC, Ramasawmy R, Drigo SA, Goldberg AC, et al. Immunological and non-immunological effects of cytokines and chemokines in the pathogenesis of chronic Chagas disease cardiomyopathy. *Mem Inst Oswaldo Cruz* [Internet]. 2009 [cited 2022 Sep 29];104 Suppl 1(SUPPL. 1):252–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19753481/>
90. Hontebeyrie-Joskowicz M. Immunoregulatory mechanisms and Chagas' disease. *Mem Inst Oswaldo Cruz* [Internet]. 1992 [cited 2022 Sep 29];87 Suppl 5:101–3. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1342703/>
91. Choudhuri S, Garg NJ. PARP1-cGAS-NF-κB pathway of proinflammatory macrophage activation by extracellular vesicles released during *Trypanosoma cruzi* infection and Chagas disease. *PLoS Pathog* [Internet]. 2020 Apr 1 [cited 2022 Sep 29];16(4). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32315358/>
92. Moretti E, Basso B, Cervetta L, Brigada A, Barbieri G. Patterns of cytokines and soluble cellular receptors in the sera of children with acute chagas' disease. *Clin Diagn Lab Immunol* [Internet]. 2002 Nov [cited 2022 Sep 29];9(6):1324–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12414768/>
93. Teixeira MM, Gazzinelli RT, Silva JS. Chemokines, inflammation and *Trypanosoma cruzi* infection. *Trends Parasitol* [Internet]. 2002 Jun 1 [cited 2022 Sep 29];18(6):262–5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12036740/>
94. Oliveira A-C, Peixoto JR, de Arruda LB, Campos MA, Gazzinelli RT, Golenbock DT, et al. Expression of functional TLR4 confers proinflammatory responsiveness to *Trypanosoma cruzi* glycoinositolphospholipids and higher resistance to infection with *T. cruzi*. *J Immunol* [Internet]. 2004 Nov 1 [cited 2022 Sep 29];173(9):5688–96. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15494520/>
95. Almeida IC, Gazzinelli RT. Proinflammatory activity of glycosylphosphatidylinositol anchors derived from *Trypanosoma cruzi*: structural and functional analyses. *J Leukoc Biol* [Internet]. 2001 Oct 1 [cited 2022 Sep 29];70(4):467–77. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1189/jlb.70.4.467>
96. Almeida IC, Camargo MM, Procópio DO, Silva LS, Mehlert A, Travassos LR, et al. Highly purified glycosylphosphatidylinositols from *Trypanosoma cruzi* are potent proinflammatory agents. *EMBO J* [Internet]. 2000 Apr 4 [cited 2022 Sep 29];19(7):1476. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10930678/>
97. Corral RS, Petray PB. CpG DNA as a Th1-promoting adjuvant in immunization against *Trypanosoma cruzi*. *Vaccine* [Internet]. 2000 Sep 15 [cited 2022 Sep 29];19(2–3):234–42. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10930678/>
98. Reis DD, Jones EM, Tostes S, Lopes ER, Gazzinelli G, Colley DG, et al. Characterization of inflammatory infiltrates in chronic chagasic myocardial lesions: presence of tumor necrosis factor-α+ cells and dominance of granzyme A+, CD8+ lymphocytes. *Am J Trop Med Hyg* [Internet]. 1993 [cited 2022 Sep 29];48(5):637–44. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8517482/>
99. Dutra WO, Da Luz ZMP, Cançado JR, Pereira ME, Brígido-Nunes RM, Galvão LMC, et al. Influence of parasite presence on the immunologic profile of peripheral blood mononuclear cells from chagasic patients after specific drug therapy. *Parasite Immunol* [Internet]. 1996 Nov 1 [cited 2022 Sep 29];18(11):579–85. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1046/j.1365-3024.1996.d01-29.x>
100. Cardoni RL, Antunez MI, Abrami AA. Respuesta TH1 en la infección experimental con *Trypanosoma cruzi*. *Med*. 1999;84–90.
101. Mantovani A, Sica A, Sozzani S, Allavena P, Vecchi A, Locati M. The chemokine system in diverse forms of macrophage activation and polarization. *Trends Immunol* [Internet]. 2004 Dec [cited 2022 Sep 29];25(12):677–86. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15530839/>
102. Gutierrez FRS, Mineo TWP, Pavanelli WR, Guedes PMM, Silva JS. The effects

- of nitric oxide on the immune system during *Trypanosoma cruzi* infection. *Mem Inst Oswaldo Cruz* [Internet]. 2009 [cited 2022 Sep 29];104(SUPPL. 1):236–45. Available from: <http://www.scielo.br/j/mioc/a/Z8RttcNvKxRhsTFzMnxfqhL/?lang=en>
103. Aliberti JCS, Cardoso MAG, Martins GA, Gazzinelli RT, Vieira LQ, Silva JS. Interleukin-12 mediates resistance to *Trypanosoma cruzi* in mice and is produced by murine macrophages in response to live trypomastigotes. *Infect Immun* [Internet]. 1996 [cited 2022 Sep 29];64(6):1961–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8675294/>
 104. Goes GR, Rocha PS, Diniz ARS, Aguiar PHN, Machado CR, Vieira LQ. *Trypanosoma cruzi* Needs a Signal Provided by Reactive Oxygen Species to Infect Macrophages. *PLoS Negl Trop Dis* [Internet]. 2016 Apr 1 [cited 2022 Sep 29];10(4):e0004555. Available from: <https://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0004555>
 105. Gomes JAS, Bahia-Oliveira LMG, Rocha MOC, Martins-Filho OA, Gazzinelli G, Correa-Oliveira R. Evidence that development of severe cardiomyopathy in human Chagas' disease is due to a Th1-specific immune response. *Infect Immun* [Internet]. 2003 Mar 1 [cited 2022 Sep 29];71(3):1185–93. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12595431/>
 106. Abel LCJ, Rizzo L V., Ianni B, Albuquerque F, Bacal F, Carrara D, et al. Chronic Chagas' disease cardiomyopathy patients display an increased IFN-gamma response to *Trypanosoma cruzi* infection. *J Autoimmun* [Internet]. 2001 Aug 1 [cited 2022 Sep 29];17(1):99–107. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11488642/>
 107. Pereira IR, Vilar-Pereira G, da Silva AA, Lannes-Vieira J. Severity of chronic experimental Chagas' heart disease parallels tumour necrosis factor and nitric oxide levels in the serum: models of mild and severe disease. *Mem Inst Oswaldo Cruz* [Internet]. 2014 [cited 2022 Sep 29];109(3):289–98. Available from: <http://www.scielo.br/j/mioc/a/GPLLpnYPrKyLBqgHhqP7MfS/?lang=en>
 108. Abrahamsohn I, Coffman R. Cytokine and nitric oxide regulation of the immunosuppression in *Trypanosoma cruzi* infection - PubMed. *J Immunol* [Internet]. 1995 [cited 2022 Sep 29];155(8):3955–63. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7561103/>
 109. Pinge-Filho P, Tadokoro CE, Abrahamsohn I de A. Prostaglandins mediate suppression of lymphocyte proliferation and cytokine synthesis in acute *Trypanosoma cruzi* infection. *Cell Immunol* [Internet]. 1999 Apr 10 [cited 2022 Sep 29];193(1):90–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10202116/>
 110. Cohen DA, Fitzpatrick EA, Barve SS, Guthridge JM, Jacob RJ, Simmerman L, et al. Activation-dependent apoptosis in CD4+ T cells during murine AIDS. *Cell Immunol* [Internet]. 1993 Oct 15 [cited 2022 Sep 29];151(2):392–403. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8104712>
 111. Lopes M, Veiga V, Santos A, Fonseca M, Dos Reis G. Activation-induced CD4+ T cell death by apoptosis in experimental Chagas' disease - PubMed. *J Immunol* [Internet]. 1995 [cited 2022 Sep 29];154(2):744–52. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7814881/>
 112. Freire-De-Lima CG, Nascimento DO, Soares MBP, Bozza PT, Castro-Faria-Neto HC, De Mello FG, et al. Uptake of apoptotic cells drives the growth of a pathogenic trypanosome in macrophages. *Nat* 2000 4036766 [Internet]. 2000 Jan 13 [cited 2022 Sep 29];403(6766):199–203. Available from: <https://www.nature.com/articles/35003208>
 113. Zuñiga E, Motran CC, Montes CL, Yagita H, Gruppi A. *Trypanosoma cruzi* infection selectively renders parasite-specific IgG+ B lymphocytes susceptible to Fas/Fas ligand-mediated fratricide. *J Immunol* [Internet]. 2002 Apr 15 [cited 2022 Sep 29];168(8):3965–73. Available from:

- <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11937553/>
114. Hunter C, Ellis-Neyes L, Slifer T, Kanaly S, Grünig G, Fort M, et al. IL-10 is required to prevent immune hyperactivity during infection with *Trypanosoma cruzi* - PubMed [Internet]. *J Immunol*. 1997 [cited 2022 Sep 29]. p. 3311–33116. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9120288/>
 115. Hölscher C, Mohrs M, Dai WJ, Köhler G, Ryffel B, Schaub GA, et al. Tumor necrosis factor alpha-mediated toxic shock in *Trypanosoma cruzi*-infected interleukin 10-deficient mice. *Infect Immun* [Internet]. 2000 Jul [cited 2022 Sep 28];68(7):4075–83. Available from: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/IAI.68.7.4075-4083.2000>
 116. Soares MBP, Silva-Mota KN, Lima RS, Bellintani MC, Pontes-de-Carvalho L, Ribeiro-dos-Santos R. Modulation of chagasic cardiomyopathy by interleukin-4: dissociation between inflammation and tissue parasitism. *Am J Pathol* [Internet]. 2001 [cited 2022 Sep 29];159(2):703–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11485928/>
 117. Golgher D, Gazzinelli RT. Innate and acquired immunity in the pathogenesis of Chagas disease. *Autoimmunity* [Internet]. 2004 Aug [cited 2022 Sep 29];37(5):399–409. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15621564/>
 118. Silva JS, Twardzik DR, Reed SG. Regulation of *Trypanosoma cruzi* infections in vitro and in vivo by transforming growth factor beta (TGF-beta). *J Exp Med*. 1991;174(3):539–45.
 119. Silva JS, Morrissey PJ, Grabstein KH, Mohler KM, Anderson D, Reed SG. Interleukin 10 and interferon gamma regulation of experimental *Trypanosoma cruzi* infection. *J Exp Med* [Internet]. 1992 Jan 1 [cited 2022 Sep 28];175(1):169–74. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1730915/>
 120. Teixeira ARL, Nascimento RJ, Sturm NR. Evolution and pathology in chagas disease--a review. *Mem Inst Oswaldo Cruz* [Internet]. 2006 [cited 2022 Sep 29];101(5):463–91. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17072450/>
 121. Zhang L, Tarleton RL. Parasite persistence correlates with disease severity and localization in chronic Chagas' disease. *J Infect Dis* [Internet]. 1999 [cited 2022 Sep 29];180(2):480–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10395865/>
 122. Tarleton RL, Zhang L. Chagas disease etiology: autoimmunity or parasite persistence? *Parasitol Today* [Internet]. 1999 Mar 1 [cited 2022 Sep 29];15(3). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10322321/>
 123. Braga MS, Lauria-Pires L, Argañaraz ER, Nascimento RJ, Teixeira ARL. Persistent infections in chronic Chagas' disease patients treated with anti-*Trypanosoma cruzi* nitroderivatives. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* [Internet]. 2000 [cited 2022 Sep 29];42(3):157–61. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10887376/>
 124. Lauria-Pires L, Braga MS, Vexenat AC, Nitz N, Simões-Barbosa A, Tinoco DL, et al. Progressive chronic Chagas heart disease ten years after treatment with anti-*Trypanosoma cruzi* nitroderivatives. *Am J Trop Med Hyg* [Internet]. 2000 [cited 2022 Sep 29];63(3–4):111–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11388500/>
 125. Gironès N úria, Fresno M. Etiology of Chagas disease myocarditis: Autoimmunity, parasite persistence, or both? *Trends Parasitol* [Internet]. 2003 Jan 1 [cited 2022 Sep 29];19(1):19–22. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12488221/>
 126. Leon JS, Engman DM. The significance of autoimmunity in the pathogenesis of Chagas heart disease. *Front Biosci* [Internet]. 2003 [cited 2022 Sep 29];8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12700038/>
 127. LEVITUS G, HONTEBEYRIE-JOSKOWICZ M, VAN REGENMORTELM HV, LEVIN MJ. Humoral autoimmune response to ribosomal P proteins in chronic Chagas heart disease. *Clin Exp Immunol* [Internet]. 1991 [cited 2022 Sep 29];85(3):413–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1893622/>

128. Abel LCJ, Kalil J, Cunha-Neto E. Molecular mimicry between cardiac myosin and *Trypanosoma cruzi* antigen B13: identification of a B13-driven human T cell clone that recognizes cardiac myosin. *Brazilian J Med Biol Res = Rev Bras Pesqui medicas e Biol* [Internet]. 1997 [cited 2022 Sep 29];30(11):1305–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9532238/>
129. Gazzinelli RT, Rodrigues MM, Almeida IC, Travassos LR. Role of parasite surface glycoconjugates on induction/regulation of immune responses and inflammation, elicited during *Trypanosoma cruzi* infection: potential implications on pathophysiology of Chagas" disease. *Ciênc cult (São Paulo)*. 1999;411–28.
130. Dutra WO, Colley DG, Pinto-Dias JC, Gazzinelli G, Brener Z, Pereira MES, et al. Self and nonself stimulatory molecules induce preferential expansion of CD5+ B cells or activated T cells of chagasic patients, respectively. *Scand J Immunol* [Internet]. 2000 [cited 2022 Sep 29];51(1):91–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10632982/>
131. Dutra WO, Rocha MOC, Teixeira MM. The clinical immunology of human Chagas disease. *Trends Parasitol* [Internet]. 2005 Dec [cited 2022 Sep 29];21(12):581–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16236550/>
132. Kierszenbaum F. Views on the autoimmunity hypothesis for Chagas disease pathogenesis. *FEMS Immunol Med Microbiol* [Internet]. 2003 Jun 1 [cited 2022 Sep 29];37(1):1–11. Available from: <https://academic.oup.com/femspd/article/37/1/1/630551>
133. Morris SA, Tanowitz HB, Wittner M, Bilezikian JP. Pathophysiological insights into the cardiomyopathy of Chagas' disease. *Circulation* [Internet]. 1990 [cited 2022 Sep 29];82(6):1900–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2242515/>
134. Cunha-Neto E, Chevillard C. Chagas disease cardiomyopathy: Immunopathology and genetics [Internet]. Vol. 2014, *Mediators of Inflammation*. Hindawi Limited; 2014 [cited 2020 Oct 20]. Available from: </pmc/articles/PMC4152981/?report=abstract>
135. Marin-Neto JA, Cunha-Neto E, Maciel BC, Simões M V. Pathogenesis of chronic Chagas heart disease. *Circulation* [Internet]. 2007 [cited 2022 Sep 29];115(9):1109–23. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17339569/>
136. Kayama H, Takeda K. The innate immune response to *Trypanosoma cruzi* infection. *Microbes Infect* [Internet]. 2010 Jul [cited 2022 Oct 1];12(7):511–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20348008/>
137. Pellegrini A, Guiñazu N, Giordanengo L, Cano RC, Gea S. The role of Toll-like receptors and adaptive immunity in the development of protective or pathological immune response triggered by the *Trypanosoma cruzi* protozoan. *Future Microbiol* [Internet]. 2011 Dec [cited 2022 Oct 1];6(12):1521–33. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22122446/>
138. Machado FS, Dutra WO, Esper L, Gollob KJ, Teixeira MM, Factor SM, et al. Current understanding of immunity to *Trypanosoma cruzi* infection and pathogenesis of Chagas disease. *Semin Immunopathol* [Internet]. 2012 Nov [cited 2022 Oct 1];34(6):753–70. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23076807/>
139. Dutra WO, Menezes CAS, Magalhães LMD, Gollob KJ. Immunoregulatory networks in human Chagas disease. *Parasite Immunol* [Internet]. 2014 Aug 1 [cited 2022 Oct 1];36(8):377. Available from: </pmc/articles/PMC4143493/>
140. Hardison JL, Wrightsman RA, Carpenter PM, Lane TE, Manning JE. The chemokines CXCL9 and CXCL10 promote a protective immune response but do not contribute to cardiac inflammation following infection with *Trypanosoma cruzi*. *Infect Immun* [Internet]. 2006 Jan [cited 2022 Oct 3];74(1):125–34. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16368965/>

CAPÍTULO 3

TOXOPLASMOSE E SISTEMA NERVOSO CENTRAL: NOVOS OLHARES PARA INTERAÇÕES CELULARES E NEUROLÓGICAS

Letícia Cirelli Ruiz¹
Hugo Felix Perini²
Lúcio Roberto Cançado Castellano³
Marcos Vinícius da Silva⁴

¹Mestranda do Programa de Pós-graduação em Fisiologia. Universidade de São Paulo - USP.

²Estágio Pós-doutoral pelo Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde. Universidade Federal do Triângulo Mineiro - UFTM

³Professor efetivo da Escola Técnica de Saúde. Universidade Federal da Paraíba- UFPB.

⁴Professor efetivo do Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia. Universidade Federal do Triângulo Mineiro - UFTM.

RESUMO

A toxoplasmose afeta cerca de um terço da população mundial e é causada pelo parasito intracelular obrigatório *Toxoplasma gondii*. O parasita apresenta três principais cepas que diferem em virulência pela ação de proteínas secretadas durante o processo de invasão da célula hospedeira pelo complexo apical (composto por um conoide, organelas compostas por micronemas, róptrias, anéis polares e conjuntos de microtúbulos). Os mecanismos envolvidos na invasão de células do sistema nervoso central do hospedeiro envolvem o cruzamento paracelular, transcelular e o mecanismo conhecido como "Cavalo de Tróia", onde há infecção de células imunes. Ao atravessar as barreiras hematoencefálica e sangue-líquido cefalorraquidiano o *T. gondii* provoca no hospedeiro um quadro clínico de meningoencefalite, ao infectar as meninges, ou encefalite, ao infectar o parênquima cerebral. Em indivíduos imunocomprometidos, a ausência de tratamento pode levar a complicações do quadro clínico e a morte do paciente. Neste capítulo abordaremos a íntima relação do *T. gondii* com o sistema imune humano e as complicações da infecção do sistema nervoso central.

Palavras-chave: Neuroparasitose, sistema imune, *Toxoplasma gondii*, esquizofrenia.

1. TOXOPLASMA GONDII

1.1. Histórico e ciclo de vida

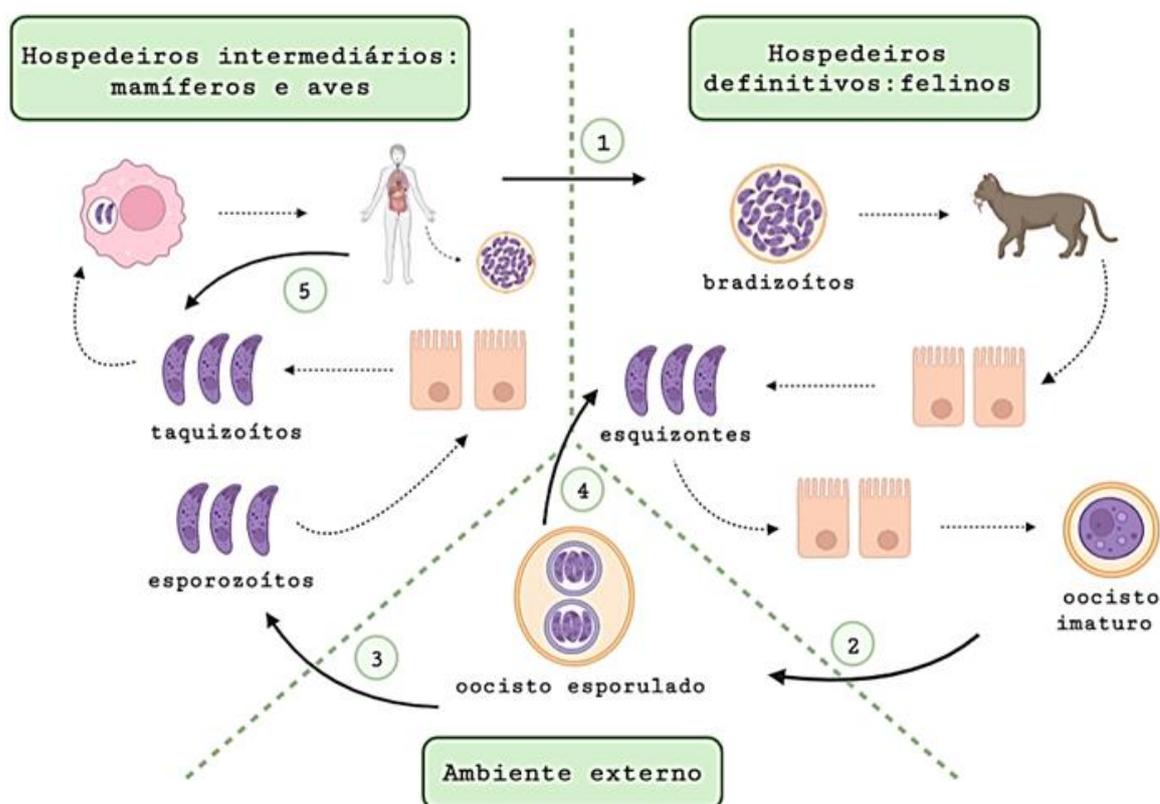
Em 1908, Nicolle e Manceaux descobriram um parasito com forma de um arco (Grego: *toxon*) moldado (Grego: *plasma*) em um roedor (*Ctenodactylus gundi*) do Norte da África. De forma independente, Splendore em 1908 descreveu o mesmo parasito em coelhos (1). *Toxoplasma gondii* é um parasito intracelular obrigatório pertencente ao filo Apicomplexa e causador da doença denominada toxoplasmose, que acomete mais de um terço da população mundial. A doença é considerada grave e de caráter oportunista, sendo de principalmente relevante em indivíduos imunocomprometidos (2).

O ciclo de vida desse parasito pode ser dividido em duas fases principais, (1) ciclo sexuado, tendo os felinos como hospedeiros definitivos e o (2) ciclo assexuado com qualquer animal homeotérmico como hospedeiro intermediário, incluindo seres humanos (Fig. 1). Felinos tornam-se hospedeiros definitivos ao ingerirem alimentos ou água contaminados por oocistos do parasito ou carne crua contaminada com bradizoítos, que se multiplicam de forma sexuada no intestino desses animais, iniciando a infecção. A infecção é, na maioria dos casos, assintomática, e após 7 a 15 dias oocistos imaturos contendo esporozoítos são eliminados nas fezes, passando por maturação no ambiente externo para tornarem-se esporulados. Seres humanos e outros animais tornam-se hospedeiros intermediários do parasito por transmissão vertical (placentária) ou horizontal, ao ingerirem água ou alimentos contaminados por estes oocistos esporulados ou carne crua contendo bradizoítos. Essas formas invadem a mucosa do sistema gastrointestinal e diferenciam-se em taquizoítos, estes se reproduzem de forma assexuada no interior das células dentro de uma estrutura denominada vacúolo parasitário.

O transporte de taquizoítos para outros órgãos e tecidos como cérebro, retina, músculos esqueléticos, coração e testículos, é realizado pela corrente sanguínea e sistema linfático. A infecção desses sítios leva a lesões teciduais e lise das células infectadas devido à alta taxa de multiplicação do parasita. O quadro clínico de sintomas mimetiza uma leve gripe (mal-estar geral, febre) e

inchaço dos linfonodos, características da fase aguda da doença. Na presença de uma intensa resposta imune celular em um hospedeiro imunocompetente, os taquizoítos têm sua multiplicação diminuída e se transformam em bradizoítos dentro dos vacúolos parasitários dos tecidos que se encontram, forma dormente intracelular da infecção e característica da fase crônica da doença (1-4).

Figura 1 - Ciclo de vida do *Toxoplasma gondii* e as diferentes formas entre os hospedeiros



O hospedeiro definitivo (felinos) pode contaminar-se com bradizoítos de *T. gondii* através do consumo de carne de animais contaminados (1) ou com oocistos esporulados através de água e alimentos contaminados (4), em seus enterócitos ocorre a reprodução sexuada com macro e microgametas, liberando nas fezes os oocistos imaturos que sofrem maturação no ambiente externo (2). Os hospedeiros definitivos (mamíferos e aves) podem contaminar-se com os oocistos esporulados através de água e alimentos contaminados (3) e em seus enterócitos os esporozoítos reproduzem-se de forma assexuada dando origem aos taquizoítos, que atingem diversos órgãos através de células fagocíticas, transformando-se na forma latente de cistos com bradizoítos; esses cistos podem romper e a forma circulante de taquizoíto voltar a causar o quadro infeccioso nesses hospedeiros (5).

Fonte: Autoria própria, criado com BioRender.com.

1.2. Formas

O *T. gondii* é um parasito esporozoário morfologicamente muito próximo dos coccídios e plasmódios. Isso se deve a presença do complexo apical, que permite a invasão das células de seu hospedeiro. Sua estrutura possui uma extremidade mais atenuada que a outra, medindo de 4 a 8 μm de comprimento por 2 a 4 μm de largura, núcleo central ou mais próximo da extremidade posterior com forma esférica, oval ou alongada com a cromatina dispersa em rede. Em sua superfície existem antígenos específicos que somente são encontrados em cada etapa do processo de reprodução (SAG1 encontrado em taquizoítos e SAG3 encontrado durante a aderência e penetração da célula hospedeira). O complexo apical possui estruturas secretoras que auxiliam no processo de invasão celular por endocitose, como rôptrias e micronemas, que juntamente com o esforço do parasito fazem com que este seja fagocitado por células do sistema imune do hospedeiro, principalmente mononucleares.

Quando um felídeo consome carne vinda de um animal com toxoplasmose a forma evolutiva ingerida normalmente é a de cistos com bradizoítos. A membrana do cisto se dissolve no trato gastrointestinal do animal e no intestino delgado os bradizoítos penetram nos enterócitos, realizando o processo de reprodução assexuada esquizôntica, que pode perdurar por vários ciclos. Alguns esquizontes formados diferenciam-se em gamontes, produzindo micro e macro-gametas, que se unem na formação de um zigoto e realizam o ciclo sexuado chamado de gametogônico. Os oocistos formados saem nas fezes antes de completarem seu desenvolvimento, que só termina no ambiente externo de 2 a 5 dias após a evacuação. A presença de oxigênio permite com que se forme dentro dos oocistos dois esporocistos, cada um com quatro esporozoítos dentro e uma massa de citoplasma residual. O oocisto maduro e infectante entra em contato com os hospedeiros intermediários (homem e outros animais homeotérmicos) através da ingestão de alimentos e água contaminados (Fig. 1).

A membrana externa do parasito é destruída no trato gastrointestinal, os esporozoítos penetram os enterócitos e se reproduzem de forma assexuada, processo denominado endogenia, durante vários ciclos e dentro de uma

estrutura intracelular chamada de vacúolo parasitário até o rompimento da célula devido a alta carga parasitária, formando assim os taquizoítos. Essas formas são consideradas circulantes e podem atingir outros órgãos do hospedeiro (principalmente o sistema nervoso central) através da ação das células imunes fagocitárias mononucleares e nos tecidos, influenciados por uma intensa resposta imune celular, transformam-se em bradizoítos que ficam circundados por um resistente cisto tecidual, que pode sobreviver durante anos. Em um cenário de baixa atividade da resposta imune, esses bradizoítos podem voltar à forma de taquizoítos circulantes e reativar a infecção no hospedeiro (2-5).

O grande sucesso de sobrevivência e taxa de infecção desse parasito deve-se ao fato da habilidade de transição da forma de taquizoíto para um cisto tecidual composto por bradizoítos. O sucesso do controle da infecção através da resposta imune celular é comprovado por apenas 30% dos indivíduos infectados apresentarem um quadro clínico sintomático da toxoplasmose (7).

1.3. Cepas e mecanismos de virulência

Uma vez que a toxoplasmose é uma zoonose capaz de infectar diferentes hospedeiros homeotérmicos intermediários, o surgimento de diferentes cepas do parasito é esperado (6). No ano de 2016, 62 cepas de *T. gondii* já haviam sido sequenciadas e analisadas, os diferentes genomas podem sugerir diferentes ancestralidades, que podem influenciar na transmissão do parasito, na predileção pelo hospedeiro e na patogenicidade da infecção. Ao comparar os diferentes genomas descobertos, descobriu-se que o parasito é capaz de produzir diferentes conjuntos de substâncias que são secretadas durante o processo de invasão celular, o que pode influenciar diretamente na escolha do hospedeiro, no sucesso da infecção e na prevalência da doença (8).

Estudos estruturais populacionais revelaram que dependendo da região e do país uma linhagem principal de *T. gondii* prevalece sobre as outras. Habitantes da Europa Ocidental e América do Norte são infectados, principalmente, por cepas do tipo II. As cepas do tipo I e III são mais raras, mas estudos também evidenciam a capacidade das mesmas de serem infectantes e poderem causar toxoplasmose em humanos (1,9). Pesquisas moleculares e genéticas em milhares de cepas de *T. gondii* ao redor do mundo evidenciaram

que o genótipo que prevalece nas infecções na América do Sul é mais diverso enquanto o que prevalece na América do Norte (tipo II) é derivado de uma linhagem clonal. Estudos experimentais com camundongos evidenciaram que as cepas presentes na América do Sul são mais virulentas, indicando uma forte relação do genótipo do parasito com o grau de virulência causado pelo mesmo no hospedeiro (6).

Ensaio experimentais *in vivo* com camundongos, que se iniciaram há mais de duas décadas, mostram que combinando-se o genoma de *T. gondii* e as bases moleculares das substâncias secretadas que permitem a invasão de células do hospedeiro tem-se, em parte, uma noção do grau de virulência da infecção. As linhagens mais comuns do parasita que causam infecção ao redor do mundo são as cepas I, II e III. Testes laboratoriais confirmam que a cepa I induz infecção aguda intensa em camundongos, enquanto a cepa II infecção intermediária, que responde bem a ação do sistema imune inato. Já a cepa III se mostrou não virulenta para os roedores analisados (10).

O principal mecanismo de virulência que diferencia as três principais cepas de *T. gondii* parece ser o papel das proteínas secretadas durante o processo de invasão da célula hospedeira pelo complexo apical. Esse complexo é composto, principalmente, por um conoide, organelas compostas por micronemas, rôptrias, anéis polares e conjuntos de microtúbulos. O parasito é capaz de secretar um amplo espectro de proteínas que auxiliam no processo de invasão e de regulação da expressão gênica intracelular na produção de novas proteínas, incluindo novas rôptrias, que participam da formação do vacúolo parasitário dentro do citoplasma das células invadidas, auxiliando na criação de um ambiente seguro para a multiplicação assexuada do parasita e sua disseminação para outros órgãos do hospedeiro.

O tipo de rôptria expressada por *T. gondii* pode indicar o grau de virulência que o mesmo apresenta para o hospedeiro, já que esta interage diretamente com o sistema imune inato durante o estabelecimento de uma resposta imune inicial. A presença ativa ou inativa da rôptria 5 (ROP5) nas cepas I e II, respectivamente, desempenha um importante papel para determinar o nível de virulência que as duas cepas possuem. Além disso, a presença da rôptria 18 (ROP18) nas linhagens I e II é de extrema importância, já que esta possui uma importante função de fosforilação das GTPases relacionadas a imunidade, bloqueando o

seu recrutamento e a prevenção da eliminação de macrófagos de parasitas intracelulares como o *T. gondii* (11).

2. INFECÇÃO DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL

2.1. Mecanismos de invasão

Diversos patógenos possuem a capacidade de se infiltrar em vários órgãos e tecidos do corpo humano, incluindo o sistema nervoso central, desde patógenos unicelulares, como protozoários e bactérias, até patógenos pluricelulares como helmintos. Estes podem atravessar as junções celulares que formam as barreiras hematoencefálica e sangue-líquido cefalorraquidiano¹ através do transporte eficiente realizado pelos vasos sanguíneos ou linfáticos, desde o sítio inicial da infecção, que normalmente são os sistemas respiratório e digestivo, até atingirem o tecido cerebral e medular. Para o sucesso de invasão desses tecidos, esses patógenos possuem a capacidade de evasão do sistema imune inato e adaptativo do hospedeiro tanto do sangue periférico quanto do sistema nervoso central (3).

Como mencionado nas seções anteriores, após o hospedeiro intermediário ingerir os oocistos de *T. gondii* através de água e alimento contaminados, sua membrana externa é destruída pelas enzimas digestivas e os esporozoítos são liberados no intestino. Por se tratar de um protozoário intracelular obrigatório, esse parasita necessita invadir os enterócitos para iniciar seu ciclo reprodutivo e, conseqüentemente, realizar um eficiente processo de evasão do sistema imune local. A semelhança entre o processo de invasão da barreira celular intestinal com a invasão da barreira hematoencefálica pode explicar o sucesso da infecção cerebral causada por *T. gondii* (13).

Protozoários do filo Apicomplexa possuem mecanismos próprios para a invasão do sistema nervoso central. No caso específico do *T. gondii*, três mecanismos principais foram propostos para explicar a invasão do sistema

¹ Barreira hematoencefálica e sangue-líquido cefalorraquidiano são termos utilizados para descrever as propriedades únicas que compõem a microvasculatura do SNC, separando-o da corrente sanguínea sistêmica. Os vasos desse tecido são não fenestrados e contínuos, compostos por células epiteliais com junções oclusivas e características únicas em relação às células epiteliais de outros tecidos, que regulam a permeabilidade de moléculas, íons, nutrientes e metabólitos entre o SNC e o sangue [12].

nervoso central do hospedeiro: (1) cruzamento paracelular, (2) cruzamento transcelular e o (3) mecanismo conhecido como “Cavalo de Tróia” ou infecção de células imunes (3,14).

O mecanismo de cruzamento paracelular (1) deve-se a maquinaria bem desenvolvida do complexo apical desse parasita, em que o conjunto actina-miosina promove um movimento denominado “motilidade de deslizamento”, que permite atravessar as junções celulares que compõem as barreiras que protegem o sistema nervoso central. O mecanismo de cruzamento transcelular (2) envolve a habilidade de invasão celular pelos trofozoítos e formação do vacúolo parasitário para replicação assexuada, isolando os parasitas das enzimas lisossomais intracelulares. O aumento da carga parasitária intracelular provoca a lise celular e consequente invasão do sistema nervoso central uma vez que a lise ocorre no lado basolateral das células que compõem a barreira hematoencefálica. O mecanismo conhecido como “Cavalo de Tróia” ou infecção das células imunes (3) consiste no transporte dos trofozoítos da corrente sanguínea para o sistema nervoso central através da infecção de células fagocitárias do sistema imune, como monócitos e células dendríticas, que carregam os parasitas até serem lisadas pelo aumento de carga parasitária, liberando os trofozoítos que infectam neurônios. Além disso, o parasita possui a habilidade de romper as junções intercelulares endoteliais e migrar entre as células do tecido após a saída dos leucócitos infectados (3,14,15).

O grande sucesso de invasão de qualquer célula nucleada do hospedeiro, incluindo neurônios, dá-se pela maquinaria que forma o complexo apical, principalmente a presença das proteínas actina e miosina e ação de invasão proteolítica das proteínas produzidas pelas róptrias e micronemas. Após atravessarem as barreiras que protegem o sistema nervoso central, os taquizoítos penetram nos neurônios e depois de um número limitado de replicações ainda desconhecidas, transformam-se em bradizoítos, que podem persistir em um estado dormente e de baixa replicação a vida toda do hospedeiro (1,15,16). Além do complexo apical desenvolvido, a cepa de *T. gondii* envolvida na infecção pode explicar a presença de bradizoítos no sistema nervoso central, já que o parasita não possui nenhuma predileção confirmada por esse órgão. Cepas do tipo II com presença do gene que codifica a proteína ROP18 parecem

ser mais virulentas e sugerem um tropismo maior com o sistema nervoso central em comparação com outras cepas sem a presença da ROP18 (1,3).

2.2. Danos ao sistema nervoso central

Ao atravessar as barreiras hematoencefálica e sangue-líquido cefalorraquidiano por meio de um dos mecanismos de invasão, o *T. gondii* provoca no hospedeiro um quadro clínico de meningoencefalite, ao infectar as meninges, ou encefalite, ao infectar o parênquima cerebral. Em indivíduos imunocomprometidos, a ausência de tratamento pode levar a complicações do quadro clínico e a morte do paciente (1). Nas primeiras 24 horas de infecção e replicação dos taquizoítos no interior de neurônios, células da glia e astrócitos, o sistema imune do hospedeiro inicia uma série de mecanismos que induzem uma resposta imune efetiva, que pode gerar, como consequência, febre e dores de cabeça (17). Em pacientes com síndrome da deficiência imune adquirida (AIDS) ou em tratamento quimioterápico, por exemplo, os sintomas podem evoluir para confusão mental, problemas de coordenação motora e deficiências respiratórias e visuais (18).

Os maiores danos associados à toxoplasmose cerebral, considerada uma doença oportunista, estão relacionados a hospedeiros imunocomprometidos. Em pacientes soropositivos para HIV, a baixa contagem de células T CD4+ (menor que 200 células/mm³) faz com que bradizoítos voltem a forma de taquizoítos, que com a baixa resposta imune não possuem a replicação controlada, destruindo mais rapidamente os neurônios causando necrose tecidual, o que na ausência de tratamento adequado pode levar a morte. Mais raramente, em indivíduos com AIDS, pode-se observar infecção e inflamação do tecido da medula espinhal. Outro quadro clínico importante observado em pacientes com AIDS com toxoplasmose aguda é desencadeado pelo início da terapia viral, responsável por aumentar o número de células T CD4+ circulantes, que passam a reconhecer o antígeno do *T. gondii* no tecido cerebral e produzem uma resposta imune exacerbada com a produção em larga escala de citocinas, levando a novos sintomas da toxoplasmose cerebral (1).

Além do sistema nervoso central, os taquizoítos infectam de forma semelhante a retina do hospedeiro, causando um quadro agudo de

retinocoroidite, que sem tratamento pode levar à cegueira irreversível. A passagem de infecção aguda para crônica é caracterizada pelo encistamento tecidual dos taquizoítos que se transformam em bradizoítos e a presença desses cistos no parênquima cerebral e retina levam a danos irreversíveis teciduais para o hospedeiro (1).

2.3. Doenças do sistema nervoso desencadeadas pela infecção

Pesquisas recentes em seres humanos com toxoplasmose cerebral indicam uma correlação com a manifestação de transtornos psiquiátricos, principalmente esquizofrenia, transtorno bipolar e depressão. Estudos de caso-controle com pacientes portadores de esquizofrenia e depressão mostraram uma alta prevalência dos mesmos serem soropositivos para toxoplasmose, além de relatos de casos em que o tratamento farmacológico para depressão funcionar somente após o tratamento para o quadro infeccioso de toxoplasmose (1,19,20).

A esquizofrenia é um grave transtorno psiquiátrico que acomete 1% da população mundial. Os primeiros sintomas, sendo o mais prevalente a psicose, aparecem no início da vida adulta e podem persistir a vida toda do paciente. Até hoje, nenhum evento único foi comprovadamente relacionado como causador da manifestação esquizofrênica, mas sim uma associação de eventos, como: predisposição genética, distúrbios durante o neurodesenvolvimento e fatores ambientais, como a infecção cerebral por *T. gondii*. A evidência que mais comprova esse fato é que a infecção por esse parasita é capaz de modular a produção de neurotransmissores importantes, como GABA, dopamina, glutamato e serotonina que também são importantes no transtorno esquizofrênico. Além disso, estudos recentes correlacionam a presença de infecções maternas como um fator de risco para o desenvolvimento da esquizofrenia em crianças, incluindo a toxoplasmose (20).

Além de transtornos psiquiátricos, a toxoplasmose cerebral pode desencadear doenças oculares crônicas, que sem tratamento adequado podem levar a um quadro irreversível de perda de visão. Em casos graves pode-se observar inflamação da retina, humor vítreo e coróide, além de uma vasculite importante (21). A toxoplasmose ocular pode ser observada em casos de

transmissão horizontal, mas possui maior prevalência em casos de transmissão vertical e em pacientes imunocomprometidos (22).

2.4. Mecanismos observados em humanos e cobaias

As cobaias mais utilizadas em laboratórios para o estudo da infecção pelo protozoário *T. gondii* são os camundongos, hospedeiros intermediários do parasita. Mudanças de comportamento após a infecção dos mesmos sugerem que estas são induzidas para aperfeiçoar a transmissão para os hospedeiros definitivos, os felinos, e garantir a sobrevivência do protozoário (4). Entre essas mudanças em roedores, pode-se destacar a perda de memória, aumento ou diminuição da função motora e mudanças comportamentais, como: perda da aversão a urina de gato, diminuição do medo de locais abertos e propensão a experimentar novos alimentos. As mudanças comportamentais confirmam a teoria de aperfeiçoamento da transmissão do parasita para os hospedeiros definitivos.

Os mecanismos que o *T. gondii* utiliza para causar essas mudanças não são tão bem definidos, mas sugere-se que estas possam depender do local anatômico que os cistos estão localizados, além destes realizarem uma modulação da produção de neurotransmissores e uma modulação da resposta imune. Em seres humanos, mudanças comportamentais também foram observadas em estudos de toxoplasmose cerebral, com voluntários e revisão de artigos de relato de casos. Dentre essas mudanças pode-se observar um aumento de comportamentos agressivos, aumento do risco de acidentes por direção de veículos motorizados, maior propensão para o consumo de bebidas alcoólicas, diminuição do tempo de reação a estímulos e comportamento suicida (23).

3. MECANISMOS DA RESPOSTA IMUNE

3.1. Mecanismos da resposta imune do hospedeiro

Na maior parte dos estudos *in vivo* laboratoriais que estudam os mecanismos da resposta imune dos hospedeiros intermediários frente à toxoplasmose, é utilizada a cepa II de *T. gondii*, que possui uma virulência

intermediária. Esses estudos evidenciam a grande importância da resposta imune inata no combate à infecção aguda, o que permite o controle da infecção e a formação de uma boa resposta imune adaptativa em hospedeiros imunocompetentes (10).

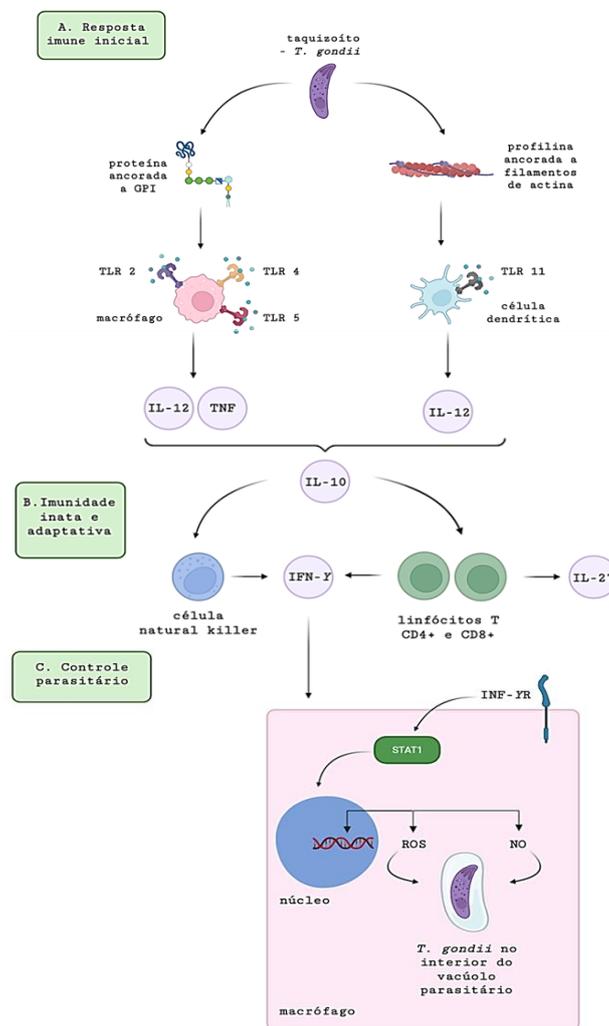
Durante o período inicial da infecção, causada pela entrada do *T. gondii* no organismo do hospedeiro e a invasão de enterócitos, as primeiras células imunes a responderem são as células dendríticas (DCs), monócitos e células *natural killer* (NK). A interação da profilina do parasita, uma proteína que impede a polimerização da actina do complexo apical e considerada um padrão molecular associado a patógeno (PAMP), com os receptores Toll-like 11 (TLR11) em DCs é importante para a produção pelo hospedeiro da citocina IL-12 (interleucina-12), que possui caráter pró-inflamatório. Além de estimular a produção de IL-12, os macrófagos também induzem a produção do fator de necrose tumoral (TNF- α), um cofator na atividade antimicrobiana em resposta à detecção mediada por TLR2, TLR4 e TLR5 de proteínas do parasita ancoradas em glicosilfosfatidilinositol (GPI).

A resposta imune resulta na produção de interferon- γ (IFN- γ) a partir de células *natural killer* (NK) através da resposta inata e, eventualmente, de linfócitos T CD4+ e CD8+ como resposta adaptativa. A produção das citocinas IL-10 e IL-27 também são fundamentais para modular essas vias e prevenir a superprodução de citocinas características dessa resposta imune de perfil Th1². A produção de IFN- γ durante a fase inata e as fases adaptativas é responsável por ativar as células que controlam a infecção parasitária. IFN- γ propaga um sinal através de um receptor IFN- γ de superfície (IFN γ R) para ativar o transdutor de sinal e ativador da transcrição 1 (STAT1), um fator de transcrição nuclear que controla a expressão de muitos genes, relacionados a proliferação celular, sobrevivência, vias apoptóticas e diferenciação celular. Em resposta à atividade de STAT1, monócitos e macrófagos regulam a produção de óxido nítrico (NO) e espécies reativas de oxigênio (ROS) intracelulares, ambos contribuem para o controle do *T. gondii* localizado no vacúolo parasitário (Fig. 2) (10,24-27).

² Perfil de resposta imune Th1 diz respeito ao combate de patógenos intracelulares, através da presença da citocina IL-12 que modula a resposta imune adaptativa, gerando linfócitos auxiliares Th1. As citocinas produzidas por estas células, como o IFN- γ , são responsáveis pela ativação de macrófagos e, conseqüentemente, o controle de microrganismos intracelulares através da produção de espécies reativas de oxigênio e óxido nítrico [10].

Essa resposta imune de perfil Th1 é característica de patógenos intracelulares e experimentos *in vivo* com camundongos deficientes na produção de IL-12 e IFN- γ demonstraram a ineficácia do sistema imune em controlar a infecção na fase aguda causada pelo *T. gondii*, a qual se agrava rapidamente. Pode-se concluir que o principal mecanismo imune envolvido no controle da toxoplasmose e que garante que a maioria dos hospedeiros infectados não desenvolvam a forma grave da doença é a produção precoce de IL-12 e IFN- γ (28).

Figura 2 - Mecanismos das respostas imune inata e adaptativa do hospedeiro contra *Toxoplasma gondii*



Modulação imune causada pela toxoplasmose nos hospedeiros: a resposta imune inicial é mediada, principalmente, pela presença de macrófagos e células dendríticas, com a produção importante da citocina IL-12 e TNF- α (A), a resposta imune adaptativa consiste, principalmente, no recrutamento de linfócitos T CD4 + e CD8 + e células natural killer, que produzem a citocina IFN- γ (B), responsável por ativar o transdutor de sinal e ativador de transcrição (STAT 1) em macrófagos, que medeia a produção de espécies reativas de oxigênio e óxido nítrico, importantes agentes no controle parasitário intracelular (C).

Fonte: Autoria própria, 2022. Criado com Bio.Render.com.

3.2. Importância dos tipos celulares

A eficiência da resposta imune inata do hospedeiro permite com que uma boa resposta imune adaptativa se forme, levando ao aparecimento da forma latente do parasita chamada de bradizoíto (10). O recrutamento de linfócitos T CD4+ e T CD8+ a partir da presença de IFN- γ é crucial no controle da infecção e sua transição para a forma crônica (29).

A resposta imune mediada por células é a principal responsável por manter um controle entre a relação parasito-hospedeiro na fase crônica da doença, especificamente a presença de células T CD8+. Estudos mostram que camundongos submetidos a tratamento com anticorpos anti-CD4+ e anti-CD8+ possuem 100% de mortalidade por toxoplasmose crônica pela reativação da forma latente de bradizoítos para a forma circulante de taquizoítos, mas se submetidos somente ao tratamento com anticorpos anti-CD4+ não se observa efeito aumentado da mortalidade, contrastando com o resultado de aumento de mortalidade ao administrar o tratamento com anticorpos anti-CD8+ (29).

No quadro de toxoplasmose cerebral, não se sabe ao certo quais sinais induzem uma resposta e migração das células T CD8+ para o parênquima cerebral. Estudos de monitoramento da presença das mesmas em camundongos com toxoplasmose indicam uma população heterogênea de células, que interagem entre si e também com os cistos contendo bradizoítos. Além disso, já foi observado em quadros crônicos de toxoplasmose cerebral que juntamente com as células T CD8+ as DCs realizam intensa migração para o SNC, podendo associá-las a um possível papel citotóxico e a uma possível produção de quimiocinas responsáveis por manter uma elevada população de células T CD8+ no parênquima cerebral, fazendo com que o parasita permaneça em sua forma latente e, conseqüentemente, controlando a infecção (29).

3.3. Modulação e evasão do sistema imune do hospedeiro

O complexo apical bem desenvolvido do *T. gondii*, que é diretamente influenciado pelo genoma do parasito, permite com que este realize de forma bem-sucedida a invasão de qualquer célula nucleada do hospedeiro. Após a invasão, a formação de um vacúolo parasitário no interior dessas células permite

com que o parasita não entre em contato com enzimas proteolíticas lisossomais e realize o processo de replicação assexuada de forma segura até lisar a célula que se encontra. A resposta imune inata do hospedeiro limita a disseminação da infecção ao entrar em contato com os parasitas no momento da lise celular e dá chance para formação de uma boa resposta imune adaptativa. Ao decorrer do quadro infeccioso agudo, a resposta imune do hospedeiro leva ao aparecimento de uma forma crônica latente do parasita chamada de bradizoítos, que não são erradicados pela resposta imune mediada por células (10).

Com o aprimoramento genético de novas cepas de *T. gondii* devido ao sucesso da transmissão e infecção em vários hospedeiros intermediários, várias características de evasão do sistema imune desses hospedeiros foram adquiridas, como: (1) a capacidade de modulação genética que bloqueia a transcrição dos genes que são induzidos pelo IFN- γ , impedindo uma resposta imune inata efetiva; (2) modulação das vias que levam as células parasitadas a apoptose, um importante mecanismo de controle de infecções causadas por patógenos intracelulares como o *T. gondii*, em que as cepas I e II de são capazes de modular a via apoptótica intrínseca impedindo a liberação de moléculas de citocromo c pela mitocôndria e a via extrínseca protegendo a célula parasitada da ação de moléculas apoptóticas como a actinomicina D e; (3) evasão de morte causada por fagocitose de células como macrófagos e neutrófilos a partir da modulação negativa da produção de ROS, um importante sinalizador de fagocitose (30).

Pode-se atribuir o grande sucesso do *T. gondii* de causar infecção em diversos hospedeiros, incluindo seres humanos, a sua capacidade de invasão de qualquer célula nucleada de animais homeotérmicos. Além disso, os aprimoramentos genéticos para evasão e modulação do sistema imune desses hospedeiros contribuem para que a toxoplasmose acometa mais de um terço da população mundial. A formação de cistos teciduais em diversos órgãos, como o cérebro, é de grande importância para entender como a relação parasita hospedeiro se manifesta em diversas condições do sistema imune e como a presença dessa forma latente parasitária no SNC pode desencadear diversos transtornos mentais e psicológicos, que afetam diretamente a qualidade de vida do hospedeiro.

REFERÊNCIAS

- 1 - Schlüter D, Barragan A. Advances and challenges in understanding cerebral toxoplasmosis. Vol. 10, *Frontiers in Immunology*. Frontiers Media S.A.; 2019.
- 2 - Dubey JP, Lindsay DS, Speer CA. Structures of *Toxoplasma gondii* Tachyzoites, Bradyzoites, and Sporozoites and Biology and Development of Tissue Cysts †. Vol. 11. 1998.
- 3 - Adalid-Peralta L, Sáenz B, Fragoso G, Cárdenas G. Understanding host-parasite relationship: The immune central nervous system microenvironment and its effect on brain infections. Vol. 145, *Parasitology*. Cambridge University Press; 2018. p. 988–99.
- 4 - Tyebji S, Seizova S, Hannan AJ, Tonkin CJ. Toxoplasmosis: A pathway to neuropsychiatric disorders. Vol. 96, *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. Elsevier Ltd; 2019. p. 72–92.
- 5 - Rey L. *PARASITOLOGIA: Parasitos e doenças parasitárias do homem nas Américas e na África*. 4th ed: Guanabara Koogan S.A; 2011.
- 6 - Tonkin Editor CJ. *Toxoplasma gondii Methods and Protocols Methods in Molecular Biology 2071* [Internet]. Available from: <http://www.springer.com/series/7651>
- 7 - Landrith TA, Harris TH, Wilson EH. Characteristics and critical function of CD8+ T cells in the *Toxoplasma*-infected brain. Vol. 37, *Seminars in Immunopathology*. Springer Verlag; 2015. p. 261–70.
- 8 - Lorenzi H, Khan A, Behnke MS, Namasivayam S, Swapna LS, Hadjithomas M, et al. Local admixture of amplified and diversified secreted pathogenesis determinants shapes mosaic *Toxoplasma gondii* genomes. *Nat Commun*. 2016 jan 7;7.
- 9 - Sibley LD, Ajioka JW. Population structure of *Toxoplasma gondii*: Clonal expansion driven by infrequent recombination and selective sweeps. Vol. 62, *Annual Review of Microbiology*. 2008. p. 329–51.
- 10 - Hunter CA, Sibley LD. Modulation of innate immunity by *Toxoplasma gondii* virulence effectors. Vol. 10, *Nature Reviews Microbiology*. 2012. p. 766–78.
- 11 - Zhang Y, Lai BS, Juhas M, Zhang Y. *Toxoplasma gondii* secretory proteins and their role in invasion and pathogenesis. Vol. 227, *Microbiological Research*. Elsevier GmbH; 2019.
- 12 - Daneman R, Prat A. The blood–brain barrier. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2015 jan 1;7(1).
- 13 - Daneman R, Rescigno M. The Gut Immune Barrier and the Blood-Brain Barrier: Are They So Different? Vol. 31, *Immunity*. 2009. p. 722–35.
- 14 - Mendez OA, Koshy AA. *Toxoplasma gondii*: Entry, association, and physiological influence on the central nervous system. Vol. 13, *PLoS Pathogens*. Public Library of Science; 2017.
- 15 - Barragan A, Sibley LD. Migration of *Toxoplasma gondii* across biological barriers. Vol. 11, *Trends in Microbiology*. Elsevier Ltd; 2003. p. 426–30.
- 16 - Barragan A, Sibley LD. Migration of *Toxoplasma gondii* across biological barriers. Vol. 11, *Trends in Microbiology*. Elsevier Ltd; 2003. p. 426–30.
- 17 - Carruthers VB, Suzuki Y. Effects of *Toxoplasma gondii* infection on the brain. Vol. 33, *Schizophrenia Bulletin*. 2007. p. 745–51.
- 18 - Figarella K, Wolburg H, Garaschuk O, Duzsenko M. Microglia in neuropathology caused by protozoan parasites. *Biological Reviews*. 2020 abr 1;95(2): 333–49.
- 19 - Henriquez SA, Brett R, Alexander J, Pratt J, Roberts CW. Neuropsychiatric disease and *Toxoplasma gondii* infection. Vol. 16, *NeuroImmunoModulation*. 2009. p. 122–33.
- 20 - Fuglewicz AJ, Piotrowski P, Stodolak A. Relationship between toxoplasmosis and schizophrenia: A review. Vol. 26, *Advances in Clinical and Experimental Medicine*. Wroclaw University of Medicine; 2017. p. 1033–8.

- 21 - Jones LA, Alexander J, Roberts CW. Ocular toxoplasmosis: In the storm of the eye. Vol. 28, Parasite Immunology. 2006. p. 635–42.
- 22 - Maenz M, Schlüter D, Liesenfeld O, Schares G, Gross U, Pleyer U. Ocular toxoplasmosis past, present and new aspects of an old disease. Vol. 39, Progress in Retinal and Eye Research. 2014. p. 77–106.
- 23 - Johnson HJ, Koshy AA. Latent Toxoplasmosis Effects on Rodents and Humans: How Much is Real and How Much is Media Hype? [Internet]. 2020. Available from: <https://doi.org/10>
- 24 - Benveniste EN. Cytokines. Em: Encyclopedia of the Neurological Sciences. Elsevier Inc.; 2014. p. 921–5.
- 25 - Gonzalez RMS, Shehata H, O’Connell MJ, Yang Y, Moreno-Fernandez ME, Chougnet CA, et al. Toxoplasma gondii-derived profilin triggers human toll-like receptor 5-dependent cytokine production. J Innate Immun. 2014;6(5):685–94
- 26 - Kim HS, Lee MS. STAT1 as a key modulator of cell death. Vol. 19, Cellular Signalling. 2007. p. 454–65.
- 27 - Sasai M, Pradipta A, Yamamoto M. Host immune responses to Toxoplasma gondii. Int Immunol. 2018 mar 1;30(3):113–9.
- 28 - Dupont CD, Christian DA, Hunter CA. Immune response and immunopathology during toxoplasmosis. Vol. 34, Seminars in Immunopathology. 2012. p. 793–813.
- 29 - Landrith TA, Harris TH, Wilson EH. Characteristics and critical function of CD8+ T cells in the Toxoplasma-infected brain. Vol. 37, Seminars in Immunopathology. Springer Verlag; 2015. p. 261–70.
- 30 - Lima TS, Lodoen MB. Mechanisms of human innate immune evasion by Toxoplasma gondii. Vol. 9, Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. Frontiers Media S.A.; 2019.

CAPÍTULO 4

INTERAÇÕES DO *PLASMODIUM* E DE SEU PIGMENTO HEMOZOÍNA COM O SISTEMA IMUNE E SUAS POSSÍVEIS COMPLICAÇÕES

Chamberttan Souza Desidério¹
Wesley Guimarães Bovi²
Rafael Obata Trevisan²
Gabriela Terra Silva³
Malú Mateus Santos Obata²
Hugo Felix Perini⁴
Lúcio Roberto Caçado Castellano⁵
Marcos Vinícius da Silva⁶

¹Estágio Pós-doutoral em Medicina Tropical e Infectologia – Universidade Federal do Triângulo Mineiro – UFTM.

²Doutorando em Medicina Tropical e Infectologia, Área de concentração Parasitologia e Imunologia Aplicadas – Universidade Federal do Triângulo Mineiro - UFTM.

³Graduanda do curso de Biomedicina da Universidade Federal do Triângulo Mineiro - UFTM.

⁴Estágio Pós-doutoral em Ciências da saúde – Universidade Federal do Triângulo Mineiro – UFTM.

⁵Professor efetivo da Escola Técnica de Saúde - Universidade Federal da Paraíba - UFPB.

⁶Professor efetivo do Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia. Universidade Federal do Triângulo Mineiro- UFTM.

RESUMO

A hemozoína, conhecida como pigmento da malária, é um importante fator de virulência presente em *Plasmodium* spp. O composto é oriundo da degradação da hemoglobina, a qual é então cristalizada e armazenada como cristais insolúveis. As hemozoínas provocam efeitos imunomoduladores e, com isso, a sua permanência prolongada no organismo leva ao desenvolvimento de efeitos negativos para o hospedeiro e o comprometimento do sistema nervoso, hepático, reprodutor feminino e a anemias severas. A intrínseca relação com o sistema imune faz com que o pigmento induza a secreção de várias citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias interagindo diretamente na saúde geral do ser humano. Além disso, uma vez que a presença de hemozoína é um forte indicador do agravamento da doença, a molécula pode servir como bioindicador e ser alvo de possíveis testes diagnósticos. Dessa maneira, nesse capítulo abordaremos os mecanismos de formação da hemozoína e como esta molécula interage com o sistema imune do hospedeiro humano.

Palavras-chave: Hemoglobina, malária, zoonose, parasitose.

1. INTERAÇÃO DO *Plasmodium* COM O SISTEMA IMUNE

A resposta imune ao parasito da malária, em especial ao *P. falciparum* que é o causador de mais de 90% das mortes causadas pela malária (1), é variável e específica para cada etapa do ciclo de desenvolvimento do parasito, tanto no vetor, o mosquito *Anopheles*, quanto no hospedeiro vertebrado. As respostas imunes também podem contribuir para a fisiopatologia da doença humana (2). Diferenças rápidas na expressão proteica e tropismo tecidual ao longo do ciclo de vida de *Plasmodium* spp., além do tempo necessário para o desenvolvimento de respostas imunes adaptativas, dificultam o reconhecimento e eliminação pelo sistema imune (3).

A resposta antimalárica é cercada por múltiplas interações parasita-hospedeiro no combate ao parasito, evasão do sistema imunológico e manutenção da infecção. As pessoas que nunca tiveram malária geralmente ficam doentes após serem infectadas com o parasito pela primeira vez. Geralmente causa apenas febre, porém algumas pessoas podem vir a óbito (4). Dentre todos os grupos, as crianças são o grupo etário mais vulnerável à malária mortal, e estima-se que cerca de um quarto de todas as mortes de crianças sejam devidas à malária (5). A exposição ao longo do tempo faz com que os indivíduos desenvolvam defesas contra doenças graves e morte. Um dos grandes esforços hoje é esclarecer o correto envolvimento do sistema imunológico. Isso se dá no contexto do combate às formas graves da doença e, posteriormente, no processo de 'resistência' ou contribuição para a progressão da doença (4).

A infecção é iniciada quando uma fêmea do mosquito do gênero *Anopheles*, carregando esporozoítos em suas glândulas salivares, ingere sangue humano e introduz esporozoítos na pele e capilares. Caso esses esporozoítos não migrem com sucesso para os capilares, eles morrem em poucas horas, no entanto, uma vez na corrente sanguínea, os esporozoítos podem migrar para os linfonodos de drenagem e serem conseqüentemente absorvidos pelas células apresentadoras de antígeno que têm a capacidade de induzir uma resposta imune adaptativa. Entretanto, é sabido que as respostas inatas e adaptativas aos esporozoítos são restritas durante a infecção natural. Essa restrição ocorre devido às células serem impedidas de entrar no fígado minutos após entrar na corrente sanguínea e/ou devido à falta de agonistas potentes do receptor Toll-like (TLR), como o lipopolissacarídeo (LPS). Gças a natureza

eucariótica do parasito da malária, de fato, os sinais e sintomas clínicos da infecção estão ausentes por pelo menos 10 a 12 dias. Isso ocorre porque o parasito leva de 6 a 7 dias para se desenvolver completamente nos hepatócitos durante a doença hepática antes que seja liberado no sangue (3).

Proteínas esporozoítas essenciais (SPECT1 e SPECT2) são necessárias para a passagem da barreira cutânea, passagem celular e translocação para o fígado. Isso poupa esporozoítos da destruição por células fagocíticas e sua proliferação é interrompida por células não fagocíticas na derme do hospedeiro. Verifica-se então que essa resposta imune em um estágio pré-eritrocítico é basicamente direcionada contra os esporozoítos livres que sobreviveram e aos hepatócitos infectados. É de extrema importância a participação de anticorpos contra esporozoítos livres e proteína circunsporozoíta (CSP) para a prevenção da invasão de hepatócitos, neutralizando proteínas necessárias para a passagem e invasão celular (2). Também nessa fase da resposta, ocorre, ativação do complemento, fagocitose e lise por células NK e NKT citotóxicas. Ele também reconhece o neoantígeno do parasita na superfície dos hepatócitos infectados e mata através de um mecanismo mediado por células dependente de anticorpo pelas células de Kupffer e células NK. As células T CD8 produtoras de interferon- γ estão principalmente envolvidas na morte de parasitos intra-hepáticos. Outras células, como as células NK, NKT, e $\gamma\delta$ T, também matam os parasitas intra-hepáticos por meio da secreção do interferon tipo I e IFN- γ (6).

Como relatado, os esporozoítos se transformam em merozoítos após a invasão dos hepatócitos, nessa fase o alvo da resposta imune são os merozoítos livre com os parasitos intraeritrocitários (esquizontes). As respostas humorais ou de anticorpos e células T são importantes no combate a merozoítos e esquizontes, os anticorpos podem opsonizar merozoítos para absorver ou prevenir a migração de hemoglobulina. Os anticorpos mediam a morte celular, bloqueiam a ligação dos glóbulos vermelhos infectados ao endotélio e neutralizam as toxinas do parasito para prevenir a inflamação excessiva. Eles também marcam merozoítos para lise do complemento. Outra fase de extrema importância, é conhecida como resposta de citocinas pró-inflamatórias, que ativam os macrófagos, onde as células T CD4⁺ têm grande importância na produção de citocinas anti-inflamatórias que ativam os macrófagos, além de mediar a ativação de clones de células B específicos. Outras células como NK's (*natural killers*) e linfócitos $\gamma\delta$ T também estão envolvidas na resposta imune. IFN-

γ , perforinas e granzimas produzidos por células NK são responsáveis por matar eritrócitos infectados por *P. falciparum* (7, 8).

2. INTERAÇÃO DA HEMOZOÍNA COM O SISTEMA IMUNE

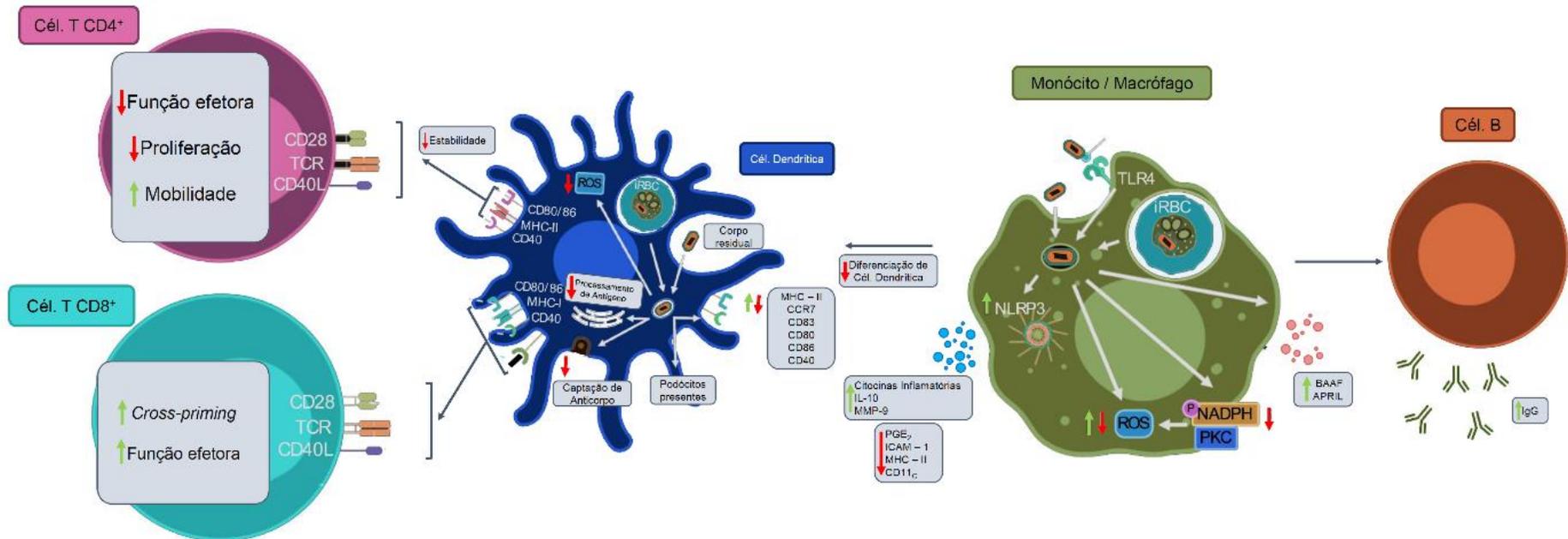
Durante o desenvolvimento nos eritrócitos, o *Plasmodium* utiliza vários produtos celulares como fonte de nutrientes. De forma majoritária utiliza a hemoglobina, que é decomposta em seus componentes essenciais, utilizando a globina como fonte de aminoácidos e a fração heme, armazenada na forma de hemozoína (9). A hemozoína, conhecida como pigmento da malária, é um produto fracionado da hemoglobina, a qual é então cristalizada e armazenada como cristais insolúveis (10). A hemozoína, um fator de virulência crucial, mas indescritível nas complicações da malária, pois possui propriedades pró e anti-inflamatórias, e sua ação correlaciona-se com a gravidade da doença tanto em humanos quanto camundongos infectados por *Plasmodium* spp (Fig. 1). Isso fez com que vários trabalhos fossem desenvolvidos para o entendimento da contribuição da hemozoína para o reconhecimento e a imunidade mediada pela regulação dessa molécula (11).

A hemozoína possui papel importante na estimulação do sistema imune e pode realizar essa modulação de diversas formas. Ela é reconhecida por diferentes tipos de receptores de reconhecimento de padrão, dentre eles: receptores do tipo Toll (TLRs), receptores similares ao domínio de oligomerização ligante de nucleotídeo (NOD) (NLRs) e receptores de lectina tipo C. Esses receptores podem reconhecê-la e dessa forma levar a ativação da resposta inata (11). Porém, a dúvida que permeava o assunto era: como a hemozoína, um composto biologicamente inerte, é capaz de induzir uma resposta inflamatória? A resposta para esta pergunta começou a ser dada em estudos que demonstraram que a hemozoína diretamente não consegue induzir uma resposta por parte do sistema imune, porém, os cristais de hemozoína carregam material genético do parasito, e é este material, DNA parasitário, o responsável pela ativação das vias de produção de mediadores inflamatórios (12).

Uma das principais complicações que a presença e acúmulo de hemozoína é causada pelo sequestro microvascular de eritrócitos infectados e acúmulo do pigmento malárico hemozoína (HZ) em órgãos-alvo como cérebro, baço, placenta e pulmão, e nesses casos a doença é chamada de malária grave. A hemozoína é um potente efetor imune inato em macrófagos através da ativação de inflamassoma

NLRP3 e está associado à liberação de pirogênios endógenos que se acredita mediarem febres periódicas na infecção por malária. O acúmulo pulmonar de HZ foi observado em casos agudos associados à malária com lesão pulmonar (MA-ALI) em roedores e humanos e como descrito para heme em outros casos, pode contribuir para a etiologia da dispneia na malária grave (13).

Figura 1 - Modulação da reposta imune pela hemozóina



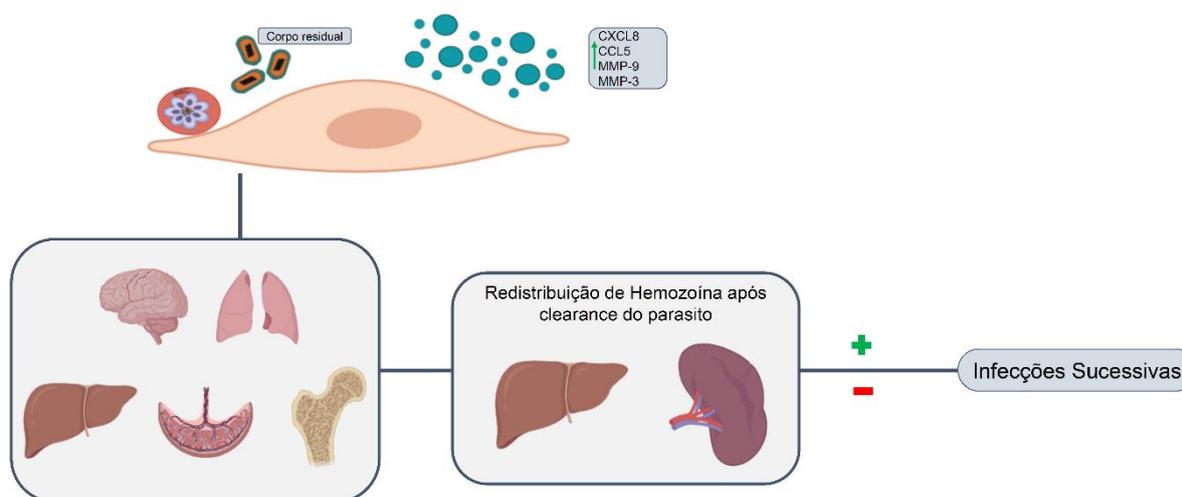
A interação pode levar a complicações sistêmicas no indivíduo vertebrado.

Fonte: Autoria própria, criado com “Biorender app”, usada sob os termos de licença Creative Commons Attribution 3.0 France (CC BY 3.0 FR). Adaptado de Pham et. al., 2021 (11)

3. COMPLICAÇÕES RELACIONADAS A DEPOSIÇÃO DE HEMOZOINA

Durante o ciclo de vida do parasita no hospedeiro, verifica-se a ruptura da hemoglobina e conseqüentemente a liberação do grupo heme. Porém, esse desencadeamento é considerado tóxico para ambos os participantes da ação estimulando a formação de cristais. Esses cristais são as chamadas hemozoínas, constituídas por dímeros do grupo heme. As hemozoínas provocam efeitos imunomoduladores e, com isso, a sua permanência prolongada no organismo leva ao desenvolvimento de efeitos patológicos, como a malária cerebral, a associada a hepatopatia, placentária e relacionada a anemia severa. Além disso, os cristais da hemozoína são produzidos conforme os parasitas invadem as células vermelhas e sua composição está diretamente relacionada a progressão da doença no indivíduo. Dessa forma, o pigmento malárico é um indicador de infecção, sendo utilizado como um biomarcador da malária (Fig. 2) (11, 14).

Figura 2 – O pigmento malárico é um indicador de infecção



Modificações na resposta imune, fazem com que a Hemozoína possa ser eliminada do organismo, porém os cristais de hemozoína podem exercer efeitos imunomodulares contribuindo para o desfecho de infecções subsequentes no indivíduo vertebrado.

Fonte: Autoria própria, criado com “Biorender app”, usada sob os termos de licença Creative Commons Attribution 3.0 France (CC BY 3.0 FR). Adaptado de Pham et. al., 2021 (11).

Considerado um dos principais alvos para a mortalidade entre pacientes pediátricos, a malária cerebral leva a inúmeras sequelas neurológicas ao

paciente acometido com essa doença. Em muitos estudos realizados com pacientes que tiveram seu diagnóstico pós morte de malária cerebral, foi determinada a presença de hemozoínas nos tecidos, plaquetas e em deposições de fibrina, levando ao fechamento vascular e, como consequência, o comprometimento do fluxo sanguíneo, sugerindo que a esse pigmento malárico pode estar diretamente relacionado a efeitos na cascata de coagulação e na hemostasia dos indivíduos (15). Além disso, as hemozoínas permitem o rompimento de células endoteliais, estimulando o fracionamento da barreira hematoencefálica, uma vez que hemozoínas encontradas em macrófagos permitem o desenvolvimento de uma resposta inflamatória local e, conseqüentemente, a quebra da barreira (16). Ademais, elas podem provocar a formação de edemas graves e herniação cerebral, levando a complicações neurológicas severas ao desenvolvimento do paciente. Em experimentos realizados *in vitro*, foi possível observar a expressão de variadas citocinas, como a TNF e IL-6 durante o arranjo de hemozoínas sintéticas pelos neurônios. Esse processo provoca a morte celular de fagócitos e das células que se encontravam adjacentes às mesmas, ativando um efeito de disseminação ao tecido cerebral (17).

O acúmulo de leucócitos no cérebro de pacientes com malária cerebral é evidência de um influxo significativo de quimiocinas, o que foi demonstrado em estudos experimentais. A expressão de citocinas e quimiocinas secretadas por monócitos, como TNF, CXC-quimiocina ligante 10 (CXCL10), CC-quimiocina ligante 2 (CCL2) e CCL5, se correlaciona com resistência à doença em relação à suscetibilidade. Os neutrófilos também contribuem para a lesão cerebral e são fontes importantes de citocinas (incluindo a subunidade p40 de IL-12, IL-18, IFN- γ e TNF) e quimiocinas (incluindo CCL3, CXCL9 e CXCL10) estão envolvidos na patogênese. De fato, a depleção precoce de neutrófilos da malária suprime a piora de malária cerebral em camundongos, regula a expressão de citocinas Th1 no cérebro e reduz significativamente o sequestro de monócitos e a taxa de microsangramento no cérebro (18). Em humanos, existem poucos dados sobre o envolvimento de células T na malária cerebral.

O IFN- γ parece ser a citocina mais relevante secretada pelos linfócitos T. A neutralização *in vivo* do IFN- γ em camundongos infectados com a cepa ANKA de *P. berghei* suprime a superprodução de TNF e o desenvolvimento da

proliferação da malária cerebral. O papel central do IFN- γ na patogênese da malária cerebral foi confirmado por experimentos em camundongos sem IFN- γ ou IFN- γ resistentes ao desenvolvimento de malária cerebral induzido experimentalmente. O antígeno de superfície celular CTLA (antígeno citotóxico de células T) regula as células T, portanto, pode modular as respostas das células T e suprimir a patogênese imunológica. Como esperado, o bloqueio de CTLA exacerba a malária cerebral em camundongos, destacando a contribuição das células T para a doença. O contato direto foi demonstrado *in vitro* entre células endoteliais do cérebro e células T ativadas, e esse contato também pode ser importante na patogênese do cérebro. As células T CD8 também têm um papel no choque circulatório e insuficiência respiratória em camundongos infectados com *P. berghei* (19, 20).

Pode-se observar outras complicações relacionadas a infecção pelo *Plasmodium*, uma outra complicação que pode acarretar é a síndrome do desconforto respiratório agudo associado a malária (SDRA), ocorrendo principalmente na infecção por *P. knowlesi* (21). A inflamação provocada nessa síndrome advém da ruptura da membrana alveolar dos pulmões, ocasionando o edema pulmonar (considerado não cardiogênico). Em estudos teciduais de pacientes acometidos pela SDRA foi possível observar uma relação intrínseca entre a presença de hemozoína e a gravidade da complicação gerada nos casos, uma vez que esse pigmento malárico é encontrado em células vermelhas infectadas, neutrófilos e macrófagos localizados nos pequenos vasos do pulmão (22). Além disso, determinada a inter-relação entre o desenvolvimento de edemas e a presença de hemozoína pulmonar, relacionando também à inflamação de leucócitos e infiltração nos pulmões. Em relação ao sequestro dos eritrócitos que estão presentes na circulação, estes são considerados infectados, muitas das vezes são removidos também eritrócitos não infectados. Isso resulta em dano pulmonar mediante ativação de uma resposta inflamatória, levando a alterações alveolares que podem persistir mesmo depois da eliminação do parasito (23).

Quando contraposto a outros órgãos que são acometidos por malária, o fígado concebe a maior parte da hemozoína, levando a hepatopatias severas ao indivíduo, como expressão de citocinas inflamatórias hepáticas e hiperplasia das células de Kupffer, que são responsáveis pela fagocitose de corpos estranhos

presentes no sangue localizado nos seios hepáticos (22). Assim, o ataque ao fígado quase sempre está relacionado a outras complicações, como aquelas já citadas acima. Nas hepatopatias, a hemozoína é localizada em variadas regiões, como o trato portal, as células vermelhas pertencentes ao órgão e aos monócitos. Em estudos realizados em modelos de camundongos com malária, consegue-se relacionar a hemozoína e a sua abundância em macrófagos sinusoidais do fígado. Além disso, está diretamente relacionado com a exposição de enzimas hepáticas e de lipídios gerados pela oxidação, paralelamente com o acréscimo da expressão de citocinas específicas. É visível como uma das principais complicações da presença da hemozoína é o desenvolvimento inflamatório devido ao aumento de hemozoína nativa e sintética, observadas em experimentos com camundongos acometidos de malária hepatológica. Um significativo acúmulo hepático de hemozoína se é verificado em camundongos infectados com *P. berghei* em comparação com *P. chabaudi*, sendo guiado por uma peroxidação lipídica mais destacada e produção de enzimas antioxidantes afetada, apesar do vazamento mais brando de enzimas hepáticas (24).

Dentre as consequências que mais atingem a população, a malária placentária é uma grande preocupação dentre o público feminino. Comumente, indivíduos residentes em regiões endêmicas desenvolvem imunidade não estéril contra a malária. Em contrapartida, as mulheres são mais passíveis a complicações e podem enunciar uma síndrome parecida com a pré-eclâmpsia, podendo afetar tanto a mãe quanto o feto, resultando em baixo peso ao nascimento e aumento da mortalidade (25). A partir da ocorrência da malária placentária, há o acúmulo de glóbulos vermelhos infectadas nas intervilosidades, induzindo a uma resposta inflamatória, além da deposição de fibrinas também existente no caso. É importante ressaltar que a malária placentária aguda é mais bem diagnosticada quando mães estão com células vermelhas infectadas, mas sem a deposição de hemozoína livre na placenta, enquanto a crônica se encontra tanto células vermelhas infectadas quanto a presença de hemozoína livre (11).

Tendo a presença do pigmento malárico, ocorre uma concentração de leucócitos na placenta, inferindo uma correlação entre a quantidade de hemozoína e os níveis elevados de uma citocina importante para a inflamação, a CXCL10 (26). Além disso, mulheres que desenvolveram infecções, mas no

passado, é possível o diagnóstico quando se obtém apenas o entreposto de hemozoína livre, sem a presença de células vermelhas infectadas. Dessa forma, pode-se inferir a relação direta da hemozoína com a malária placentária uma vez que, além dos diagnósticos citados acima, é possível localizar hemozoína livre no espaço sanguíneo materno e áreas de afluência necrótica do envoltório trofoblástico em vários estudos realizados por pesquisadores (27, 28). Outrossim, foram relatadas a inter-relação entre a resposta imunológica com efeitos pró-inflamatórios e a presença de hemozoínas na placenta. Sinciciotrofblastos foram considerados extremamente necessários para o panorama entre os mediadores da inflamação, como a CCL4 e ICAM-1 com a concentração da hemozoína, uma vez que pode induzir a resposta, dependendo diretamente dessa expressão de citocinas na presença do sinciciotrofblasto (11).

Pacientes com malária, podem ainda apresentar como consequência da infecção, um quadro grave de anemia, chamada de anemia malárica severa, causada pela destruição excessiva de células vermelhas infectadas e não infectadas, abrangendo principalmente pacientes pediátricos pertencentes a regiões endêmicas, causando queda da reposição de hemácias (29). Em pacientes com essa classificação de anemia, possui a presença de hemozoína em locais livres, bem como em macrófagos e células vermelhas. Dessa forma, a concentração desses componentes é vista como maior do que em pacientes sem a anemia malárica severa, dando prejuízos categóricos à sua viabilidade e proliferação. Indiretamente, a presença de hemozoína pode gerar respostas inflamatórias, principalmente por ações pró-inflamatória, induzindo a supressão da medula óssea e, conseqüentemente, bloqueando a produção de células vermelhas (11).

REFERENCIAS

1. WHO. Zero malaria starts with me 2019 [Available from: <https://www.who.int/campaigns/world-malaria-day/world-malaria-day-2019>].
2. Belachew EB. Immune Response and Evasion Mechanisms of *Plasmodium falciparum* Parasites. *J Immunol Res*. 2018;2018:6529681.
3. Bucsan AN, Williamson KC. Setting the stage: The initial immune response to blood-stage parasites. *Virulence*. 2020;11(1):88-103.
4. Langhorne J, Ndungu FM, Sponaas AM, Marsh K. Immunity to malaria: more questions than answers. *Nat Immunol*. 2008;9(7):725-32.
5. Snow RW, Trape JF, Marsh K. The past, present and future of childhood malaria mortality in Africa. *Trends Parasitol*. 2001;17(12):593-7.
6. Djokic V, Rocha SC, Parveen N. Lessons Learned for Pathogenesis, Immunology, and Disease of Erythrocytic Parasites: *Plasmodium* and *Babesia*. *Front Cell Infect Microbiol*. 2021;11:685239.
7. Bertolino P, Bowen DG. Malaria and the liver: immunological hide-and-seek or subversion of immunity from within? *Front Microbiol*. 2015;6:41.
8. Gomes AP, Moreira BSV, Dias FJD, Inoue VHB, Franco GVS, de Souza Gomes D, et al. *Plasmodium Falciparum* Infection: In Silico Preliminary Studies. *Abakós*. 2016;5(1):63-83.
9. Francis SE, Sullivan DJ, Jr., Goldberg DE. Hemoglobin metabolism in the malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *Annu Rev Microbiol*. 1997;51:97-123.
10. Sullivan DJ. Theories on malarial pigment formation and quinine action. *International journal for parasitology*. 2002;32(13):1645-53.
11. Pham TT, Lamb TJ, Deroost K, Opdenakker G, Van den Steen PE. Hemozoin in Malarial Complications: More Questions Than Answers. *Trends Parasitol*. 2021;37(3):226-39.
12. Parroche P, Lauw FN, Goutagny N, Latz E, Monks BG, Visintin A, et al. Malaria hemozoin is immunologically inert but radically enhances innate responses by presenting malaria DNA to Toll-like receptor 9. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007;104(6):1919-24.
13. Shah SS, Fidock DA, Prince AS. Hemozoin Promotes Lung Inflammation via Host Epithelial Activation. *mBio*. 2021;12(1).
14. Baptista V, Peng WK, Minas G, Veiga MI, Catarino SO. Review of Microdevices for Hemozoin-Based Malaria Detection. *Biosensors (Basel)*. 2022;12(2).
15. Dasari P, Heber SD, Beisele M, Torzewski M, Reifenberg K, Orning C, et al. Digestive vacuole of *Plasmodium falciparum* released during erythrocyte rupture dually activates complement and coagulation. *Blood*. 2012;119(18):4301-10.
16. Seydel KB, Kampondeni SD, Valim C, Potchen MJ, Milner DA, Muwalo FW, et al. Brain swelling and death in children with cerebral malaria. *N Engl J Med*. 2015;372(12):1126-37.
17. Trivedi S, Chakravarty A. Neurological Complications of Malaria. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2022;22(8):499-513.
18. Patnaik JK, Das BS, Mishra SK, Mohanty S, Satpathy SK, Mohanty D. Vascular clogging, mononuclear cell margination, and enhanced vascular permeability in the pathogenesis of human cerebral malaria. *Am J Trop Med Hyg*. 1994;51(5):642-7.
19. Gazzinelli RT, Kalantari P, Fitzgerald KA, Golenbock DT. Innate sensing of malaria parasites. *Nat Rev Immunol*. 2014;14(11):744-57.
20. Shikani HJ, Freeman BD, Lisanti MP, Weiss LM, Tanowitz HB, Desruisseaux MS. Cerebral malaria: we have come a long way. *Am J Pathol*. 2012;181(5):1484-92.

21. Van den Steen PE, Deroost K, Deckers J, Van Herck E, Struyf S, Opendakker G. Pathogenesis of malaria-associated acute respiratory distress syndrome. *Trends Parasitol.* 2013;29(7):346-58.
22. Deroost K, Tyberghein A, Lays N, Noppen S, Schwarzer E, Vanstreels E, et al. Hemozoin induces lung inflammation and correlates with malaria-associated acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2013;48(5):589-600.
23. Taylor WRJ, Hanson J, Turner GDH, White NJ, Dondorp AM. Respiratory manifestations of malaria. *Chest.* 2012;142(2):492-505.
24. Scaccabarozzi D, Deroost K, Corbett Y, Lays N, Corsetto P, Sale FO, et al. Differential induction of malaria liver pathology in mice infected with *Plasmodium chabaudi* AS or *Plasmodium berghei* NK65. *Malar J.* 2018;17(1):18.
25. Bauserman M, Conroy AL, North K, Patterson J, Bose C, Meshnick S. An overview of malaria in pregnancy. *Semin Perinatol.* 2019;43(5):282-90.
26. Sugiyama T, Cuevas LE, Bailey W, Makunde R, Kawamura K, Kobayashi M, et al. Expression of intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) in *Plasmodium falciparum*-infected placenta. *Placenta.* 2001;22(6):573-9.
27. Neres R, Marinho CR, Goncalves LA, Catarino MB, Penha-Goncalves C. Pregnancy outcome and placenta pathology in *Plasmodium berghei* ANKA infected mice reproduce the pathogenesis of severe malaria in pregnant women. *PLoS One.* 2008;3(2):e1608.
28. Poovassery JS, Sarr D, Smith G, Nagy T, Moore JM. Malaria-induced murine pregnancy failure: distinct roles for IFN-gamma and TNF. *J Immunol.* 2009;183(8):5342-9.
29. Srichaikul T, Panikbutr N, Jeumtrakul P. Bone-marrow changes in human malaria. *Ann Trop Med Parasitol.* 1967;61(1):40-51.

CAPÍTULO 5

Plasmodium E SEUS HOSPEDEIROS INVERTEBRADOS: ATUALIDADES SOBRE UMA ANTIGA RELAÇÃO

Malu Mateus Santos Obata¹
Thais Amanda De Lima Nunes²
Wesley Guimarães Bovi¹
Hugo Felix Perini³
Lúcio Roberto Cançado Castellano⁴
Marcos Vinícius Da Silva⁵

¹Doutorando em Parasitologia e Imunologia Aplicadas. Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical e Infectologia – UFTM

²Mestranda em Parasitologia e Imunologia Aplicadas. Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical e Infectologia – UFTM

³Estágio Pós-Doutoral – Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde – UFTM

⁴Professor efetivo da Escola Técnica de Saúde - Universidade Federal da Paraíba - UFPB

⁵Professor efetivo do Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia. Universidade Federal do Triângulo Mineiro- UFTM.

RESUMO

O estudo da malária, doença tropical causada por *Plasmodium* spp., usualmente envolve os mecanismos de adaptação e virulência do parasito em seu hospedeiro humano. A complexa interação com a produção de fatores de virulência como Hemozoína, a disseminação por diferentes nichos e, a interação com o sistema imune humano são descritas por diversos autores. Embora o foco dos estudos esteja voltado para o quadro clínico da parasitose, o ciclo de vida heteroxênico do *Plasmodium* spp. envolve a passagem e maturação em um hospedeiro invertebrado (*Anopheles* sp.). No mosquito o parasito tem alteração das formas infectantes, migração anatômica e está exposto ao sistema imune do vetor. Nesse capítulo abordaremos essas intrigantes relações, desde a infecção do vetor até a maturação e infecção de um novo indivíduo.

Palavras-chave: Malária, Vetor, Parasitose, Febre.

1. ASPECTOS GERAIS DA INTERAÇÃO PARASITO/VETOR

A habilidade de um vetor de suportar o desenvolvimento de um dado parasito é chamado de competência do vetor, e seus mecanismos são pouco compreendidos. O controle do desenvolvimento parasitário pode ser causado por uma perda do vetor de algum fator essencial no suporte à sobrevivência do parasito, ou por uma resposta ativa do mosquito que interfere na passagem do parasito pelos tecidos do inseto (1). Desta forma, as interações entre parasito e hospedeiro invertebrado podem ser divididas em dois tipos principais: primeiramente, estas interações podem ser essenciais ao desenvolvimento sequencial do parasito no vetor; exemplos incluem a indução do desenvolvimento, ligações receptor-ligante e a provisão de nutrientes (2). Em segundo lugar, interações danosas podem ser resultado de esforços do vetor para matar os parasitos; exemplos incluem a presença de barreiras físicas e/ ou de moléculas imunes efetoras, ou mesmo a ausência de moléculas derivadas do vetor essenciais ao desenvolvimento do parasito (3).

Na malária, o parasito sofre substancial perda estágio-específico durante seu desenvolvimento no mosquito; mais ainda, diversas espécies de mosquitos diferem em sua capacidade de transmitir diferentes plasmódios, e as perdas estágio-específicas parecem depender de ambos, vetor e parasito, suportando a existência de interações limitadas por espécies (4). Durante sua diferenciação no mosquito, o *Plasmodium* tem que superar três pontos principais onde seu desenvolvimento pode ser interrompido devido à intensa diminuição na quantidade de parasitos. Essas fases são denominadas de “estrangulamento”. O estrangulamento do número de indivíduos ocorre nas transições entre gametócitos e oocinetos; oocinetos e oocistos maduros e, entre esporozoítos no intestino médio e esporozoítos das glândulas salivares. Nesse cenário, a o decaimento mais dramático da população ocorre durante a invasão do intestino médio pelo oocineto, cerca de 18 a 24 horas após a infecção (Fig. 1). Esta redução ocorre, ao menos em partes, pela transição do parasita de uma forma intracelular (RBC) para extracelular, o que expõe o *Plasmodium sp.* a mecanismos imunes do vetor que são nocivos para o parasito (5).

Várias proteínas estão relacionadas a este processo antiparasitário no inseto vetor, em especial a proteína contendo tioéster TEP1, homóloga ao fator C3 do complemento de vertebrados. Sua redução por interferência de RNA (RNAi) torna os vetores mais susceptíveis a infecções por *Plasmodium spp.* Outras proteínas também interferem na interação hospedeiro parasito, como as proteínas lipoforina e a vitelogenina, que são responsáveis pelo transporte de nutrientes aos oócitos. Suas produções, reduzem a eficiência de eliminação de parasitas do fator antiparasitário TEP1, e na sua ausência a ligação de TEP1 à superfície do oocineto torna-se mais eficiente (4, 6).

Estudos atuais demonstram que as bactérias estão ligadas ao processo de interação, parasito-vetor, sendo capaz de interagir com o sistema imunológico do hospedeiro (7, 8). Bactérias essas que vivem no intestino médio modulam a resposta dos mosquitos ao *Plasmodium* (9). Bactérias como *Wolbachia* e enterobactérias, limita significativamente as infecções com *Plasmodium*, sendo capaz de condicionar o estado oxidativo do seu entorno e não prejudicar o mosquito (5, 10). Logo, é de grande interesse a exploração de bactérias do inseto vetor, tendo em vista que elas podem ser usadas na paratransgênese e nas estratégias de controle da malária (3).

2. ADAPTAÇÕES DO PARASITO E DO HOSPEDEIRO VERTEBRADO

Após muitos anos de co-evolução entre *A.gambiae* e *P.falciparum*, o parasito aparentemente se adaptou a reduzir sua carga a fim de limitar a intensidade de infecção no vetor, enquanto assegura sua transmissão ao hospedeiro vertebrado (11). O vetor também se adaptou a reduzir a carga parasitária a custo da ativação de seu sistema imune (12). Recentes estudos têm mostrado que muitos genes do *A.gambiae* atuam de forma positiva ou negativa como reguladores da resposta contra *P.berghei* – devendo-se lembrar que este parasito nunca é visto neste hospedeiro na natureza. Por outro lado, estes genes não afetam a infecção por *P.falciparum*, que é a espécie de *Plasmodium* transmitida naturalmente por estes anofelinos (13, 14). Isto pode refletir o desenvolvimento de mecanismos específicos modulando a ativação do sistema imune do vetor (15).

Ao entrar no hospedeiro invertebrado, os parasitas sentem mudanças na composição, temperatura, oxigênio e disponibilidade de nutrientes para a diferenciação (16). Essas mudanças garantem ao parasito sobreviver as duras condições do ambiente digestivo para colonizar o intestino médio. A motilidade do protozoário permite a migração contra o fluxo peristáltico no intestino e evita a expulsão (17).

Os parasitos que entram na cavidade onde flui a hemolinfa, hemocele, dependem da fixação ao epitélio do intestino médio e de proteases secretadas e cooptadas para transmigrar a parede do intestino médio (18) (19). Os *Plasmodium* que entram na hemocele são expostos a hémocitos fagocitários e fatores humorais, incluindo moléculas de reconhecimento padrões, AMPs, fatores do complemento, lectinas e proteases (20). Os parasitos aderem no intestino médio anterior, intestino anterior, peças bucais ou glândulas salivares e podem eventualmente se diferenciar em formas infecciosas de vertebrados ou obter acesso a glândula salivar como formas infecciosas da hemocele (21).

Por obstrução mecânica, ligação a estruturas sensoriais e por afetar os níveis de compostos anti-hemostáticos na saliva, os parasitas podem influenciar a sondagem, persistência e taxa de ingurgitamento de vetores infectados no hospedeiro vertebrado, aumentando assim a probabilidade de transmissão do parasita (22). Alguns parasitas induzem alterações neurofisiológicas, afetando o comportamento de locomoção e o sistema olfativo do vetor tornando-os mais responsivos aos odores humanos. Na direção oposta, mudanças fisiológicas no hospedeiro vertebrado infectado pelo parasita, incluindo aumento da temperatura corporal e alteração do odor corporal, aumentam a probabilidade de absorção do patógeno pelo vetor (23, 24).

3. REGULAÇÃO DE GENES E INTERAÇÃO COM O SISTEMA IMUNE DO VETOR

As principais interações moleculares e celulares são pré-requisitos para o estabelecimento e subsequente co-evolução de sistemas vetor-parasito (25). Diferentes barreiras físicas são impostas aos parasitos durante a infecção no hospedeiro invertebrado, após a invasão bem-sucedida, as células do sistema imune são ativadas, nos tecidos internos (26).

Sabendo da importância dessa interação, durante o sequenciamento genético de *Anopheles* spp. foi possível descrever 278 milhões de pares de bases, sendo 242 genes relacionados a moléculas de defesa (27). Destes genes foram encontradas classes de potenciais receptores de reconhecimento de padrões (PRRs), sendo: Proteínas de reconhecimento de peptidoglicanos (PGRPs), Proteínas contendo Tioéster (TEPs), Proteínas de ligação à Gram-negativos (GNBPs), receptores Scavenger (SCRs), Lectinas Tipo-C (CTLs), Lectinas de ligação à galactose (GALE) e imunolectinas de domínio semelhante ao fibrinogênio (FBNs) (27, 28). Existem 6 genes em *Anopheles gambiae*, dos citados anteriormente que foram molecularmente caracterizados e altamente expressos após a alimentação de sangue no encapsulamento do parasito da malária, sendo o GNBP, um PGRP, um TEP, uma serina protease e uma repetição rica em leucina que compartilham homologia com receptores do tipo TOLL (29).

A presença de genes altamente conservados em insetos e vertebrados demonstraram a capacidade de ativar vias de sinalização responsáveis pelo sistema de vigilância imunológica do inseto, ativando vias de fagocitose (30, 31), além de vinte e quatro proteínas semelhantes a lectinas que participam da primeira linha de defesa contra patógenos, ativando serinoproteases e vias do sistema complemento, são vias induzíveis com até quatro genes de defensina e quatro de cecropina, que demonstraram atividades anti-plasmodial (32).

O acúmulo de genes coexpressos indicou o envolvimento no metabolismo do sangue ingerido pelo vetor, estes foram induzidos logo após uma refeição infecciosa. A regulação específica dos genes imunes começa aproximadamente 20 horas a 40 horas após uma refeição infecciosa quando o parasito atravessa o epitélio do intestino médio (33). Já a utilização de marcadores imunes para estudos em *Anopheles* demonstrou que as reações imunológicas causadas pelo parasito da malária podem ser vistas tanto localmente no intestino médio, quanto sistematicamente (34).

Vários genes imunológicos demonstraram ser regulados tanto no epitélio do intestino médio quanto no tecido gorduroso durante a invasão do intestino médio pelo oocineto (35). A ativação da resposta imune no tecido gorduroso nesta fase, quando o parasito ainda está localizado no epitélio do intestino médio, sugere fortemente a existência de cascatas de sinalização imune entre

os diferentes tecidos. Em estágios posteriores da infecção, quando os esporozoítos migram dos oocistos para as glândulas salivares, as respostas imunes têm sido documentadas nas glândulas salivares e nos corpos gordurosos (33, 36).

4. CICLO DE *Plasmodium* sp E INTERAÇÕES COM O HOSPEDEIRO INVERTEBRADO

O ciclo do *Plasmodium* sp. no hospedeiro invertebrado se inicia quando este ingere gametócitos a partir do sangue de indivíduos infectados (37). Uma vez no intestino do vetor, os gametócitos se diferenciam em gametas. Cada gametócito masculino (microgameta) dará origem a oito gametas móveis haplóides, através de um processo denominado de exflagelação (38). A exflagelação pode ser induzida *in vitro* por alterações da temperatura e pH. Nesse cenário alterações de 37°C para 28°C e no pH de 7,4 a 8,0, simulam a mudança de temperatura do hospedeiro vertebrado para o invertebrado. Contudo o pH do intestino médio de mosquitos alimentados com sangue tem um aumento de 0,2 unidades de pH, sugerindo assim que este não desempenha um papel crítico na exflagelação dentro do intestino médio (23) (39).

Outros estudos revelaram a presença de um fator indutor de exflagelação do mosquito chamado fator ativador de gametócitos (GAF), uma substância termoestável de baixo peso molecular que foi identificado como sendo um ácido xanturênico (XA), subproduto do metabolismo de tripstofano. Estudos *in vivo* têm demonstrado que a presença de XA no soro de hospedeiros vertebrados aumenta em até 50% os níveis de exflagelação (39, 40). Já é sabido que a inibição da indução do processo de exflagelação pode ser utilizado em estratégias antimaláricas. Sendo assim já foram descritos importantes inibidores como PMSF, RV112D, EPNP e 1,10-phenanthroline, que podem proporcionar importantes perspectivas futuras (15).

Os parasitos da malária sofrem grandes perdas durante o processo de desenvolvimento em mosquitos vetores (41). O declínio populacional ocorre em todos os estágios de desenvolvimento, desde a formação de gametócitos até a formação de oocistos no hospedeiro humano, resultando em números de parasitos muito baixos (42, 43). De fato, mesmo em áreas com altas taxas de

infecção, a maioria dos mosquitos está livre de parasitos. Essa redução nos números no intestino médio dos mosquitos é mediada em parte pela transição do parasita de formas intracelulares para formas extracelulares, expondo os parasitas a componentes humanos e de mosquitos prejudiciais aos parasitas (5).

As fêmeas de *Anopheles* spp. durante o seu repasto sanguíneo acabam ingerindo milhares de gametócitos, porém apenas 50-100 se tornam oocinetos e apenas cerca de 5 sobrevivem para formar oocistos (44). Um estudo feito no mosquito *Anopheles* usando sangue de pacientes infectados com o *Plasmodium falciparum* mostrou que de uma média de 33,5 gametócitos detectados no sangue do paciente, apenas 12,6 oocistos redondos, 5,5 oocinetos, 1,8 oocistos precoces e 2 oocistos de tamanho médio foram detectados em mosquitos (45), e que a prevalência em porcentagem de mosquitos portadores de pelo menos um parasito, foi de apenas 38%, o que demonstra que 62% dos mosquitos que se alimentam de sangue contendo *P.falciparum*, nunca foram infectados (45).

Ao longo do ciclo de vida do parasito da malária (hospedeiros humanos e mosquitos), o estágio de oocisto tem o menor número de parasitas e se espalha rapidamente à medida que cada oocisto libera milhares de esporozoítos. Por esse motivo, o estágio de desenvolvimento do parasito no intestino médio é o alvo principal das estratégias de prevenção da transmissão da malária (46, 47).

Cerca de 19 a 36 horas após o repasto sanguíneo, o bolo alimentar está com altas concentrações de proteases, como tripsinas, carboxipeptidases e aminopeptidases, além do mais há uma forte proliferação bacteriana que resultará em uma resposta imune (48) (49). Sendo assim o oocineto à medida que cresce, migra para periferia conteúdo ingerido, secreta endoquitinases na família 18 glicohidrolases (polímero de N-acetilglucosamina), que facilitam o parasito a dissolver a matriz peritrófica(50), para romper localmente e penetrar de maneira rápida, efetiva o intestino médio (51, 52).

Em *P.gallinaceum*, enzimas proteolíticas tem um papel direto na ativação de quitinases codificadas por PgCMT1. Essas enzimas são secretadas pelos micronemas do oocineto como pró-enzimas, sendo essencial para que o oocineto atravesse a matriz peritrófica em *Aedes aegypti* (11, 53). As quitinases secretadas por oocinetos de *Plasmodium* são de dois tipos: formas curtas (*PfCMT1*, *PgCMT2* e *PrCMT1*) que possuem uma proenzima N-terminal e um domínio de ligação à quitina C-terminal (CBD), e formas longas (*PgCMT1*,

PvCHT1 e *PbCHT1*) que não possuem ambos os domínios (54, 55). *P. berghei* possui apenas uma quitinase de forma longa (*PbCHT1*) que não faz parte do complexo HMW (56). Estudos envolvendo a substituição de *PbCHT1* por quitinase de *P. falciparum* (*PfCHT1*) usando o sistema de inserção/marcador de genes (GIMO), concluíram que *PfCHT1* expresso em oocinetos de *P. berghei*, representa um mecanismo endógeno expressando heterológamente *PfCHT1* no complexo hetero-multimérica de alto peso molecular (HMW) (57).

Usando três espécies de parasitos da malária que infectam vertebrados humanos, aves e roedores, respectivamente, as proteínas micronemais de plasmódio secretadas pelos oocinetos espécie-específicos foram transformadas em complexos HMW heteromultiméricos contendo quitinase (58). Os complexos HMW secretados por oocinetos contendo quitinase ligam-se à quitina com alta afinidade e podem mediar o reconhecimento, fixação e invasão do intestino médio de mosquitos. Interromper esse complexo pode ser a nova forma para interromper a transmissão da malária (59). Essas abordagens interespecíficas para estudar a entrada de oocinetos no intestino do mosquito adicionam uma nova dimensão à compreensão da biologia da infecção da malária e fornecem oportunidades futuras para explicar os mecanismos pelos quais o oocineto entra no intestino do mosquito (54).

A proteína CS e a proteína relacionada ao TRAP (CTRP) – membro da família gênica TRAP/CSP, são secretas pelos micronemas do oocineto e são críticas para a invasão do epitélio do intestino médio (60). O bloqueio do gene CTRP também bloqueia a motilidade oocineta (o mesmo que TRAP em esporozoítos), no entanto, falhas de entrada no epitélio causadas por alterações do mecanismo de motilidade/invasão ainda não foram devidamente determinadas (13, 61, 62).

As evidências da natureza molecular dos receptores de parasitos no intestino médio dos mosquitos são fragmentadas. Tais evidências sugerem que os oocinetos de *P. gallinaceum* interagem com moléculas semelhantes ao Ácido Siálico (63-66). Moléculas como o Fosfolipase A2 de veneno de cobra são moléculas capazes de bloquear a ligação dos oocinetos de *P. gallinaceum* e *P. falciparum* ao epitélio do intestino médio, porém, as bases desta interferência não foram estabelecidas (67). Da mesma forma, a expressão de proteínas heterólogas que interferem na ligação dos parasitos à membrana plasmática das

células epiteliais do intestino médio do inseto reduz muito o desenvolvimento de oocistos, por prevenir a passagem destes através do epitélio (68).

Estudos sugerem que as células do intestino médio do inseto sofrem extensivo dano após a invasão pelos parasitos, que resulta na apoptose das células invadidas(69). Os oocinetos de *P. bergheio*, invadem células epiteliais colunares com microvilosidades e induzem mudanças notáveis na morfologia e fisiologia intracelular. O processo de invasão também desencadeia uma série de respostas intracelulares e imunológicas. Um aumento da enzima NOS foi observado nas células afetadas. Isso é consistente com o aumento relatado anteriormente na expressão de mRNA de NOS no intestino médio 24 h após a infecção(70). Estas células provavelmente expressam ATPase vesicular (71, 72), defensinas (73), serpinas uma translocação das moléculas STAT, (44, 70, 74).

Durante a invasão celular ocorre o processo de marcação dos oocinetos com a nitratação epitedial, que é uma resposta regulada pela via Jun N-terminal kinase (JNK), que promove a ligação da proteína 1 contendo tióéster (TEP1) a superfície do oocineto. Acredita-se que esta ligação leva à lise por uma casca semelhante ao complemento ou à lise por melanização (75). Acredita-se também em uma resposta imune tardia que leva a diminuição ainda maior do número de parasitos, ativação da via STAT em *A. gambiae* limita a infecção por *Plasmodium sp.* ao diminuir a sobrevivência do parasita no estágio de oocisto e que a NOS é um efector chave dessa resposta (76).

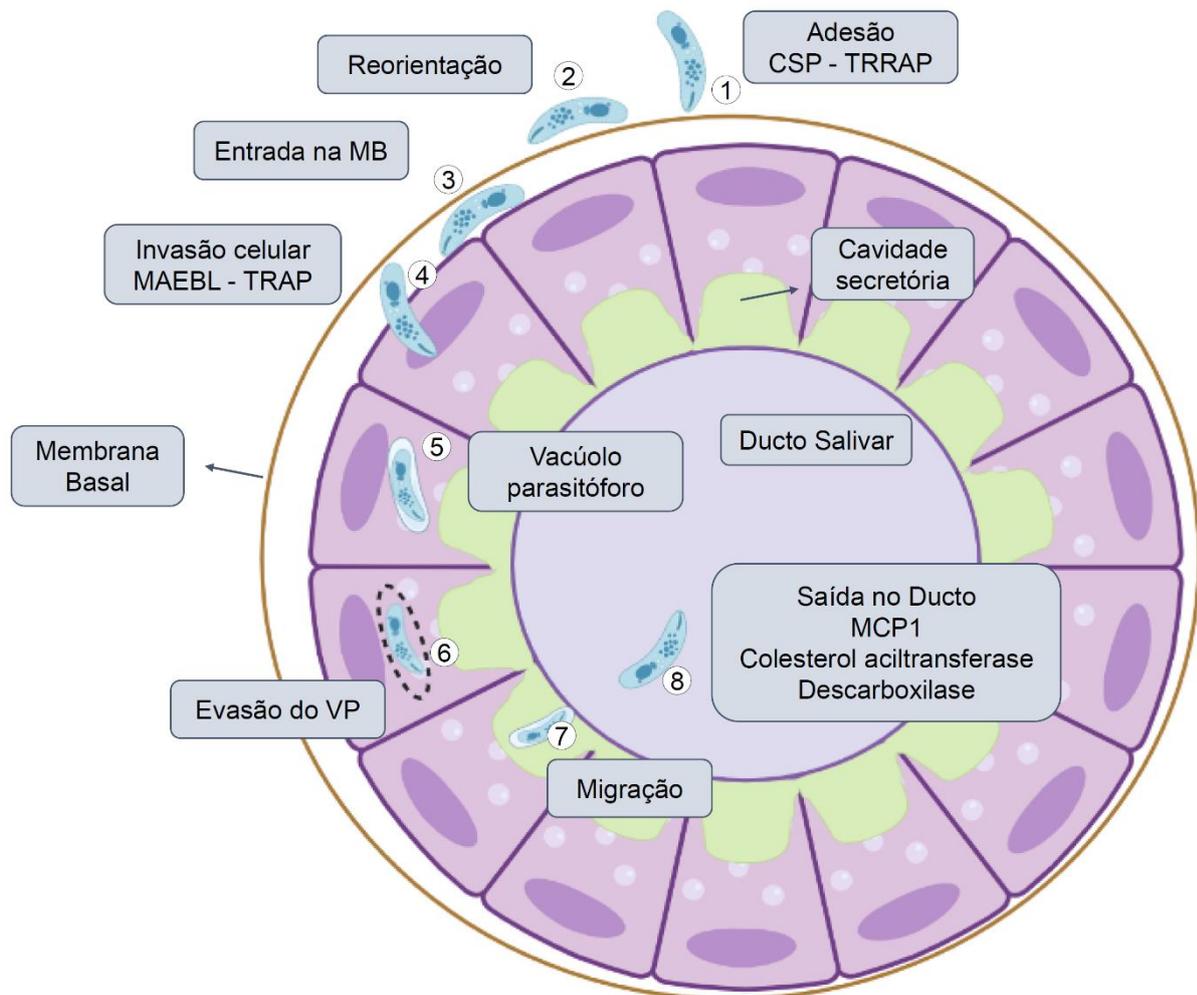
Após sair das células epiteliais os oocinetos encontram o ambiente da hemocele, onde são reconhecidos por receptores que podem desencadear um rápido processo de melanização das superfícies do parasito, que envolve a formação de um complexo proteico espesso e escuro ao redor de patógenos invasores (77). Os oocinetos entram em contato com a membrana basal, que contém laminina e colágeno tipo IV. Numerosas moléculas de superfície e secretoras de oxitocina demonstraram se ligar a essas duas substâncias, incluindo P28, P25, CTRP e SOAP. Os parasitos que não morrem no processo enfrentado até chegar a lâmina basal, passam por uma espécie de interação onde a atividade de migração é inibida e a progressão do ciclo ativada (78).

Os oocistos tornam-se esféricos quando perdem o complexo apical e a camada interna da película (79). Dentro dessa célula diferenciada, o aparato

sintético do retículo endoplasmático e o aparelho de Golgi são bastante expandidos. Uma vez que os núcleos de células poliplóides se dividem cerca de uma vez por dia, existem 2.000 a 8.000 núcleos haploides em células muito expandidas (agora $\pm 50 \mu\text{m}$ de diâmetro) após 12 a 18 dias. À medida que cresce, o oocisto secreta uma parede cística amorfa proeminente que o separa do epitélio do intestino médio e da membrana basal subjacente. A troca de nutrientes deve ocorrer através desta parede, que se diz ser rica em proteína transglutaminase (80).

O aumento da biomassa vetorial através da expansão de esporozoítos impõe maiores demandas metabólicas ao hospedeiro invertebrado. Acima de tudo, há uma grande mudança no nível de aminoácidos do fluido hemocoelômico. Essa pressão de seleção causada pela infecção em larga escala deve ser levada em consideração e pode contribuir para que a maioria dos mosquitos em áreas endêmicas de malária não sejam vetores (78). A partir do sexto dia de contato, o citoplasma do parasita começa a se dividir e as células filhas (esporozoítas) se desenvolvem na superfície celular. A organização da citocinese depende, pelo menos em parte, da expressão normal de proteínas circunsporozoítas (CS), pois a formação de esporozoítos (citocinese) é marcadamente reduzida na ausência de qualquer uma das proteínas CSP. A ruptura da parede do oocisto libera esporozoítos maduros (81)

Os esporozoítos devem atravessar duas barreiras físicas para alcançar os fluidos corporais que fluem: a cápsula do oocisto e a membrana basal do mosquito. A saída de esporozoítos dos oocistos é geralmente considerada um processo passivo, pois os esporozoítos do oocisto têm movimento limitado (82). Observações ultraestruturais iniciais mostram a presença de pequenas aberturas na cápsula e membrana basal de oocistos maduros. Ocasionalmente, os esporozoítos são vistos "penetrando" através dessas aberturas e entrando na hemolinfa (83). A cápsula do oocisto contém laminina do mosquito, com atividade transglutaminase provavelmente derivada do parasita. Além disso, a superfície interna da cápsula é revestida com proteínas circunsporezoíta (CS) de *Plasmodium* spp. (84, 85).

Figura 1. Interação e invasão pelo *Plasmodium* spp. da glândula salivar do vetor.

Thrombospondin-related adhesion protein (TRAP), Circumsporozoite protein (CSP), MAEBL (merozoite apical erythrocyte binding ligand).

Fonte: Autoria própria, criado com "Biorender app", usado sob os termos de licença Creative Commons Attribution 3.0 France (CC BY 3.0 FR).

Os esporozoítos são liberados na hemocele e os parasitos estão sujeitos ao fluxo da hemolinfa, que os levam para a parte posterior do inseto entram no vaso dorsal, através de óstios pareados localizados na porção anterior de cada segmento abdominal. Chegando no coração, a maioria dos esporozoítos se desloca rapidamente para a parte anterior do mosquito, enquanto alguns permanecem estacionários nas regiões anteriores dos segmentos abdominais. Essas regiões de aprisionamento coincidem com a localização das células

pericárdicas, que circundam o coração, em *Anopheles quadrimaculatus*, forma vistas realizando fagocitose (86, 87).

O fluxo de fluido pelos vasos dorsais é vigoroso, transportando esporozoítos do abdome para a cabeça. Ao atingir a extremidade anterior do segmento aórtico do vaso dorsal, os esporozoítos depositam-se anteriormente ao cérebro e drenam posteriormente para os seios perivisceral, perineural (ventral) e pericárdico (dorsal) da cavidade sanguínea. Nessas câmaras, o fluxo de hemolinfa é bastante retardado e auxiliado pela contração peristáltica dos vasos dorsais e pela pressão de vários órgãos pulsáteis acessórios. Em um ciclo bem-sucedido do parasita, os esporozoítos invadem as glândulas salivares (87).

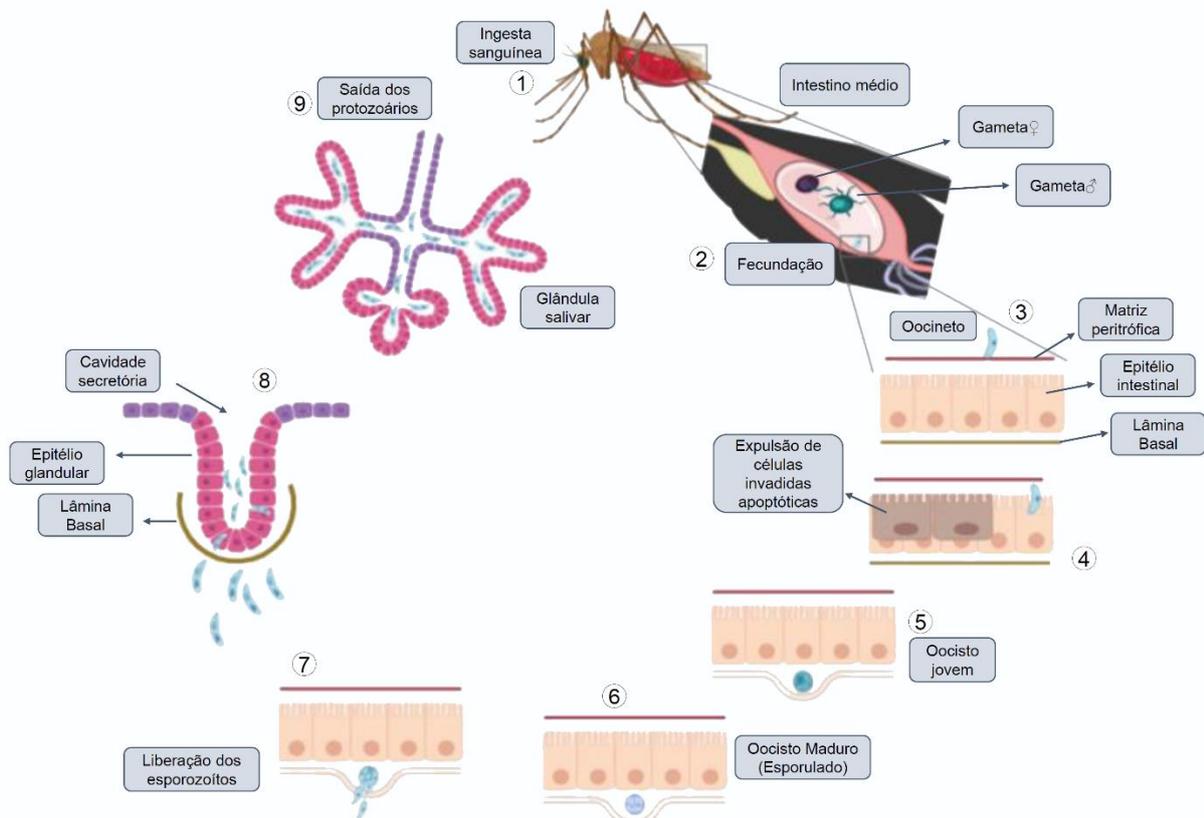
De todos os tipos celulares em que os esporozoítos entram em contato, apenas as glândulas salivares são invadidas, acredita-se que essa interação seja feita por meio de receptor-ligante, forma identificadas proteínas de superfície como a Sagin, que atua como receptor para a interação do *Plasmodium* (88). As *rhoptry neck protein 2, 4 e 5* que estão envolvidas na capacidade de fixação entre o esporozoítos e a glândula salivar (Fig. 2) (89, 90).

Existem certas semelhanças entre os processos de invasão do epitélio do intestino médio e de invasão das glândulas salivares. Por exemplo, o peptídeo SM-1 (Peptídeo 1 das glândulas salivares e intestino médio) já demonstrou ter habilidade de bloquear a invasão pelos oocinetos do epitélio do intestino médio, bem como também interfere no processo de invasão das glândulas salivares (91). Uma das implicações desta similaridade é que o reconhecimento e a ligação inicial ao epitélio das glândulas salivares é mediada por um ligante comum, porém ainda não determinado (92).

Entre as moléculas do esporozoíto que participam da invasão das glândulas salivares podemos destacar a MAEBL (*Merozoite apical erythrocyte-like protein*) que é importante na ligação dos esporozoítos ao epitélio das glândulas salivares (93). Ambas, CS e TRAP também contribuem para as interações específicas entre esporozoítos e glândula salivar (88), e sugere-se que motivos no domínio A da TRAP e o domínio TSP atuam juntos para ligar os esporozoítos ao heparan sulfato e outro ligante ainda desconhecido, nas glândulas salivares (94). O ligante de CS nas glândulas salivares ainda necessita ser determinado.

Os esporozoítos parecem reconhecer a lâmina basal que especificamente recobre as glândulas salivares e então penetram nestas (95), porém não é conhecido ainda o mecanismo pelo qual os esporozoítos rompem a lâmina basal e invadem as glândulas salivares, sabendo-se porém, que a invasão das glândulas salivares é interrompida por uma expressão transitória de anticorpo monoclonal anti-proteína circunesporozóitica de *P.gallinaceum* em *Aedes aegypti* (96, 97). Seguindo um período breve em que permanecem no vacúolo parasitóforo, os esporozoítos emergem ao citoplasma, penetrando na cavidade secretória e então migrando aos dutos das glândulas salivares. Permanece obscuro se os esporozoítos são capazes de penetrar nas regiões proximais nos dutos, que tem uma parede de quitina (98). Após um prolongado período de residência nas glândulas salivares, cerca de 50 esporozoítos são inoculados no hospedeiro vertebrado em cada repasto realizado pelo mosquito anofelino (99).

Figura 2. Desenvolvimento do *Plasmodium* no hospedeiro invertebrado.



Fonte: Autoria própria, criado com “Biorender app”, usado sob os termos de licença Creative Commons Attribution 3.0 France (CC BY 3.0 FR).

A expressão de proteínas nas glândulas salivares é significativamente modificada pela infecção com *Plasmodium*, tanto em termos de tipos de proteínas, quanto em sua quantidade total (89, 100). Um efeito disto é que o mosquito infectado não realiza repasto tão eficientemente, necessitando de mais picadas no hospedeiro vertebrado, esta condição se dá pela modulação realizada dentro das glândulas salivares. Esta mudança resulta numa maior probabilidade de injeção de esporozoítos no hospedeiro vertebrado, constituindo assim uma clara vantagem ao parasito (101, 102). Entretanto foi demonstrada a ação de proteínas salivares como a GILT- like que interage com o esporozoíto no momento em que está se movimento para a saída dos ductos salivares e está auxilia na diminuição de motilidade deste parasito, o que favorece a fagocitose por células do sistema imunológico do hospedeiro (103).

5. INTERAÇÃO PARASITO/SISTEMA IMUNE DO VETOR

O conceito de que mecanismos imunes do inseto estariam envolvidos na capacidade infectiva do vetor por *Plasmodium* spp. já foi levantada cerca de 80 anos atrás (104). O fato de que os parasitos devem atravessar duas barreiras epiteliais do inseto vetor e circular em sua hemolinfa cria oportunidades claras de combate deste pelos mecanismos epiteliais e imunes humorais do vetor.

Apesar dos mosquitos não possuírem imunidade adaptativa, sendo incapazes de produzir linfócitos e imunoglobulinas (anticorpos), a presença de imunidade inata permite o combate de uma vasta gama de organismos invasores, dentre eles os parasitos. A ação, através de moléculas semelhantes aos anticorpos 34 (“priming”) e outras equivalentes a linfócitos, conhecidas como hemócitos (presentes na resposta inata e humoral), são características indistinguíveis do sistema imune dos insetos (105) (14) (2).

As respostas celulares incluem fagocitose e encapsulamento das células, sendo a fagocitose relacionada principalmente a bactérias e o encapsulamento à patógenos maiores. Entretanto, para plasmódios, nenhuma interação entre os hemócitos e oocinetos e oocistos tem sido demonstrada, sugerindo que estes mecanismos não estão envolvidos na resposta do inseto aos parasitos, pelo menos nos estágios iniciais da infecção (2). A resposta imune humoral do vetor inclui a síntese de peptídeos antimicrobianos/antiparasitários por hemócitos e

células do “*fat body*”, entretanto a participação destas moléculas como antiparasitárias *in vivo* não está claramente definida. Os hemócitos secretam moléculas essenciais para a formação de membranas basais, e algumas destas moléculas também estão presentes na superfície de parasitos, sugerindo uma interação da lâmina basal com a superfície parasitária (2).

Nas primeiras 5 a 6 horas após o repasto, o parasito é resistente às substâncias do sistema complemento do hospedeiro vertebrado, ingeridas no repasto, porém, durante o desenvolvimento do zigoto, o parasito muda a composição de sua parede celular, tornando-se sensível ao complemento (2). Interessantemente, neste momento, numerosas proteases são secretadas pelo mosquito a fim de digerir o alimento, servindo também como destruidores dos fatores B, D, C3a e C5 do complemento (2) desta forma impedindo a formação do Complexo de ataque à membrana (2), mostrando um exemplo de co-adaptação (2). Entender esses mecanismos é de extrema importância, pois aumentam a possibilidade de integrar novas alternativas ao combate da malária.

Em mosquitos adultos, os hemócitos estão envolvidos em ambos, resposta imune inata e humoral, que são a marca registrada do sistema imune dos insetos (2). As respostas celulares incluem fagocitose e encapsulamento das células, sendo a fagocitose relacionada principalmente a bactérias e o encapsulamento à patógenos maiores. Entretanto, para plasmódios, nenhuma interação entre os hemócitos e oocinetos e oocistos tem sido demonstrada, sugerindo que estes mecanismos não estão envolvidos na resposta do inseto aos parasitos, pelo menos nos estágios iniciais da infecção (2).

REFERÊNCIAS

1. Alout H, Ndam NT, Sandeu MM, Djegbe I, Chandre F, Dabire RK, et al. Insecticide resistance alleles affect vector competence of *Anopheles gambiae* s.s. for *Plasmodium falciparum* field isolates. *PLoS One*. 2013;8(5):e63849.
2. .
3. 2016
4. Rono MK, Whitten MM, Oulad-Abdelghani M, Levashina EA, Marois E. The major yolk protein vitellogenin interferes with the anti-plasmodium response in the malaria mosquito *Anopheles gambiae*. *PLoS Biol*. 2010;8(7):e1000434.
5. Smith RC, Vega-Rodriguez J, Jacobs-Lorena M. The *Plasmodium* bottleneck: malaria parasite losses in the mosquito vector. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*. 2014;109(5):644-61.

6. Fraiture M, Baxter RH, Steinert S, Chelliah Y, Frolet C, Quispe-Tintaya W, et al. Two mosquito LRR proteins function as complement control factors in the TEP1-mediated killing of Plasmodium. *Cell host & microbe*. 2009;5(3):273-84.
7. Chouaia B, Rossi P, Montagna M, Ricci I, Crotti E, Damiani C, et al. Molecular evidence for multiple infections as revealed by typing of Asaia bacterial symbionts of four mosquito species. *Appl Environ Microbiol*. 2010;76(22):7444-50.
8. Boissiere A, Tchioffo MT, Bachar D, Abate L, Marie A, Nsango SE, et al. Midgut microbiota of the malaria mosquito vector *Anopheles gambiae* and interactions with *Plasmodium falciparum* infection. *PLoS pathogens*. 2012;8(5):e1002742.
9. Eappen AG, Smith RC, Jacobs-Lorena M. Enterobacter-activated mosquito immune responses to Plasmodium involve activation of SRPN6 in *Anopheles stephensi*. *PLoS One*. 2013;8(5):e62937.
10. Dennison NJ, Saraiva RG, Cirimotich CM, Mlambo G, Mongodin EF, Dimopoulos G. Functional genomic analyses of Enterobacter, Anopheles and Plasmodium reciprocal interactions that impact vector competence. *Malar J*. 2016;15(1):425.
11. Vinetz JM, Valenzuela JG, Specht CA, Aravind L, Langer RC, Ribeiro JM, et al. Chitinases of the avian malaria parasite *Plasmodium gallinaceum*, a class of enzymes necessary for parasite invasion of the mosquito midgut. *The Journal of biological chemistry*. 2000;275(14):10331-41.
12. Dimopoulos G. Insect immunity and its implication in mosquito-malaria interactions. *Cellular Microbiology*. 2003;5(1):3-14.
13. Baum J, Richard D, Healer J, Rug M, Krnjajski Z, Gilberger TW, et al. A conserved molecular motor drives cell invasion and gliding motility across malaria life cycle stages and other apicomplexan parasites. *The Journal of biological chemistry*. 2006;281(8):5197-208.
14. Dong Y, Aguilar R, Xi Z, Warr E, Mongin E, Dimopoulos G. *Anopheles gambiae* immune responses to human and rodent Plasmodium parasite species. *PLoS pathogens*. 2006;2(6):e52.
15. Rupp I, Bosse R, Schirmeister T, Pradel G. Effect of protease inhibitors on exflagellation in *Plasmodium falciparum*. *Molecular and biochemical parasitology*. 2008;158(2):208-12.
16. Azambuja P, Garcia ES, Ratcliffe NA. Gut microbiota and parasite transmission by insect vectors. *Trends Parasitol*. 2005;21(12):568-72.
17. Cator LJ, George J, Blanford S, Murdock CC, Baker TC, Read AF, et al. 'Manipulation' without the parasite: altered feeding behaviour of mosquitoes is not dependent on infection with malaria parasites. *Proc Biol Sci*. 2013;280(1763):20130711.
18. Barclay VC, Sim D, Chan BH, Nell LA, Rabaa MA, Bell AS, et al. The evolutionary consequences of blood-stage vaccination on the rodent malaria *Plasmodium chabaudi*. *PLoS Biol*. 2012;10(7):e1001368.
19. Batista EP, Costa EF, Silva AA. *Anopheles darlingi* (Diptera: Culicidae) displays increased attractiveness to infected individuals with *Plasmodium vivax* gametocytes. *Parasites & vectors*. 2014;7:251.
20. Cator LJ, Lynch PA, Thomas MB, Read AF. Alterations in mosquito behaviour by malaria parasites: potential impact on force of infection. *Malar J*. 2014;13:164.
21. Billker O, Dechamps S, Tewari R, Wenig G, Franke-Fayard B, Brinkmann V. Calcium and a Calcium-Dependent Protein Kinase Regulate Gamete Formation and Mosquito Transmission in a Malaria Parasite. *Cell*. 2004;117(4):503-14.
22. Billker O, Lindo V, Panico M, Etienne AE, Paxton T, Dell A, et al. Identification of xanthurenic acid as the putative inducer of malaria development in the mosquito. *Nature*. 1998;392(6673):289-92.
23. Billker O, Shaw MK, Margos G, Sinden RE. The roles of temperature, pH and mosquito factors as triggers of male and female gametogenesis of *Plasmodium berghei* in vitro. *Parasitology*. 1997;115 (Pt 1):1-7.

24. Cirimotich CM, Dong Y, Clayton AM, Sandiford SL, Souza-Neto JA, Mulenga M, et al. Natural microbe-mediated refractoriness to Plasmodium infection in Anopheles gambiae. *Science*. 2011;332(6031):855-8.
25. Walker DM, Oghumu S, Gupta G, McGwire BS, Drew ME, Satoskar AR. Mechanisms of cellular invasion by intracellular parasites. *Cellular and molecular life sciences : CMLS*. 2014;71(7):1245-63.
26. Osta MA, Christophides GK, Vlachou D, Kafatos FC. Innate immunity in the malaria vector Anopheles gambiae: comparative and functional genomics. *Journal of Experimental Biology*. 2004;207(15):2551-63.
27. Holt RA, Subramanian GM, Halpern A, Sutton GG, Charlab R, Nusskern DR, et al. The Genome Sequence of the Malaria Mosquito *Anopheles gambiae*. 2002;298(5591):129-49.
28. Lu Y, Su F, Li Q, Zhang J, Li Y, Tang T, et al. Pattern recognition receptors in Drosophila immune responses. *Developmental & Comparative Immunology*. 2020;102:103468.
29. Dimopoulos G, Richman A, Müller HM, Kafatos FC. Molecular immune responses of the mosquito Anopheles gambiae to bacteria and malaria parasites. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1997;94(21):11508-13.
30. Kumar A, Srivastava P, Sirisena P, Dubey SK, Kumar R, Shrinet J, et al. Mosquito Innate Immunity. 2018;9(3):95.
31. League GP, Estévez-Lao TY, Yan Y, Garcia-Lopez VA, Hillyer JF. Anopheles gambiae larvae mount stronger immune responses against bacterial infection than adults: evidence of adaptive decoupling in mosquitoes. *Parasites & vectors*. 2017;10(1):367.
32. Zhang W, Tettamanti G, Bassal T, Heryanto C, Eleftherianos I, Mohamed A. Regulators and signalling in insect antimicrobial innate immunity: Functional molecules and cellular pathways. *Cellular Signalling*. 2021;83:110003.
33. Dimopoulos G. Insect immunity and its implication in mosquito–malaria interactions. 2003;5(1):3-14.
34. Crompton PD, Moebius J, Portugal S, Waisberg M, Hart G, Garver LS, et al. Malaria immunity in man and mosquito: insights into unsolved mysteries of a deadly infectious disease. *Annual review of immunology*. 2014;32:157-87.
35. Sekar V, Rivero A, Pigeault R, Gandon S, Drews A, Ahren D, et al. Gene regulation of the avian malaria parasite Plasmodium relictum, during the different stages within the mosquito vector. *Genomics*. 2021;113(4):2327-37.
36. Arora G, Sajid A, Chuang YM, Dong Y, Gupta A, Gambardella K, et al. Immunomodulation by Mosquito Salivary Protein AgSAP Contributes to Early Host Infection by Plasmodium. *mBio*. 2021;12(6):e0309121.
37. Venugopal K, Hentzschel F, Valkiūnas G, Marti M. Plasmodium asexual growth and sexual development in the haematopoietic niche of the host. *Nature reviews Microbiology*. 2020;18(3):177-89.
38. Tachibana M, Ishino T, Takashima E, Tsuboi T, Torii M. A male gametocyte osmiophilic body and microgamete surface protein of the rodent malaria parasite Plasmodium yoelii (PyMiGS) plays a critical role in male osmiophilic body formation and exflagellation. *Cell Microbiol*. 2018;20(5):e12821.
39. Yamamoto DS, Sumitani M, Hatakeyama M, Matsuoka H. Malaria infectivity of xanthurenic acid-deficient anopheline mosquitoes produced by TALEN-mediated targeted mutagenesis. *Transgenic Research*. 2018;27(1):51-60.
40. Arai M, Billker O, Morris HR, Panico M, Delcroix M, Dixon D, et al. Both mosquito-derived xanthurenic acid and a host blood-derived factor regulate gametogenesis of Plasmodium in the midgut of the mosquito. *Molecular and biochemical parasitology*. 2001;116(1):17-24.

41. Vlachou D, Kafatos FC. The complex interplay between mosquito positive and negative regulators of Plasmodium development. *Current Opinion in Microbiology*. 2005;8(4):415-21.
42. Chege GM, Beier JC. Effect of Plasmodium falciparum on the survival of naturally infected afro-tropical Anopheles (Diptera: Culicidae). *Journal of medical entomology*. 1990;27(4):454-8.
43. Gouagna LC, Banccone G, Yao F, Yameogo B, Dabiré KR, Costantini C, et al. Genetic variation in human HBB is associated with Plasmodium falciparum transmission. *Nature genetics*. 2010;42(4):328-31.
44. Baton LA, Ranford-Cartwright LC. How do malaria ookinetes cross the mosquito midgut wall? *Trends in Parasitology*. 2005;21(1):22-8.
45. Gouagna LC, Mulder B, Noubissi E, Tchuinkam T, Verhave JP, Boudin C. The early sporogonic cycle of Plasmodium falciparum in laboratory-infected Anopheles gambiae: an estimation of parasite efficacy. *Tropical medicine & international health : TM & IH*. 1998;3(1):21-8.
46. Sato S. Plasmodium—a brief introduction to the parasites causing human malaria and their basic biology. *Journal of Physiological Anthropology*. 2021;40(1):1.
47. Klug D, Frischknecht F. Motility precedes egress of malaria parasites from oocysts. *eLife*. 2017;6:e19157.
48. Dinglasan RR, Devenport M, Florens L, Johnson JR, McHugh CA, Donnelly-Doman M, et al. The Anopheles gambiae adult midgut peritrophic matrix proteome. *Insect biochemistry and molecular biology*. 2009;39(2):125-34.
49. Cui Y, Niu G, Li VL, Wang X, Li J. Analysis of blood-induced Anopheles gambiae midgut proteins and sexual stage Plasmodium falciparum interaction reveals mosquito genes important for malaria transmission. *Scientific reports*. 2020;10(1):14316.
50. Giersing BK, Vekemans J, Nava S, Kaslow DC, Moorthy V. Report from the World Health Organization's third Product Development for Vaccines Advisory Committee (PDVAC) meeting, Geneva, 8-10th June 2016. *Vaccine*. 2019;37(50):7315-27.
51. Dessens JT, Mendoza J, Claudianos C, Vinetz JM, Khater E, Hassard S, et al. Knockout of the rodent malaria parasite chitinase pbCHT1 reduces infectivity to mosquitoes. *Infection and immunity*. 2001;69(6):4041-7.
52. Tsai YL, Hayward RE, Langer RC, Fidock DA, Vinetz JM. Disruption of Plasmodium falciparum chitinase markedly impairs parasite invasion of mosquito midgut. *Infection and immunity*. 2001;69(6):4048-54.
53. Vinetz JM, Dave SK, Specht CA, Brameld KA, Xu B, Hayward R, et al. The chitinase PfCHT1 from the human malaria parasite Plasmodium falciparum lacks proenzyme and chitin-binding domains and displays unique substrate preferences. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1999;96(24):14061-6.
54. Patra KP, Kaur H, Kolli SK, Wozniak JM, Prieto JH, Yates JR, 3rd, et al. A Hetero-Multimeric Chitinase-Containing Plasmodium falciparum and Plasmodium gallinaceum Ookinete-Secreted Protein Complex Involved in Mosquito Midgut Invasion. *Frontiers in cellular and infection microbiology*. 2020;10:615343.
55. Li F, Patra KP, Vinetz JM. An anti-Chitinase malaria transmission-blocking single-chain antibody as an effector molecule for creating a Plasmodium falciparum-refractory mosquito. *The Journal of infectious diseases*. 2005;192(5):878-87.
56. Dessens JT, Mendoza J, Claudianos C, Vinetz JM, Khater E, Hassard S, et al. Knockout of the Rodent Malaria Parasite Chitinase PbCHT1 Reduces Infectivity to Mosquitoes. 2001;69(6):4041-7.
57. Kudyba HM, Cobb DW, Vega-Rodríguez J, Muralidharan V. Some conditions apply: Systems for studying Plasmodium falciparum protein function. *PLoS pathogens*. 2021;17(4):e1009442.
58. Kaur H, Pacheco MA, Garber L, Escalante AA, Vinetz JM. Evolutionary Insights into the Microneme-Secreted, Chitinase-Containing High-Molecular-Weight Protein

- Complexes Involved in Plasmodium Invasion of the Mosquito Midgut. *Infection and immunity*. 2022;90(1):e0031421.
59. Kaur H, Pacheco MA, Garber L, Escalante AA, Vinetz JM. Evolutionary Insights into the Microneme-Secreted, Chitinase-Containing High-Molecular-Weight Protein Complexes Involved in *Plasmodium* Invasion of the Mosquito Midgut. 2022;90(1):e00314-21.
60. Paoletta MS, Wilkowsky SE. Thrombospondin Related Anonymous Protein Superfamily in Vector-Borne Apicomplexans: The Parasite's Toolkit for Cell Invasion. *Frontiers in cellular and infection microbiology*. 2022;12:831592.
61. Sultan AA, Thathy V, Frevert U, Robson KJ, Crisanti A, Nussenzweig V, et al. TRAP is necessary for gliding motility and infectivity of plasmodium sporozoites. *Cell*. 1997;90(3):511-22.
62. Robson KJ, Hall JR, Jennings MW, Harris TJ, Marsh K, Newbold CI, et al. A highly conserved amino-acid sequence in thrombospondin, properdin and in proteins from sporozoites and blood stages of a human malaria parasite. *Nature*. 1988;335(6185):79-82.
63. Smith RC, Jacobs-Lorena M. Plasmodium-Mosquito Interactions: A Tale of Roadblocks and Detours. *Advances in insect physiology*. 2010;39:119-49.
64. Su XZ, Zhang C, Joy DA. Host-Malaria Parasite Interactions and Impacts on Mutual Evolution. *Frontiers in cellular and infection microbiology*. 2020;10:587933.
65. Zieler H, Nawrocki JP, Shahabuddin M. Plasmodium gallinaceum ookinetes adhere specifically to the midgut epithelium of Aedes aegypti by interaction with a carbohydrate ligand. *Journal of Experimental Biology*. 1999;202(5):485-95.
66. Dennison NJ, BenMarzouk-Hidalgo OJ, Dimopoulos G. MicroRNA-regulation of Anopheles gambiae immunity to Plasmodium falciparum infection and midgut microbiota. *Developmental and comparative immunology*. 2015;49(1):170-8.
67. Zieler H, Keister DB, Dvorak JA, Ribeiro JMC. A snake venom phospholipase A2 blocks malaria parasite development in the mosquito midgut by inhibiting ookinete association with the midgut surface. *Journal of Experimental Biology*. 2001;204(23):4157-67.
68. Ito J, Ghosh A, Moreira LA, Wimmer EA, Jacobs-Lorena M. Transgenic anopheline mosquitoes impaired in transmission of a malaria parasite. *Nature*. 2002;417(6887):452-5.
69. Baton LA, Ranford-Cartwright LC. Plasmodium falciparum ookinete invasion of the midgut epithelium of Anopheles stephensi is consistent with the Time Bomb model. *Parasitology*. 2004;129(6):663-76.
70. Han YS, Barillas-Mury C. Implications of Time Bomb model of ookinete invasion of midgut cells. *Insect biochemistry and molecular biology*. 2002;32(10):1311-6.
71. Shahabuddin M, Pimenta PFP. *Plasmodium gallinaceum* preferentially invades vesicular ATPase-expressing cells in *Aedes aegypti* midgut. 1998;95(7):3385-9.
72. Dimopoulos G, Seeley D, Wolf A, Kafatos FC. Malaria infection of the mosquito Anopheles gambiae activates immune-responsive genes during critical transition stages of the parasite life cycle. 1998;17(21):6115-23.
73. Vizioli J, Richman AM, Uttenweiler-Joseph S, Blass C, Bulet P. The defensin peptide of the malaria vector mosquito Anopheles gambiae: antimicrobial activities and expression in adult mosquitoes. *Insect biochemistry and molecular biology*. 2001;31(3):241-8.
74. Smith RC, Barillas-Mury C. Plasmodium Oocysts: Overlooked Targets of Mosquito Immunity. *Trends Parasitol*. 2016;32(12):979-90.
75. Povelones M, Bhagavatula L, Yassine H, Tan LA, Upton LM, Osta MA, et al. The CLIP-domain serine protease homolog SPCLIP1 regulates complement recruitment to microbial surfaces in the malaria mosquito Anopheles gambiae. *PLoS pathogens*. 2013;9(9):e1003623.

76. Gupta L, Molina-Cruz A, Kumar S, Rodrigues J, Dixit R, Zamora RE, et al. The STAT pathway mediates late-phase immunity against Plasmodium in the mosquito *Anopheles gambiae*. *Cell host & microbe*. 2009;5(5):498-507.
77. Barreaux AM, Barreaux P, Koella JC. Overloading the immunity of the mosquito *Anopheles gambiae* with multiple immune challenges. *Parasites & vectors*. 2016;9:210.
78. Sinden RE. Molecular interactions between Plasmodium and its insect vectors. *2002;4(11):713-24*.
79. Canning EU, Sinden RE. The organization of the ookinete and observations on nuclear division in oocysts of *Plasmodium berghei*. *Parasitology*. 1973;67(1):29-40.
80. Adini A, Krugliak M, Ginsburg H, Li L, Lavie L, Warburg A. Transglutaminase in Plasmodium parasites: activity and putative role in oocysts and blood stages. *Molecular and biochemical parasitology*. 2001;117(2):161-8.
81. Sinden RE. Molecular interactions between Plasmodium and its insect vectors. *Cell Microbiol*. 2002;4(11):713-24.
82. Vanderberg JP. Studies on the motility of Plasmodium sporozoites. *The Journal of protozoology*. 1974;21(4):527-37.
83. Sinden RE. Excystation by sporozoites of malaria parasites. *Nature*. 1974;252(5481):314.
84. Wang Q, Fujioka H, Nussenzweig V. Exit of Plasmodium sporozoites from oocysts is an active process that involves the circumsporozoite protein. *PLoS pathogens*. 2005;1(1):e9.
85. Aikawa M, Atkinson CT, Beaudoin LM, Sedegah M, Charoenvit Y, Beaudoin R. Localization of CS and non-CS antigens in the sporogonic stages of *Plasmodium yoelii*. *Bulletin of the World Health Organization*. 1990;68 Suppl(Suppl):165-71.
86. Jones JC. The heart and associated tissues of *Anopheles quadrimaculatus* say (Diptera: Culicidae). 1954;94(1):71-123.
87. Hillyer JF, Barreau C, Vernick KD. Efficiency of salivary gland invasion by malaria sporozoites is controlled by rapid sporozoite destruction in the mosquito haemocoel. *International journal for parasitology*. 2007;37(6):673-81.
88. Ghosh AK, Devenport M, Jethwaney D, Kalume DE, Pandey A, Anderson VE, et al. Malaria parasite invasion of the mosquito salivary gland requires interaction between the Plasmodium TRAP and the *Anopheles saglin* proteins. *PLoS pathogens*. 2009;5(1):e1000265.
89. Ishino T, Murata E, Tokunaga N, Baba M, Tachibana M, Thongkukiatkul A, et al. Rhoptry neck protein 2 expressed in Plasmodium sporozoites plays a crucial role during invasion of mosquito salivary glands. *Cell Microbiol*. 2019;21(1):e12964.
90. Nozaki M, Baba M, Tachibana M, Tokunaga N, Torii M, Ishino T. Detection of the Rhoptry Neck Protein Complex in Plasmodium Sporozoites and Its Contribution to Sporozoite Invasion of Salivary Glands. *mSphere*. 2020;5(4).
91. Ghosh AK, Ribolla PE, Jacobs-Lorena M. Targeting Plasmodium ligands on mosquito salivary glands and midgut with a phage display peptide library. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2001;98(23):13278-81.
92. Abraham EG, Jacobs-Lorena M. Mosquito midgut barriers to malaria parasite development. *Insect biochemistry and molecular biology*. 2004;34(7):667-71.
93. Mueller AK, Kohlhepp F, Hammerschmidt C, Michel K. Invasion of mosquito salivary glands by malaria parasites: prerequisites and defense strategies. *International journal for parasitology*. 2010;40(11):1229-35.
94. Song G, Koksal AC, Lu C, Springer TA. Shape change in the receptor for gliding motility in Plasmodium sporozoites. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2012;109(52):21420-5.
95. Pimenta PF, Touray M, Miller L. The journey of malaria sporozoites in the mosquito salivary gland. *The Journal of eukaryotic microbiology*. 1994;41(6):608-24.

96. Barreau C, Touray M, Pimenta PF, Miller LH, Vernick KD. Plasmodium gallinaceum: sporozoite invasion of Aedes aegypti salivary glands is inhibited by anti-gland antibodies and by lectins. *Experimental parasitology*. 1995;81(3):332-43.
97. Matuschewski K. Getting infectious: formation and maturation of Plasmodium sporozoites in the Anopheles vector. 2006;8(10):1547-56.
98. Wells MB, Andrew DJ. "Salivary gland cellular architecture in the Asian malaria vector mosquito Anopheles stephensi". *Parasites & vectors*. 2015;8(1):617.
99. Chuang YM, Agunbiade TA, Tang XD, Freudzon M, Almeras L, Fikrig E. The Effects of A Mosquito Salivary Protein on Sporozoite Traversal of Host Cells. *The Journal of infectious diseases*. 2021;224(3):544-53.
100. Waisberg M, Molina-Cruz A, Mizurini DM, Gera N, Sousa BC, Ma D, et al. Plasmodium falciparum infection induces expression of a mosquito salivary protein (Agaphelin) that targets neutrophil function and inhibits thrombosis without impairing hemostasis. *PLoS pathogens*. 2014;10(9):e1004338.
101. Demarta-Gatsi C, Mécheri S, J. T. J. O. V. A. Diseases TIT. Vector saliva controlled inflammatory response of the host may represent the Achilles heel during pathogen transmission. 2021;27.
102. Fontaine A, Diouf I, Bakkali N, Missé D, Pagès F, Fusai T, et al. Implication of haematophagous arthropod salivary proteins in host-vector interactions. *Parasites & vectors*. 2011;4(1):187.
103. Schleicher TR, Yang J, Freudzon M, Rembisz A, Craft S, Hamilton M, et al. A mosquito salivary gland protein partially inhibits Plasmodium sporozoite cell traversal and transmission. *Nature Communications*. 2018;9(1):2908.
104. . (0096-5294).
105. Christophides GK, Zdobnov E, Barillas-Mury C, Birney E, Blandin S, Blass C, et al. Immunity-related genes and gene families in Anopheles gambiae. *Science*. 2002;298(5591):159-65.

CAPÍTULO 6

INTERAÇÃO PARASITO-VETOR: UMA BREVE ABORDAGEM DOS MECANISMOS ENVOLVIDOS NA TRANSMISSÃO DE LEISHMANIOSES

Beatriz Sodré Matos¹
Priscilla Elias Ferreira Da Silva²
Hugo Felix Perini³
Thaís Soares Farnesi de Assunção⁴
Lúcio Roberto Cançado Castellano⁵
Marcos Vinícius Da Silva⁶

¹Doutoranda no Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical e Infectologia da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM).

²Doutora em Medicina Tropical e Infectologia da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM).

³Estágio Pós-doutoral pelo programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde – Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM).

⁴Central de laboratório do ICBN/ICBN/UFTM

⁵Professor efetivo da Escola Técnica de Saúde. Universidade Federal da Paraíba- UFPB.

⁶Professor efetivo do Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia. Universidade Federal do Triângulo Mineiro- UFTM.

RESUMO

As Leishmanioses configuram-se em um grave problema de saúde pública com quadros clínicos debilitantes que afetam sobretudo populações vulneráveis socioeconomicamente. Para compreender a biologia da interação celular e molecular, diversos estudos abordam a relação parasito-vetor com o objetivo de elucidar os processos de adesão, desenvolvimento e transmissão do parasito. É muito bem relatado na literatura, em experimentos *in vivo* e *in vitro*, a interação de *Leishmania infatum* em seu vetor natural *Lutzomyia longipalpis*. Diversos fatores são responsáveis pelo sucesso evolutivo de *Leishmania* spp. Sugere-se que o lipofosfoglicano (LPG) é o fator responsável pela adesão do parasito ao epitélio intestinal do flebotomíneo, protegendo o parasito de ataques enzimáticos. Análises estruturais desse glicoconjugado revelam que a variação dos açúcares das cadeias laterais e “cap” apresentam polimorfismos específicos. LPG é fundamental na sobrevivência dos parasitos em todos os vetores das Leishmanioses. Além disso, a saliva dos flebotomíneos também alcançaram notável importância devido às propriedades farmacológicas nelas presentes (vasodilatadores, antiagregadores plaquetários, anti-hemostáticos e compostos imunossupressores) o que facilita o sucesso do parasito no interior das células do hospedeiro vertebrado bem como a exacerbação da infecção. Isto posto, este capítulo apresenta informações atualizadas sobre os processos envolvendo a interação parasito-vetor, além disso abarca aspectos sobre a resposta

imunológica do hospedeiro frente à infecção por *Leishmania* spp. De modo geral, aclarar aspectos inerentes à essa relação intrínseca são imprescindíveis para a formulação de novas estratégias de controle vetorial e desenvolvimento de fármacos com baixa toxicidade.

Palavras-chave: *Leishmania* spp., parasitose, flebotomíneos.

1. CICLO DA *Leishmania* spp. NO HOSPEDEIRO INVERTEBRADO

O ciclo de *Leishmania* spp. no hospedeiro invertebrado tem início quando a fêmea do inseto flebotomíneo, ao realizar o repasto sanguíneo, ingere sangue contendo macrófagos infectados com formas amastigotas do parasito. Na sequência, o sangue passará para a porção do intestino médio do inseto e os parasitos se diferenciarão. Esses estágios no vetor são caracterizados por modificações morfológicas e funcionais e o objetivo principal do parasito é sobreviver no interior do vetor. Este ciclo de vida é restrito ao trato digestivo dos flebotomíneos (Fig. 1).

A maioria das espécies de *Leishmania* (subgênero *Leishmania*) são parasitos suprapilários, ou seja, que tem seu desenvolvimento restrito ao intestino médio do vetor. Já os membros do subgênero *Viannia*, como por exemplo, *L. braziliensis*, são parasitos peripilários, que tem parte de seu desenvolvimento no intestino posterior, antes de migrar ao intestino médio (1). Neste capítulo, será descrito apenas o ciclo dos parasitos suprapilários, uma vez que a maioria das espécies presentes nessa classificação são causadores das Leishmanioses.

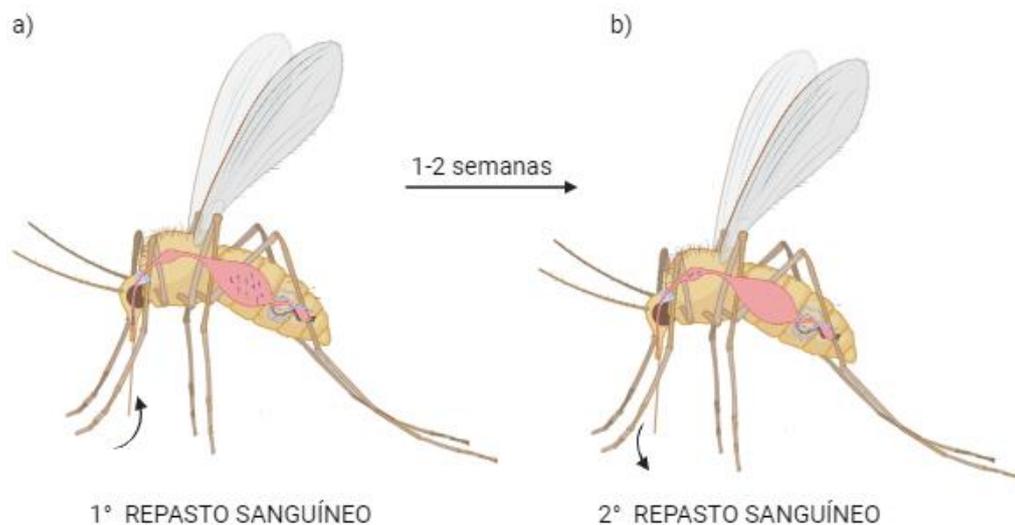
Para a maioria das *Leishmanias* spp., o tempo aproximadamente necessário para a realização de um ciclo completo é de cerca de 1 a 2 semanas, dependendo da espécie (1). De maneira geral, a duração do ciclo extrínseco do parasito vai variar de acordo com as espécies tanto do parasito quanto do vetor. Em condições laboratoriais, *L. infantum* tem suas formas metacíclicas entre três e quatro dias em vetores. Já *L. braziliensis* sofre diferenciações entre quatro e seis dias (2). Tais mecanismos dependerão sempre da quantidade e fontes de alimentação ingeridas (2).

Inicialmente, as amastigotas se diferenciam em formas pequenas, de pouca motilidade e com flagelo curto, denominadas promastigotas procíclicas, e

a partir daí começam o primeiro ciclo de multiplicação no vetor. Estas formas são observadas precocemente e são separadas do intestino médio por uma substância denominada matriz peritrófica (MP). Além disso, são relativamente resistentes ao ataque das enzimas digestivas do vetor.

As promastigotas procíclicas se diferenciam em promastigotas nectomonadas, que são formas maiores e delgadas. Estas formas têm a função de escapar do confinamento na matriz peritrófica, se ancorar às células epiteliais do intestino médio e posteriormente, migrar através do intestino anterior até a válvula estomodeal. As formas leptomanodas foram identificadas posteriormente (3) e se originaram das formas nectomonadas, em um segundo ciclo de multiplicação do parasito no inseto.

Figura 1. Fêmea do flebotomíneo após repasto sanguíneo de um mamífero infectado.



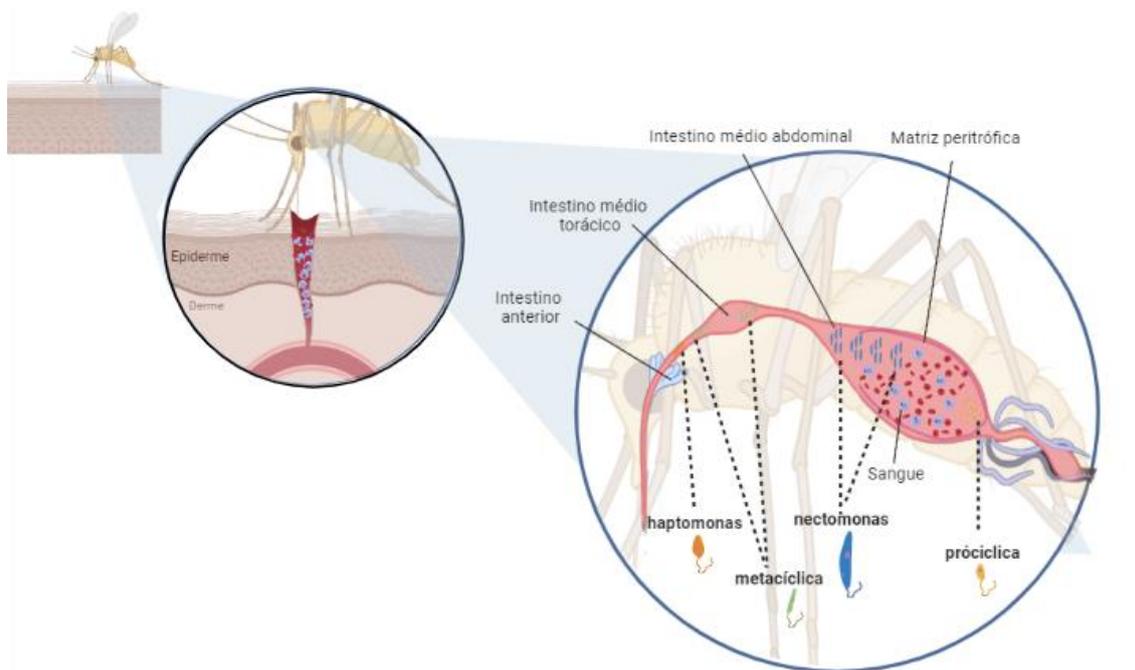
(A) Amastigotas se diferenciando em promastigotas - os parasitas estão localizados na extremidade posterior do intestino médio. (B) observa-se a migração para a região anterior do intestino após 1-2 semanas do repasto sanguíneo.

Fonte: Autoria própria. Made in ©BioRender – biorender.com

Nos processos finais do ciclo, as formas haptomonadas e metacíclicas podem ser observadas na válvula estomodeal. As formas haptomonadas ainda não tiveram seu precursor completamente definido, sendo gerada a partir das leptomonadas ou das nectomonadas, e tem a forma de “folha”, com flagelo curto e sem motilidade. Sua função está relacionada com a aderência à válvula

estomodeal, a fim de formar um “tampão” na válvula; em grandes infecções do vetor, a válvula estomodeal sofre degenerações, permitindo o escape de alguns parasitos para intestino anterior. As formas metacíclicas são as formas infectantes do parasito e se localizam atrás da válvula estomodeal. Esta forma têm um corpo pequeno e flagelo alongado que se movimenta rapidamente, sendo resistente à lise pelo complemento (Fig. 2).

Figura 2. O ciclo de *Leishmania* spp. no hospedeiro invertebrado



O ciclo inicia-se com o repasto sanguíneo quando a fêmea ingere sangue contendo macrófagos infectados com formas amastigotas que se diferenciam dentro do intestino médio em formas distintas.

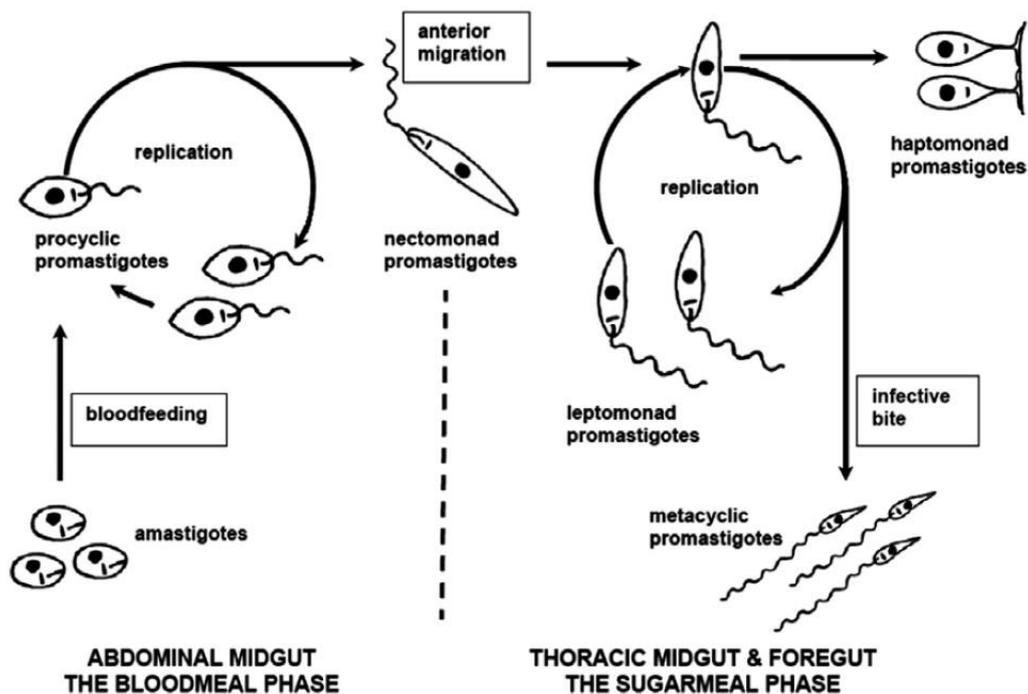
Fonte: Autoria própria. Made in ©BioRender – biorender.com

Recém determinantes foram identificadas para o crescimento e desenvolvimento. Dentre esses determinantes estão: microbiota intestinal do hospedeiro invertebrado e genes imunes. Na literatura encontra-se bem estabelecido que o parasita se desenvolve dentro do intestino do flebotomíneo em promastigotas metacíclicas infecciosas. Para isso, o parasita deve sobreviver a uma série de fatores como barreiras físicas e bioquímicas do intestino além de subprodutos da digestão do sangue. Estudos recentes apontam que na presença de *Leishmania infantum*, os flebotomíneos apresentam uma perda significativa

de diversidade microbiana intestinal ao longo do curso da infecção, esta diminuição está atrelada a um aumento da carga parasitária (4).

Décadas de estudos estabeleceram a ocorrência de um complexo processo de desenvolvimento envolvendo várias etapas morfológicas e funcionais bem definidas de *Leishmania* spp. no flebotomíneo. Algumas espécies de flebotomíneos mostram aparente especificidade para os parasitos de *Leishmania* transmitidos na natureza, enquanto outras espécies podem se infectar, experimentalmente, por mais de uma espécie de parasito. A fixação é um evento fundamental no ciclo de vida do parasito e um fator determinante para a competência vetorial dos flebotomíneos. De modo geral, a ancoragem ocorre por meio de interações específicas do receptor de lipofosfoglicano (LPG) no intestino do parasito. Para vetores permissivos as ligações ocorrem por meio de interações com glicanos contendo resíduos de N-acetil-D-galactosamina que são comuns na superfície do intestino médio desses vetores (5) (Fig. 3).

Figura 3. Desenvolvimento da *Leishmania* no vetor



Fonte: Adaptado de BATES, 2007

2. INTERFERÊNCIA DE *Leishmania* spp. NOS HÁBITOS ALIMENTARES DO VETOR

Hábitos alimentares do flebotomíneos podem aumentar a capacidade de transmitir doenças devido as múltiplas refeições de sangue. O comportamento do inseto promove o contato com hospedeiros possivelmente suscetíveis, tornando-se fundamental na infecção além de aumentar a infecciosidade de flebotomíneos (6). A literatura apresenta inúmeros trabalhos evidenciando a capacidade dos parasitos influenciarem os hábitos alimentares de seus vetores, beneficiando-se, portanto, desta modulação. Contudo, explicações detalhadas dos mecanismos utilizados pelos parasitos raramente são exibidas, tornando complexo o entendimento no que tange a uma possível manipulação adaptativa ou não adaptativa (7).

Já foi demonstrado experimentalmente que parasitos causadores de Malária (*Plasmodium* spp.) manipulam seus vetores para potencializar sua transmissão (8,9), e esta habilidade é inferida também para *Leishmania* spp.(10). O sucesso do parasito no interior do flebotomíneo requer a superação de barreiras intrínsecas impostas pelo ambiente intestinal (10). Existem evidências de uma manipulação intencional, que ocorrerá quando o parasito estiver pronto para transmitir suas formas infectantes. Além dessas estratégias, filamentos de proteofosfoglicanos (fPPG), parecem ter surgido a partir de diversas interações entre a *Leishmania* e vetor (11). A manipulação dos hábitos alimentares do vetor influencia diretamente na aptidão e nas taxas de transmissão do parasito. O fPPG está intimamente relacionado ao processo de metaciclo gênese dos parasitos e é um potente fator de virulência das Leishmânias (3). De modo geral, entre os fatores intrínsecos estão a digestão, o ciclo de enzimas e a matriz peritrófica, a fixação da *Leishmania* na parede intestinal e ainda a migração à porção anterior, bem como os mecanismos de saída através das múltiplas picadas (2). Estes fatores evidenciam uma íntima coevolução entre a *Leishmania* e seu hospedeiro invertebrado (10).

Muito ainda deve ser esclarecido sobre as interações entre parasito e vetor, não somente no nível do fPPG, mas também de outras moléculas do inseto, em especial aquelas presentes em sua saliva, que também podem ter

importância tanto nos hábitos alimentares do vetor, quanto na capacidade de modular a infecção no hospedeiro vertebrado (9).

2.1. O papel da saliva do flebotomíneo e seus efeitos imunomodulatórios

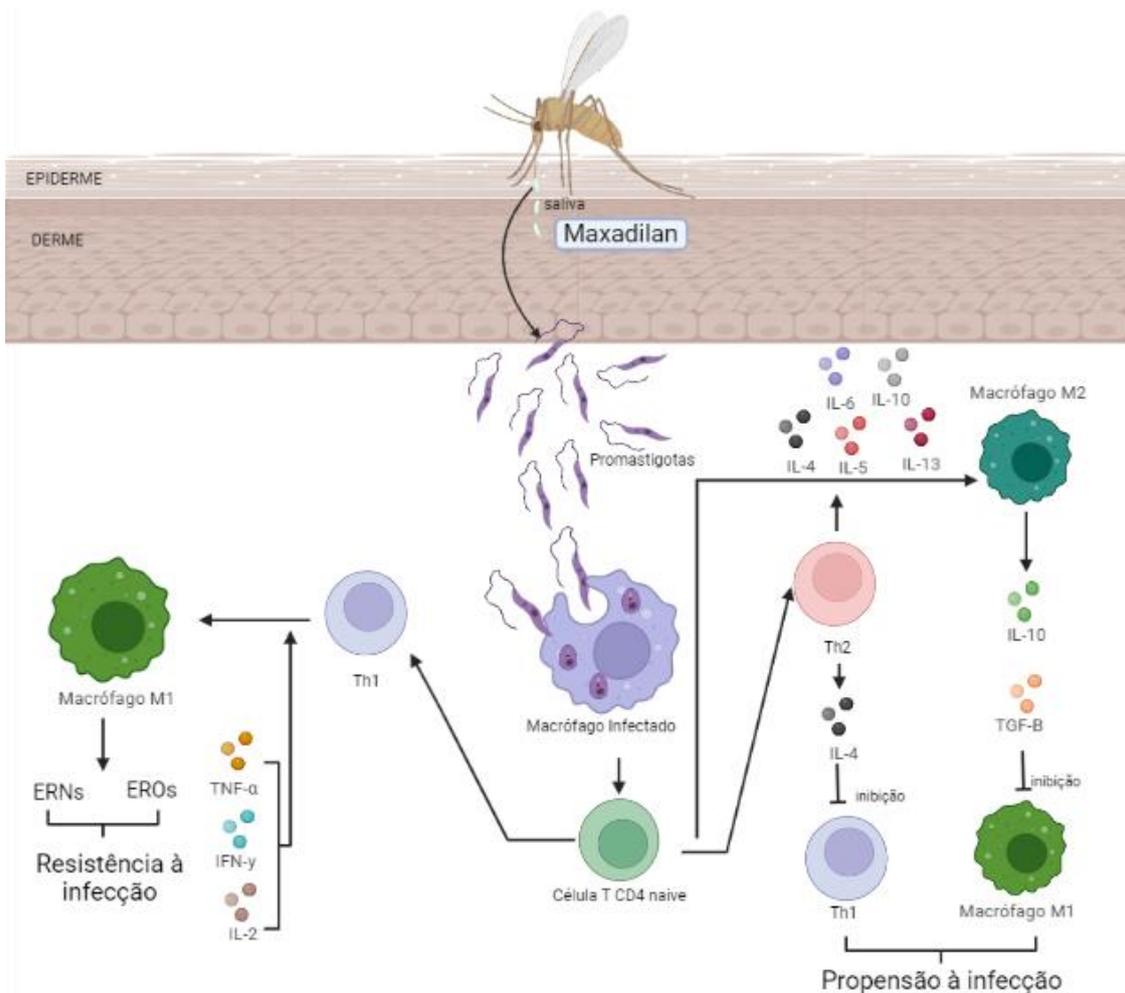
O sucesso da infecção é resultado de um longo processo evolutivo envolvendo o hospedeiro e a *Leishmania* sp. intimamente relacionado à capacidade do protozoário modular a resposta imune do hospedeiro em benefício próprio. Ademais, a resposta imunológica apresentada pelo hospedeiro não ocorre exclusivamente através das moléculas produzidas pelo parasito, mas também por moléculas da saliva injetadas pelo vetor no momento do repasto sanguíneo (2,12). Assim, os flebotomíneos com competência vetorial são classificados em espécie-específicos ou permissivos, e a capacidade vetorial é definida por fatores intrínsecos e extrínsecos. Dentre os fatores intrínsecos, destaca-se, portanto, a composição da saliva que podem intensificar o desfecho da doença e contribuir para diferentes manifestações clínicas (2).

A saliva dos flebotomíneos possui importante papel na transmissão das Leishmanioses. Os seus componentes possuem atividades farmacológicas interessantes, tais como vasodilatadores, antiagregadores plaquetários, anti-hemostáticos, compostos imunossupressores que são capazes exacerbar a infecção no hospedeiro (1,13). É demonstrado na literatura que a saliva dos flebotomíneos possuem atividade quimiotática em diferentes células imunes os quais modificam os processos inflamatórios no local da picada. Alguns estudos demonstram ainda a capacidade da saliva inibir a secreção de citocinas pró-inflamatórias, em contrapartida aumentar a produção de citocinas anti-inflamatórias ocasionando na diminuição da atividade dos macrófagos (14–16). Foi demonstrado ainda que exposições naturais à saliva de *P. papatasi* e *L. longipalpis*, resultaram em aumento de citocinas IL-10, a qual inibiu a proliferação de linfócitos produtores de IFN- γ , IL-6, IL-8 e IL-12 (16–18).

Dentre as propriedades farmacológicas existentes na saliva, o efeito do vasodilatador Maxadilan (MAX) se destaca devido as suas propriedades de modulação da resposta imune do hospedeiro. Essa proteína regula citocinas associadas ao padrão de resposta do perfil TH2 (IL-10, IL-6 e TGF- β), além

disso, pode regular negativamente citocinas do perfil TH1 (IL-12, IFN- γ e TNF- α) (3,16,19) (Fig 4).

Figura 4. Efeito imunomodulador da saliva do flebotomíneo



Atividade imunomoduladora na leishmaniose visceral com a ação do vasodilatador Maxadilan relacionadas a regulação de células TH1 e TH2 na infecção por *Leishmania* spp.

Fonte: Autoria própria. Made in ©BioRender – biorender.com

De modo geral, além da molécula Maxadilan, outras moléculas já foram caracterizadas como a hialuronidase que auxilia na difusão de outros componentes. A Prostaglandina E2 (PGE2), a Apirase e a Prostaciclina atuam no bloqueio da agregação plaquetária e dilatação vascular (14). Outra molécula identificada e presente nas glândulas salivares do gênero *Phlebotomus* é a Adenina, que também possui atividade vasodilatadora, imunomodulatória e anti-agregação plaquetária (20). Nesse contexto, levando em consideração as

propriedades farmacológicas já detectadas, vários antígenos presentes na saliva desses invertebrados têm sido alvos de estudos na busca de candidatos vacinais que confirmam proteção aos hospedeiros contra infecções por *Leishmania* (21).

Em suma, a composição complexa da saliva desses vetores bem como os efeitos combinados dos componentes anteriormente descritos, são fundamentais para a sobrevivência e adaptação dos flebotomíneos, bem como a manutenção de fontes de alimentação e disponibilidade de sangue no momento do seu repasto sanguíneo,

2.2. Interações com a matriz peritrófica

Em dípteros que se alimentam de sangue a matriz peritrófica (MP) é secretada pelo epitélio do intestino médio e entre 1 e 4 horas após o repasto sanguíneo, a MP envolverá o alimento completamente no intestino médio (22,23). A MP secretada pelo epitélio intestinal é composta de quitina, proteínas e glicoproteínas. O principal papel atribuído a ela é a compartimentalização dos eventos da digestão, atuando como uma membrana permeável às enzimas digestivas (24). Ademais, é sabido que a MP cria uma barreira para a difusão rápida das enzimas digestivas, limitando a exposição dos parasitos à estas enzimas num momento em que eles se encontram susceptíveis ao dano proteolítico.

Se por um lado, as *Leishmania* spp. podem se valer da matriz peritrófica para sua sobrevivência no início da infecção, nos últimos estágios ela pode claramente atuar como uma barreira física a seu desenvolvimento (25). Existem exemplos em que a incapacidade de desenvolvimento em vetores não naturais está relacionada a uma falha do parasito no escape da matriz peritrófica (23). Neste caso, os parasitos não eram excretados na matriz peritrófica e acabavam sendo excretados pelo inseto.

2.3. Importância das quitinases e dos glicoconjugados

Sugere-se que quitinases secretadas por *Leishmania* spp. teriam um papel importante na transmissão, causando tanto o rompimento da matriz peritrófica quanto danos à válvula estomodeal. Composta por glicoproteínas e

quitina, a MP recobre o bolo alimentar, sendo a mais precoce barreira ao estabelecimento do parasito, já a válvula estomodeal controla a junção entre intestino anterior e médio (26).

Existem evidências que suportam ambas as sugestões, utilizando modelos de superexpressão de quitinases (27). Comparados com organismos selvagens, aqueles que super expressavam quitinases eram capazes de migrar precocemente da matriz peritrófica e ser mais eficientemente transmitido pelo inseto. Contudo, ainda não está claro se a atuação na válvula estomodeal é o mecanismo essencial de transmissão – tal mecanismo não ocorre na ausência das enzimas específicas –, ou é apenas um produto da infecção que facilita a transmissão sob determinadas circunstâncias. Ambas as situações necessitam ser mais bem estudadas. Por outro lado, a importância das quitinases no escape da matriz peritrófica já está bem estabelecido. Inclusive, a incapacidade de certos parasitos de escaparem da matriz peritrófica e serem excretados pelo inseto, pode refletir diferenças nas quitinases secretadas (25).

Os glicoconjugados presentes em *Leishmania* spp. incluem moléculas que compartilham uma unidade de fosfoglicano repetida. Essas moléculas estão presentes na superfície do parasito, sendo ancoradas por glicosilfosfatidilinositol (GPI), que incluem: lipofosfoglicanos (LPG), glicoinositolfosfolípides (GIPLs), proteofosfoglicanos (PPG), além das proteínas ancoradas a GPI (GP63), que podem ser secretadas como fosfoglicanos (PG), proteofosfoglicanos (sPPG) e fosfatases ácidas (sAP)(1,28,29).

2.4. Importância dos lipofosfoglicanos (LPG)

O LPG é o maior e mais abundante glicoconjugado de superfície das promastigotas e têm sido implicados na ligação das haptomonadas ao epitélio, prevenindo sua excreção pelo inseto (25). O LPG também é considerado um determinante da competência do vetor em transmitir espécies de *Leishmania*. As cadeias laterais de açúcar, presentes nos LPGs são diferentes em tamanho, natureza e frequência em diferentes espécies de *Leishmania*. Estas diferenças estão intimamente associadas ao seu sucesso (ou falha) em completar o desenvolvimento em diferentes espécies de mosquitos (1). Nas interações entre

Leishmania e vetor, o LPG é essencialmente requerido durante a adesão do parasito ao intestino, evitando assim a sua expulsão com o bolo fecal.

2.5. Participação dos receptores epiteliais do vetor

Os polimorfismos estruturais de LPG refletem a heterogeneidade dos prováveis receptores no intestino médio nas diferentes espécies de vetor. Uma maior complexidade na estrutura do LPG é encontrada naqueles parasitos que naturalmente infectam vetores restritos. Por outro lado, o LPG de parasitos que infectam naturalmente vetores permissivos é relativamente simples. Esta correlação não deve ser apenas ao acaso e sugere que os polimorfismos no LPG são direcionados pela complexidade e especificidade dos receptores no intestino médio.

Como o LPG é composto primariamente de açúcares, com resíduos de cadeia lateral ou oligossacarídeos implicados na ligação ao epitélio (25), pode-se dizer com base na literatura, que os receptores do intestino médio são moléculas semelhantes a lectinas. Embora as lectinas tenham sido reportadas no intestino médio de alguns vetores, é importante ressaltar que aspectos como a indução por sangue, a secreção no lúmen e a similaridade de sua especificidade à açúcares em muitos flebotomíneos (30,31) associa estas moléculas com a digestão do alimento e vai contra seu papel como receptor no intestino médio (1).

A ligação dos parasitos ao intestino médio continua após a excreção do alimento, com um número residual de parasitos permanecendo ligados ao intestino médio por toda a vida do vetor. Vale ressaltar que os pré-requisitos funcionais para um receptor intestinal de LPG incluem a expressão constitutiva, além de especificidade às moléculas de açúcar presentes no LPG de parasitos compatíveis (1).

Uma galectina de sequência repetitiva, denominada PpGalec foi identificada em *P. (P.) papatasi* e liga-se especificamente à parasitos vivos e formas procíclicas de *L. major* (27). A PpGalec é encontrada especificamente no intestino médio, não sendo induzida pela alimentação com sangue pelo vetor e é abundante na maioria das células do intestino médio. Além disso, estudos evidenciaram que anticorpos contra PpGalec diminuía significativamente o

desenvolvimento *in vivo* de *L. major* em *P. (P.) papatasi* demonstrando o potencial da intervenção nos receptores no intestino médio do vetor como alvos de vacinas bloqueadoras de transmissão (27).

2.6. Ligação estágio específica aos receptores intestinais do vetor

Após a excreção do bolo alimentar, a maturação de *Leishmania* spp. envolve a liberação de grande número de parasitos no intestino do vetor. Em contraste às formas nectomonadas, as formas promastigotas metacíclicas nunca foram vistas aderidas ao epitélio do inseto e sim livres no intestino para posterior migração (25). Este aspecto pode ser explicado, pelo menos em parte, por perda da capacidade intrínseca de ligação pelo parasito (32). Experimentos em culturas demonstraram claramente a diferença de habilidade de ligar-se ao epitélio do vetor pelas formas promastigotas em divisão e promastigotas metacíclicas, e esta diferença era devido as diferenças na estrutura do LPG entre estas formas (32,33).

Três modificações principais foram descritas em diferentes espécies de *Leishmania* para explicar a mudança na estrutura do LPG; todas elas estão relacionadas à mudança ou perda dos açúcares expostos terminalmente na molécula. Estas modificações observadas acompanham o fenômeno de metaciclogênese.

3. FATORES RELEVANTES À METACICLOGÊNESE NO HOSPEDEIRO INVERTEBRADO

A metaciclogênese é o processo de diferenciação das promastigotas em promastigotas metacíclicas. É também último estágio do desenvolvimento do parasito no vetor (34). Várias alterações ocorrem como parte da pré-adaptação à sobrevivência no hospedeiro vertebrado, e desta forma, torna-se interessante o entendimento das propriedades e origens das promastigotas metacíclicas não somente no contexto da interação parasito-vetor, mas também como auxílio na compreensão do processo infeccioso no hospedeiro vertebrado (34).

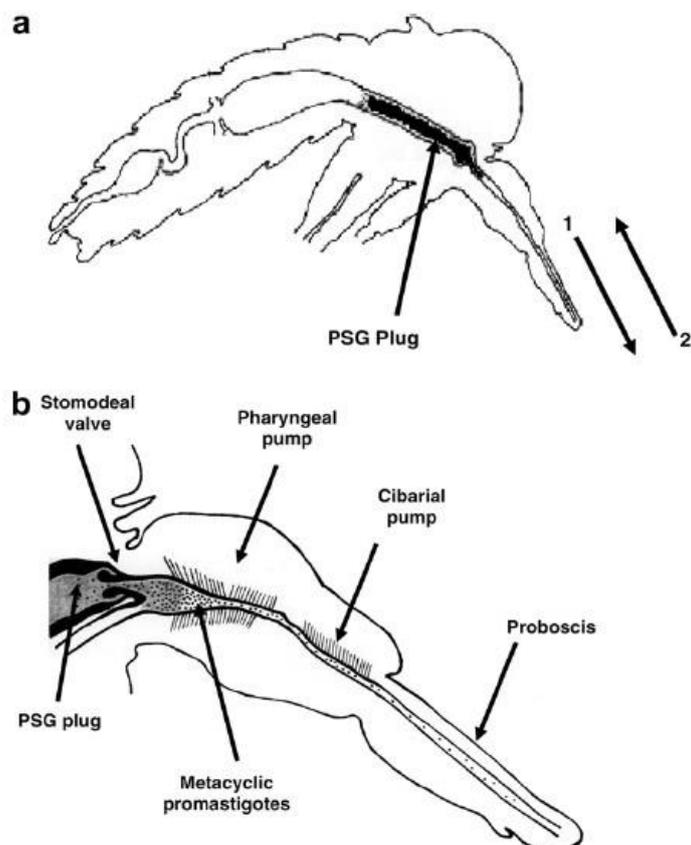
No que diz respeito à indução de metaciclogênese, inúmeros sinais têm sido descritos, como por exemplo, baixo pH e depleção de nutrientes. Pouco se sabe sobre as condições de pH nos insetos infectados com *Leishmania*, porém, já foram demonstradas substâncias responsáveis pela acidificação do intestino em algumas espécies de vetor (35), induzindo, portanto, a diferenciação das promastigotas metacíclicas. Outro sinal envolvido no processo de metaciclogênese seria mediado pela enzima Pteridina Redutase (PTR1). Nesse contexto, a redução de seus níveis intracelulares em *Leishmania* causariam uma diminuição da substância tetrahydrobiopiterina, servindo como um “gatilho” para indução de metaciclogênese (36).

3.1. Gel secretado por promastigotas (*Promastigote secretory gel*) – PSG

O principal componente do PSG é uma glicoproteína de alto peso molecular denominada filamentos de proteofosfoglicanos (fPPG) (37). A identificação do PSG corroborou com a hipótese da transmissão de *Leishmania* spp. a partir de um bloqueio físico do aparelho sugador do inseto, a hipótese denominada “blocked fly” (10) (Fig. 5). Embora o fPPG seja claramente o maior e mais crítico componente do PSG envolvido na transmissão das leishmânias, outros produtos secretados pelo parasito ou pelo inseto podem estar presentes no tampão, com efeitos biológicos ainda não bem descritos. Deve-se observar também que o tampão de PSG obstruindo o intestino anterior é cheio de corpos celulares de promastigotas, os quais contribuem para o “bloqueio” das formas haptomonadas fixadas à válvula estomodeal e ao intestino anterior (10).

A posição das promastigotas haptomonas no ciclo de desenvolvimento é incerta, porém, elas podem representar um estágio terminalmente diferenciado. Por esta razão elas podem ser consideradas formas “altruístas”, uma vez que não podem ser transmitidas, mas objetivam a transmissão das promastigotas metacíclicas (34). A outra forma do parasito associada ao tampão de PSG são as promastigotas metacíclicas. Interessantemente, estas estão localizadas principalmente nos polos do tampão, que são as posições ideais para sua transmissão. Embora algumas promastigotas metacíclicas sejam encontradas na probóscide, a maioria está associada ao tampão de PSG (10).

Figura 5. Posição do PSG no trato digestivo do vetor.



(A) Posição do tampão de PSG dentro do intestino anterior. (B) Posição das promastigotas metacíclicas (pontilhadas) concentradas no polo anterior do plug.

Fonte: Adaptado de BATES, 2007

3.2. inoculação x regurgitação

O modo de transmissão da *Leishmania* ainda é alvo de muitos debates, com duas principais teorias. A primeira leva em consideração a regurgitação, processo análogo ao descrito na transmissão da peste bubônica pelas pulgas (38). Esta teoria diz respeito à já mencionada hipótese “blocked fly”. A segunda teoria favorece a crença na inoculação, onde somente as promastigotas localizadas na probóscide estariam envolvidas na transmissão, e estas formas seriam introduzidas na pele durante a picada do mosquito (39,40).

3.3. Principais componentes do inóculo

A partir da realização de diferentes observações, pode-se inferir três componentes do inóculo do inseto: 1) as promastigotas metacíclicas, obviamente essenciais à transmissão dos parasitos; 2) a saliva do inseto e 3) o PSG. A saliva já é um fator exacerbador da doença bem estabelecido (10), pelo menos na leishmaniose cutânea. De forma similar, o PSG também possui algumas propriedades exacerbadoras da doença, já tendo sido demonstrado exercer um efeito de aumento da patologia e aumento do número de parasitos quando inoculado juntamente com as formas metacíclicas (3).

3.4. Importância das glândulas salivares na transmissão

Além do intestino médio, as glândulas salivares representam grande importância na biologia dos flebotomíneos, a presença de parasitos nas glândulas salivares dos flebotomíneos já foram reportadas em alguns trabalhos e sua relevância na transmissão dos parasitos já foi proposta (41). Esta é uma ideia atrativa, uma vez que a saliva deve ser liberada no momento da picada, para auxiliar o repasto, e conforma já mencionado, a saliva ajuda a exacerbar o quadro das formas clínicas, como sendo o caso da leishmaniose cutânea.

A rota pela qual os parasitos atingem as glândulas salivares ainda é incerta. Existem duas possibilidades: 1) atingindo o duto salivar, de forma semelhante ao que ocorre na tripanossomíase africana; 2) através da parede intestinal, hemocele e penetrando na parede da glândula, num mecanismo análogo ao observado no desenvolvimento dos plasmódios em seu vetor. No entanto, estes dados não têm sido confirmados de forma substancial, e as dificuldades do isolamento de parasitos nas glândulas salivares, juntamente com o risco de contaminação com parasitos do intestino no momento da dissecação da glândula, torna difícil dar o devido crédito a estas observações. Até o momento, embora seja suspeitada, não existe nenhuma comprovação convincente que suporte que esta seja uma rota normal de transmissão dos parasitos (10).

4. Transmissão no subgênero *Viannia*

O subgênero *Viannia*, incluindo *Leishmania Viannia guyanensis* responsável por causar a Leishmaniose cutânea e mucocutânea é transmitida por fêmeas de flebotomíneos do gênero *Lutzomyia* durante o repasto sanguíneo. Promastigotas metacíclicos ligados à exossomos infectarão células no local da inoculação que em seguida se transformarão em amastigotas e se dividirão dentro dos macrófagos, a resposta do organismo frente a tal mecanismo levará à formação de lesões na pele (42). Esses exossomos desempenham um papel fundamental na interação parasito-hospedeiro e sua atividade imunomoduladora aumenta os fatores de virulência do parasito, como por exemplo, a metaloprotease de superfície GP63 (43), determinando assim, a forma e a gravidade das leishmanioses.

No que tange os efeitos imunomodulatórios, estudos revelaram que as cepas de *L. guyanensis* provocaram uma potente resposta inflamatória após acoplar o receptor endossomal Toll-like 3 (TLR3), resultando na produção de interferon IFN- β , o qual foi capaz de inflamar e piorar o quadro das lesões de Leishmaniose em camundongos, além disso, observou-se sobrevivência prolongada do parasito. Essa situação de melhora na sobrevivência do parasito, apesar de uma resposta inflamatória potente, lembra o que é observado em pacientes com a forma clínica da Leishmaniose mucosa em humanos (44).

Os fatores de virulência são moléculas que auxiliam patógenos na adaptação as condições ambientais. Alguns fatores de virulência incluem chaperonas moleculares como como proteínas de choque térmico (HSPs), proteinases de cisteína (CPB), leishmanolisinas, fosfatases e proteinases (45).

Embora os parasitos do gênero *Viannia* possuam uma fase de seu ciclo de desenvolvimento realizada no intestino posterior, a transmissão ainda ocorre pela rota anteriormente detalhada. No entanto, existem poucos estudos focando a transmissão destes parasitos, especialmente usando modelos com insetos transmissores (10). De acordo com Freitas (2010), parasitos com comportamento peripilárico possuem representantes apenas no Novo Mundo. Análises do LPG de *L. (V.) braziliensis*, revelou tipos diferentes de regulação de carboidratos nas cadeias laterais (46).

5. Considerações finais

Perspectivas recentes como fatores inerentes à microbiota intestinal vetorial, características permissivas ou restritivas do vetor e comportamento alimentar, atribuem novos fatores cruciais para o desenvolvimento e eficácia na transmissão. Estes achados adicionais deixam evidentes que diversos mecanismos podem afetar a transmissão de *Leishmania* por flebotomíneos. É de suma importância compreendê-los individual e coletivamente. A crescente construção do conhecimento na área indica que os componentes vetoriais podem oferecer novas possibilidades de estudo para controle do complexo Leishmanioses.

REFERÊNCIAS

1. Kamhawi S. The biological and immunomodulatory properties of sand fly saliva and its role in the establishment of infections. *Microbes Infect.* 2000 Nov;2(14):1765–73.
2. Atlas interativo de leishmaniose nas Américas: aspectos clínicos e diagnósticos diferenciais. Pan American Health Organization; 2021.
3. Rogers KA, Titus RG. Immunomodulatory effects of Maxadilan and *Phlebotomus papatasi* sand fly salivary gland lysates on human primary *in vitro* immune responses. *Parasite Immunol.* 2003 Mar 12;25(3):127–34.
4. Serafim TD, Coutinho-Abreu I V., Dey R, Kissinger R, Valenzuela JG, Oliveira F, et al. Leishmaniasis: the act of transmission. *Trends Parasitol.* 2021 Nov;37(11):976–87.
5. Hall AR, Blakeman JT, Eissa AM, Chapman P, Morales-García AL, Stennett L, et al. Glycan–glycan interactions determine *Leishmania* attachment to the midgut of permissive sand fly vectors. *Chem Sci.* 2020;11(40):10973–83.
6. Serafim TD, Coutinho-Abreu I V., Oliveira F, Meneses C, Kamhawi S, Valenzuela JG. Sequential blood meals promote *Leishmania* replication and reverse metacyclogenesis augmenting vector infectivity. *Nat Microbiol.* 2018 Mar 19;3(5):548–55.
7. Poulin R. “Adaptive” changes in the behaviour of parasitized animals: A critical review. *Int J Parasitol.* 1995 Dec;25(12):1371–83.
8. Klowden MJ, Lea AO. Abdominal distention terminates subsequent host-seeking behaviour of *Aedes aegypti* following a blood meal. *J Insect Physiol.* 1979 Jan;25(7):583–5.
9. Anderson SW, Bechara A, Damasio H, Tranel D, Damasio AR. Impairment of social and moral behavior related to early damage in human prefrontal cortex. *Nat Neurosci.* 1999 Nov;2(11):1032–7.
10. Rogers ME, Bates PA. *Leishmania* Manipulation of Sand Fly Feeding Behavior Results in Enhanced Transmission. *PLoS Pathog.* 2007 Jun 29;3(6):e91.

11. Llig T, Handman E, Stierhof YD. Proteophosphoglycans from *Leishmania* promastigotes and amastigotes. *Biochem Soc Trans.* 1999 Aug 1;27(4):518–25.
12. Lestnova T, Rohousova I, Sima M, de Oliveira CI, Volf P. Insights into the sand fly saliva: Blood-feeding and immune interactions between sand flies, hosts, and *Leishmania*. *PLoS Negl Trop Dis.* 2017 Jul 13;11(7):e0005600.
13. Soares RPP, Turco SJ. *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae): a review. *An Acad Bras Cienc.* 2003 Sep;75(3):301–30.
14. Teixeira CR, Teixeira MJ, Gomes RBB, Santos CS, Andrade BB, Raffaele-Netto I, et al. Saliva from *Lutzomyia longipalpis* Induces CC Chemokine Ligand 2/Monocyte Chemoattractant Protein-1 Expression and Macrophage Recruitment. *The Journal of Immunology.* 2005 Dec 15;175(12):8346–53.
15. Mbow ML, Bleyenbergh JA, Hall LR, Titus RG. *Phlebotomus papatasi* sand fly salivary gland lysate down-regulates a Th1, but up-regulates a Th2, response in mice infected with *Leishmania major*. *J Immunol.* 1998 Nov 15;161(10):5571–7.
16. Demarta-Gatsi C, Mécheri S. Vector saliva controlled inflammatory response of the host may represent the Achilles heel during pathogen transmission. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases.* 2021;27.
17. Abdeladhim M, Ben Ahmed M, Marzouki S, Belhadj Hmida N, Boussoffara T, Belhaj Hamida N, et al. Human Cellular Immune Response to the Saliva of *Phlebotomus papatasi* Is Mediated by IL-10-Producing CD8+ T Cells and Th1-Polarized CD4+ Lymphocytes. *PLoS Negl Trop Dis.* 2011 Oct 4;5(10):e1345.
18. Costa DJ, Favali C, Clarêncio J, Afonso L, Conceição V, Miranda JC, et al. *Lutzomyia longipalpis* Salivary Gland Homogenate Impairs Cytokine Production and Costimulatory Molecule Expression on Human Monocytes and Dendritic Cells. *Infect Immun.* 2004 Mar;72(3):1298–305.
19. Brodie EE, Whyte A, Niven CA. Analgesia through the looking-glass? A randomized controlled trial investigating the effect of viewing a 'virtual' limb upon phantom limb pain, sensation and movement. *European Journal of Pain.* 2007 May 9;11(4):428–36.
20. Ribeiro JMC, Katz O, Pannell LK, Waitumbi J, Warburg A. Salivary glands of the sand fly *Phlebotomus papatasi* contain pharmacologically active amounts of adenosine and 5'-AMP. *Journal of Experimental Biology.* 1999 Jun 1;202(11):1551–9.
21. Coelho Simões M, Silva LH da S e, Miranda BO, Bichara CNC, Viana JH. Aspectos epidemiológicos da leishmaniose tegumentar americana e visceral na cidade de Cametá, Pará, Amazônia. *Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção.* 2023 Mar 31;13(1).
22. Blackburn K, K. R. Wallbanks, D. H. Molyneux, D. R. Lavin, S. L. Winstanley. The Peritrophic membrane of the female sandfly *Phlebotomus papatasi*. *Ann Trop Med Parasitol.* 1988;82:613–9.
23. Walters LL, KP, Irons H, Guzman and RBT. Formation and composition of the peritrophic membrane in the sandfly, *Phlebotomus perniciosus* (Diptera: Psychodidae). *J Med Entomol.* 1993;30:192–7.
24. Terra WR. Evolution of digestive systems of insects. *Annu Rev Entomol.* 1990;35:181–200.
25. Sacks D, Kamhawi S. Molecular Aspects of Parasite-Vector and Vector-Host Interactions in Leishmaniasis. *Annu Rev Microbiol.* 2001 Oct;55(1):453–83.
26. Dostálová A, Volf P. *Leishmania* development in sand flies: parasite-vector interactions overview. *Parasit Vectors.* 2012 Dec 3;5(1):276.
27. Rogers ME, Hajmová M, Joshi MB, Sadlova J, Dwyer DM, Volf P, et al. *Leishmania* chitinase facilitates colonization of sand fly vectors and enhances transmission to mice. *Cell Microbiol.* 2008 Jun;10(6):1363–72.

28. Turco SJ, Descoteaux A. THE LIPOPHOSPHOGLYCAN OF *LEISHMANIA* PARASITES. *Annu Rev Microbiol.* 1992 Oct;46(1):65–92.
29. McConville MJ, Ferguson MAJ. The structure, biosynthesis and function of glycosylated phosphatidylinositols in the parasitic protozoa and higher eukaryotes. *Biochemical Journal.* 1993 Sep 1;294(2):305–24.
30. GRUBHOFFER L., HYPŠA V., VOLF P. Lectins (hemagglutinins) in the gut of the important disease vectors. *Parasite.* 1997;4:203–16.
31. VOLF P, KIEWEGOVÁ, SVOBODOVÁ. Sandfly midgut lectin: effect of galactosamine on *Leishmania major* infections. *Med Vet Entomol.* 1998 Apr 4;12(2):151–4.
32. Sacks DL, Brodin TN, Turco SJ. Developmental modification of the lipophosphoglycan from *Leishmania major* promastigotes during metacyclogenesis. *Mol Biochem Parasitol.* 1990 Sep;42(2):225–33.
33. Pimenta PFP, Turco SJ, McConville MJ, Lawyer PG, Perkins P V., Sacks DL. Stage-Specific Adhesion of *Leishmania* Promastigotes to the Sandfly Midgut. *Science (1979).* 1992 Jun 26;256(5065):1812–5.
34. Bates PA. *Leishmania* sand fly interaction: progress and challenges. *Curr Opin Microbiol.* 2008 Aug;11(4):340–4.
35. Ramalho-Ortigão M, Jochim RC, Anderson JM, Lawyer PG, Pham VM, Kamhawi S, et al. Exploring the midgut transcriptome of *Phlebotomus papatasi*: comparative analysis of expression profiles of sugar-fed, blood-fed and *Leishmania major*-infected sandflies. *BMC Genomics.* 2007 Dec 30;8(1):300.
36. Cunningham ML, Titus RG, Turco SJ, Beverley SM. Regulation of Differentiation to the Infective Stage of the Protozoan Parasite *Leishmania major* by Tetrahydrobiopterin. *Science (1979).* 2001 Apr 13;292(5515):285–7.
37. Llg T, Handman E, Stierhof YD. Proteophosphoglycans from *Leishmania* promastigotes and amastigotes. *Biochem Soc Trans.* 1999 Aug 1;27(4):518–25.
38. Bacot AW, Martin CJ. LXVII. Observations on the mechanism of the transmission of plague by fleas. *J Hyg (Lond).* 1914 Jan;13(Suppl):423–39.
39. *Leishmania* in phlebotomid sandflies - IV. The transmission of *Leishmania mexicana amazonensis* to hamsters by the bite of experimentally infected *Lutzomyia longipalpis*. *Proc R Soc Lond B Biol Sci.* 1977 Feb 11;196(1122):105–15.
40. *Leishmania* in phlebotomid sandflies - IV. The transmission of *Leishmania mexicana amazonensis* to hamsters by the bite of experimentally infected *Lutzomyia longipalpis*. *Proc R Soc Lond B Biol Sci.* 1977 Feb 11;196(1122):105–15.
41. Killick-Kendrick R, Killick-Kendrick M, Tang Y, Bastien P. Metacyclic promastigotes of *Leishmania* in the salivary glands of experimentally infected phlebotomine sandflies. *Parasite.* 1996 Mar 25;3(1):55–60.
42. Atayde VD, Aslan H, Townsend S, Hassani K, Kamhawi S, Olivier M. Exosome Secretion by the Parasitic Protozoan *Leishmania* within the Sand Fly Midgut. *Cell Rep.* 2015 Nov;13(5):957–67.
43. Atayde VD, da Silva Lira Filho A, Chaparro V, Zimmermann A, Martel C, Jaramillo M, et al. Exploitation of the *Leishmania* exosomal pathway by *Leishmania* RNA virus 1. *Nat Microbiol.* 2019 Jan 28;4(4):714–23.
44. Hartley MA, Drexler S, Ronet C, Beverley SM, Fasel N. The immunological, environmental, and phylogenetic perpetrators of metastatic leishmaniasis. *Trends Parasitol.* 2014 Aug;30(8):412–22.
45. Kariyawasam R, Mukkala AN, Lau R, Valencia BM, Llanos-Cuentas A, Boggild AK. Virulence factor RNA transcript expression in the *Leishmania* Viannia subgenus: influence of species, isolate source, and *Leishmania* RNA virus-1. *Trop Med Health.* 2019 Dec 11;47(1):25.
46. Soares RPP, Cardoso TL, Barron T, Araújo MSS, Pimenta PFP, Turco SJ. *Leishmania braziliensis*: a novel mechanism in the lipophosphoglycan regulation during metacyclogenesis. *Int J Parasitol.* 2005 Mar;35(3):245–53.

CAPÍTULO 7

INTERAÇÃO *Toxoplasma Gondii* E *Homo Sapiens*: AGORA E PARA SEMPRE?

Anna Victória Bernardes e Borges¹
Hugo Felix Perini²
Lúcio Roberto Cançado Castellano³
Marcos Vinícius da Silva⁴

¹Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Medicina Tropical e Infectologia. Universidade Federal do Triângulo Mineiro – UFTM

²Estágio pós-doutoral - Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde. Universidade Federal do Triângulo Mineiro - UFTM

³Professor efetivo da Escola Técnica de Saúde. Universidade Federal da Paraíba- UFPB.

⁴Professor efetivo do Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia. Universidade Federal do Triângulo Mineiro- UFTM.

RESUMO

A toxoplasmose é uma das mais comuns e disseminadas infecções parasitárias do mundo. Em regiões endêmicas a soroprevalência do agente causador da toxoplasmose, *Toxoplasma gondii*, pode ser de até 90 % e, em determinadas populações europeias pode chegar a até 60 %. O parasito possui ciclo de vida heteroxênico, sendo o gato seu hospedeiro definitivo e o homem, um dos possíveis hospedeiros intermediários. Uma vez dentro do corpo do hospedeiro humano, o parasito é capaz de migrar ativamente para o meio intracelular, através da interação de proteínas transmembranares (TRAP) com receptores da membrana plasmática de células do hospedeiro, assim como da secreção enzimática por róptrias, micronemas e grânulos densos, presentes na região apical do *T. gondii*. O hospedeiro responde à infecção através de mecanismos inflamatórios e ativação do sistema imune inato e adaptativo, no entanto, o parasito apresenta capacidade de evasão, induzindo vias apoptóticas e inibindo a ação de células imunes. A infecção em humanos está sendo cada vez mais associada ao surgimento de distúrbios neuropsiquiátricos e é particularmente preocupante em indivíduos imunocomprometidos e gestantes. Dada a relevância epidemiológica da toxoplasmose, apresentaremos nesse capítulo considerações gerais sobre o *T. gondii* e detalhes da relação do parasito com o hospedeiro humano.

Palavras-chaves: Toxoplasmose, parasitose, protozoário, zoonose.

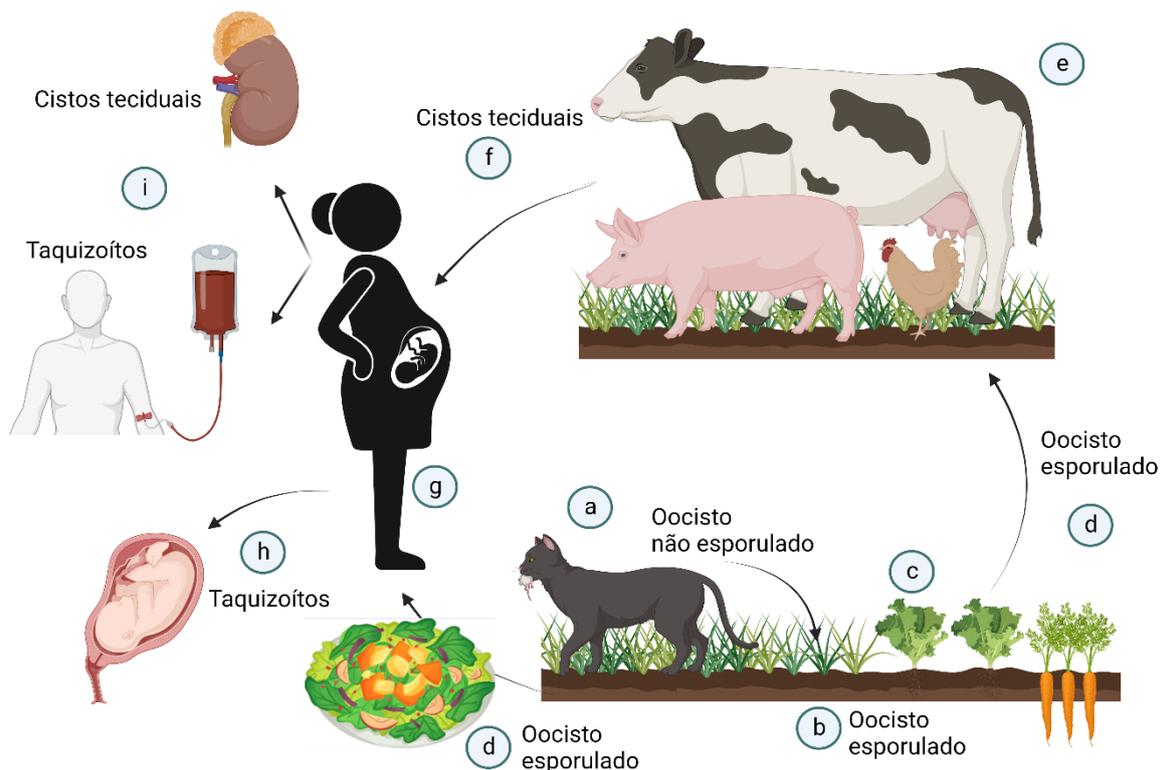
1. *Toxoplasma gondii*: ASPECTOS GERAIS E CICLO DE VIDA

O *Toxoplasma gondii* é um protozoário de distribuição geográfica mundial com alta prevalência sorológica e pode ser encontrado em cerca de 30 % da população humana mundial. É caracterizado como um patógeno intracelular obrigatório e é a única espécie conhecida do gênero *Toxoplasma* (1). *Filogeneticamente*, o *T. gondii* pertence à família Apicomplexa, um grupo de cerca de 5000 espécies que é caracterizado pela presença de organelas únicas na extremidade apical. Estas organelas são responsáveis pelo processo de invasão da célula hospedeira (2).

O *T. gondii* está entre os maiores causadores de doenças zoonóticas, sendo encontrado em mamíferos e aves. Seu ciclo de vida é heteroxênico, ou seja, possui hospedeiro definitivo e hospedeiro intermediário. Os hospedeiros definitivos (presença de estágio sexuado) são os felídeos, enquanto os hospedeiros intermediários (presença de estágio assexuado) são outros animais homeotérmicos, como o ser humano (1).

A contaminação do hospedeiro definitivo pode ocorrer por predação de animais infectados ou por ingestão de água ou alimentos contaminados com oocistos ou taquizoítos. Os esporozoítos, bradizoítos ou taquizoítos, ao penetrar células epiteliais do intestino do felino, sofrem um processo denominado esquizogonia, gerando merozoítos³. Essas formas são então liberadas por meio de rompimento da célula hospedeira e infectam novas células, transformando-se em formas sexuadas que, após o processo de maturação, originam aos gametas. A fecundação ocorre dentro do epitélio, dando origem ao oocisto (1, 3).

Uma vez contaminado, o gato doméstico pode eliminar milhões de oocistos em cerca de 1 a 3 semanas. Em gatos selvagens, a eliminação pode se estender por toda a vida do animal. No ambiente, os oocistos podem se tornar esporulados em cerca de 1 a 5 dias. Oocistos esporulados contêm dois esporocistos e cada esporocisto contém quatro esporozoítos, que podem contaminar o solo, corpos d'água e culturas (4-6) (Fig. 1).

Figura 1 - Dinâmica da transmissão do *T. gondii* entre seus hospedeiros

Vias de transmissão do *Toxoplasma gondii*. Hospedeiro definitivo felino (gato) predando roedor infectado (a) Oocistos esporulados no ambiente. (b) Alimentos contaminados com oocistos esporulados (c). Oocistos ingeridos por hospedeiros intermediários (d). Hospedeiros intermediários (ex: bovinos, ovinos, aves e suínos). (e) Ingestão de cistos teciduais em carne crua (f). Hospedeiros intermediários (humanos) (g). Taquizoítos transmitidos através da placenta para o feto (h). Transmissão por transfusão de sangue e transplante de órgãos (i)

Fonte: Autoria própria. Criado com BioRender.com.

A ingestão de oocistos esporulados presentes no ambiente ou de bradizoítos em carne crua ou malcozida compreendem as duas principais rotas horizontais de transmissão da toxoplasmose. Além dessas vias, os taquizoítos também podem ser transmitidos por via transplacentária (1, 2, 4). A ingestão de formas contaminantes de *T. gondii* são responsáveis por surtos esporádicos da forma aguda da doença em indivíduos imunocompetentes e toxoplasmose grave em indivíduos imunocomprometidos (7, 8).

Dada a importância epidemiológica da toxoplasmose, abordaremos nas próximas sessões a relação parasito-hospedeiro de *T. gondii* com o ser humano, enfocando nos mecanismos de invasão, replicação, diferenciação e evasão do parasito e da resposta imune do hospedeiro.

2. INTERAÇÕES PARASITO-HOSPEDEIRO

Uma vez dentro do corpo do hospedeiro mamífero, *T. gondii* é capaz de multiplicar-se na maioria dos tipos celulares presentes. A patogenicidade do parasito é multifatorial, incluindo a susceptibilidade da espécie do hospedeiro, a virulência do parasito e seu estágio de desenvolvimento. A diversidade genética e fenotípica de *T. gondii* promove variações na manifestação clínica da toxoplasmose (9).

Em relação à virulência e letalidade em animais experimentais, três cepas são bem definidas: As cepas do tipo I são classificadas como altamente virulentas, as cepas do tipo II com virulência intermediária e as cepas do tipo III são consideradas avirulentas. Essa avaliação de virulência combina o estudo dos efeitos da infecção nos hospedeiros ou a taxa de multiplicação assexuada, assim como a de invasão celular e proliferação (9-11).

Infecções induzidas por oocistos de *T. gondii* em hospedeiros intermediários são mais severas e não parecem ser dose-dependentes. Este protozoário sanguíneo parece ter se adaptado a um ciclo fecal-oral em herbívoros e a um ciclo tecidual-oral em carnívoros, especialmente no gato. Os cistos contendo bradizoítos de *T. gondii* são menos infectivos para outros animais do que para os gatos. Por exemplo, os gatos podem eliminar milhões de oocistos após a ingestão de apenas um bradizoíto, enquanto a ingestão de 100 bradizoítos podem não infectar camundongos oralmente (12, 13).

3. MECANISMOS DE INVASÃO DE *Toxoplasma gondii*

A interação com a célula hospedeira tem como objetivo final a internalização do parasito. *T. gondii*, assim como os demais indivíduos pertencentes ao filo Apicomplexa, apresenta motilidade por deslizamento (4). A motilidade é realizada por sistema de actina-miosina localizado sob a membrana plasmática. Esse processo permite a mobilização do parasito no hospedeiro, assim como o rompimento de barreiras físicas e invasão de tecidos (5). Interagindo com o sistema de actina-miosina, um grupo de proteínas transmembranares - TRAP (proteínas anônimas relacionadas à trombospondina) presentes na extremidade apical do parasito, interage com receptores na célula

do hospedeiro (através da ligação ao domínio extracelular longo de TRAP) e promove a ligação do parasita (através do domínio curto citoplasmático de TRAP). Uma vez ocorrida a ligação, as proteínas são rapidamente translocadas para a extremidade posterior do parasita auxiliando na entrada na célula. Essas proteínas são então, eliminadas pela ação de proteases (15) (Fig. 2).

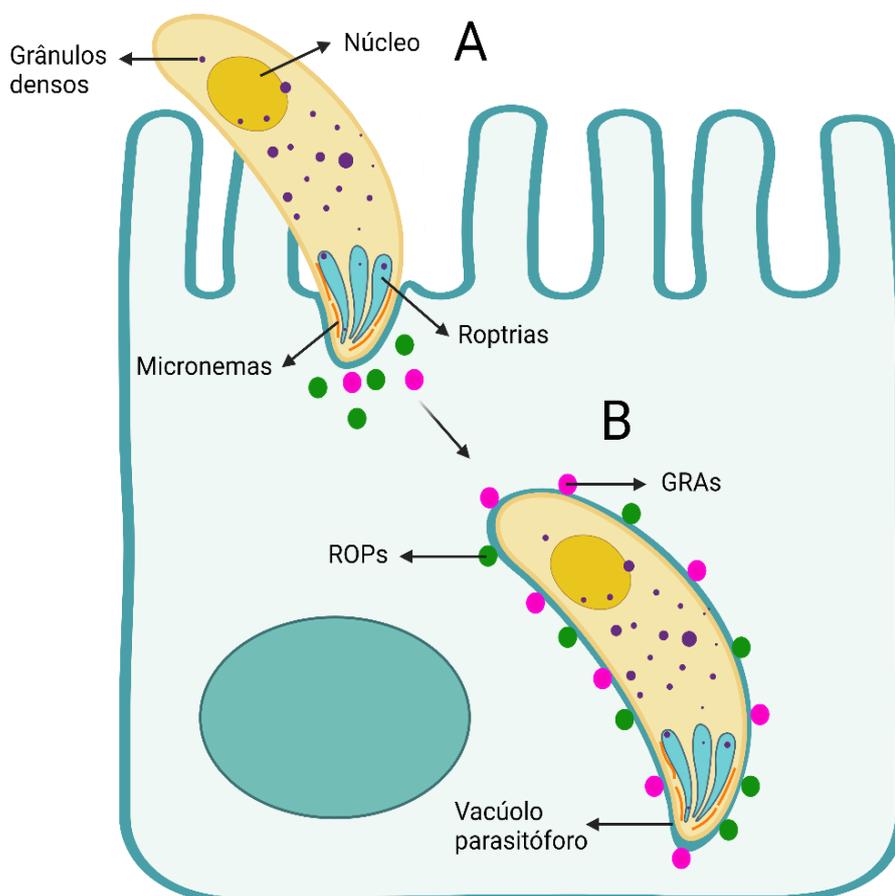
Na porção apical de *T. gondii* também são encontradas pequenas organelas denominadas micronemas que secretam proteínas homólogas à TRAP (MICs). As MICs apresentam ação semelhante às perforinas, adesinas e serina-proteases, que ao serem secretadas desempenham papel na invasão e motilidade extracelular, auxiliando na fixação do parasito à célula hospedeira (15). Essas MICs são liberadas do polo apical do parasito na superfície das células do hospedeiro durante o processo de invasão, e são capazes de se ligar a um amplo espectro de alvos, como adolase, glicose, ICAM-1, lactose e heparina. As MICs se movem posteriormente no parasito conforme a invasão progride, podendo eventualmente alcançar seu polo posterior. Análises morfológicas apontam que o número de micronemas é maior em esporozoítos, menor em bradizoítos e intermediário em taquizoítos (2, 4, 11) (Fig. 2).

O processo de invasão também depende de organelas secretoras de forma alongada denominadas roptrias. Além da invasão, o produto secretado pelas roptrias promove a formação da junção móvel, do vacúolo parasitóforo e interfere nas funções da célula hospedeira. O conteúdo das roptrias é secretado do polo apical do parasito diretamente no citoplasma da célula hospedeira. Essas organelas são divididas em duas regiões bem definidas: 1) a mais basal, mais larga e de aspecto esponjoso, contendo proteínas (ROPs) envolvidas na subversão das funções da célula hospedeira e na formação do vacúolo parasitóforo e; 2) a porção anterior, ou pescoço, que concentra proteínas (RONs) associadas à invasão da célula hospedeira, formando a junção móvel juntamente com o micronema (4, 11, 16).

Um terceiro tipo de organela secretora que atua na invasão, são os grânulos densos. Essas organelas apresentam um conjunto de proteínas (GRAs), que podem ser secretadas na célula hospedeira durante o processo de invasão ou após o estabelecimento do vacúolo parasitóforo. Juntamente com as ROPs, GRAs revestem o vacúolo parasitóforo. GRAs e ROPs podem também permanecer no citoplasma onde interferem na sinalização e expressão da célula

hospedeira. As proteínas de grânulos densos (GRAs) estão também envolvidas na montagem de uma rede de túbulos e estruturas filamentosas, e no ajuste fino de vias imunológicas. Em conjunto com as roptrias, os grânulos densos causam um impacto significativo na virulência de várias cepas de *T. gondii* (2, 4) (Fig. 2). Uma vez dentro da célula do hospedeiro, *T. gondii* pode realizar os processos de replicação e diferenciação para infectar outras células e organismos (4).

Figura 2 - Principais proteínas relacionadas à invasão das células hospedeiras pelo *Toxoplasma gondii*



Proteínas necessárias na invasão da célula hospedeira pelo *T. gondii*. Secreção proteica por organelas presentes na região apical do parasito (A). Recobrimento do vacúolo parasitóforo por proteínas secretadas por *T. gondii* (B).

Fonte: Autoria própria. Criado com BioRender.com.

4. REPLICAÇÃO E MUDANÇA DE ESTÁGIO DO *Toxoplasma gondii* NAS CÉLULAS HOSPEDEIRAS

Taquizoítos podem infectar a maioria das células hospedeiras nucleadas, pois penetram as células ativamente e são envolvidos pelo vacúolo parasitóforo. O vacúolo parasitóforo por sua vez, é formado pela membrana plasmática do hospedeiro que o protege de mecanismos de defesa. Uma vez no interior da célula, os taquizoítos se multiplicam de forma assexuada por endodiogenia, onde duas células-filhas se formam dentro de uma célula-mãe que eventualmente se dissolve. Após diversos ciclos de replicação a célula hospedeira se rompe liberando os taquizoítos para infectar novas células (2, 4, 11).

Esses taquizoítos ativamente replicantes sofrem constante pressão do organismo do hospedeiro. No curso da infecção os taquizoítos convertem-se em bradizoítos encistados, aumentando sua capacidade de persistência. Nesse momento a infecção torna-se crônica. À medida que o cisto amadurece, mudanças em seu tamanho podem ser observadas devido à replicação do bradizoíto dentro do cisto. Embora os cistos possam se desenvolver em diversos órgãos, eles são mais prevalentes nos tecidos musculares e neurais (2, 4).

Morfologicamente, os bradizoítos são mais delgados que os taquizoítos, e diferem na localização de suas estruturas celulares. Além disso, também apresentam diferentes níveis de expressão ou isoformas de róprias, micronemas e grânulos densos. Bradizoítos podem também apresentar compostos metabólicos específicos, como grânulos de amilopectina, podendo servir como um estoque de energia de longo prazo. Nessas estruturas, o vacúolo parasitóforo é modificado para se tornar uma parede de cisto fortemente reforçada através de glicosilação (17, 18).

A transição entre taquizoítos e bradizoítos envolve mudanças consideráveis na expressão gênica de fatores de transcrição que contêm o domínio de ligação de DNA Apetala2 (AP2). Essas proteínas AP2 são trans reguladores de genes de bradizoítos, pois se ligam às regiões promotoras dos marcadores de bradizoítos BAG1 e B-NTPase. Para exercer controle sobre seu processo de diferenciação também ocorrem modificações pós-traducionais, como em quinases eucarióticas do Fator 2 de Iniciação (eIF2). Normalmente, a

fosforilação da subunidade α de eIF2 leva a uma diminuição na síntese proteica global relacionada à resposta ao estresse (18, 19).

A conversão entre taquizoítos e bradizoítos está associada a alterações moleculares e morfológicas incluindo a expressão de antígenos estágio-específico (Tab. 1) e alterações no metabolismo¹⁹. Também pode ocorrer a transformação dos bradizoítos novamente em taquizoítos, o que indica a reativação da infecção aguda.

Tabela 1 - Proteínas estágio-específicas de Taquizoítos e de Bradizoítos.

	Proteínas estágio-específicas	
	Taquizoítos	Bradizoítos
Membrana plasmática	SAG1	SAG2C/D/X/Y
	SAG2A	SAG4
	SRS1-SRS3	SRS9
Citoplasma	LDH1	LDH2
		BAG1
Núcleo	ENO2	ENO1
Vacúolo parasitóforo/cisto	NTPases	GRA
		MCP4
		BPK1

Proteínas estágios-específicas de taquizoítos e de bradizoítos e suas respectivas localizações.

Fonte: Autoria própria, 2022.

5. RESPOSTA IMUNE CONTRA O *Toxoplasma gondii*

Os mecanismos de eliminação de *T. gondii* pelo sistema imune do hospedeiro humano ainda não são completamente compreendidos, no entanto, sabe-se que a presença de cistos permite a persistência do parasito por longos períodos após a manifestação da infecção aguda (20). Os cistos de *T.gondii* podem periodicamente se romper, liberando bradizoítos que serão destruídos pelo sistema imune. Entretanto, em indivíduos imunocomprometidos, a infecção

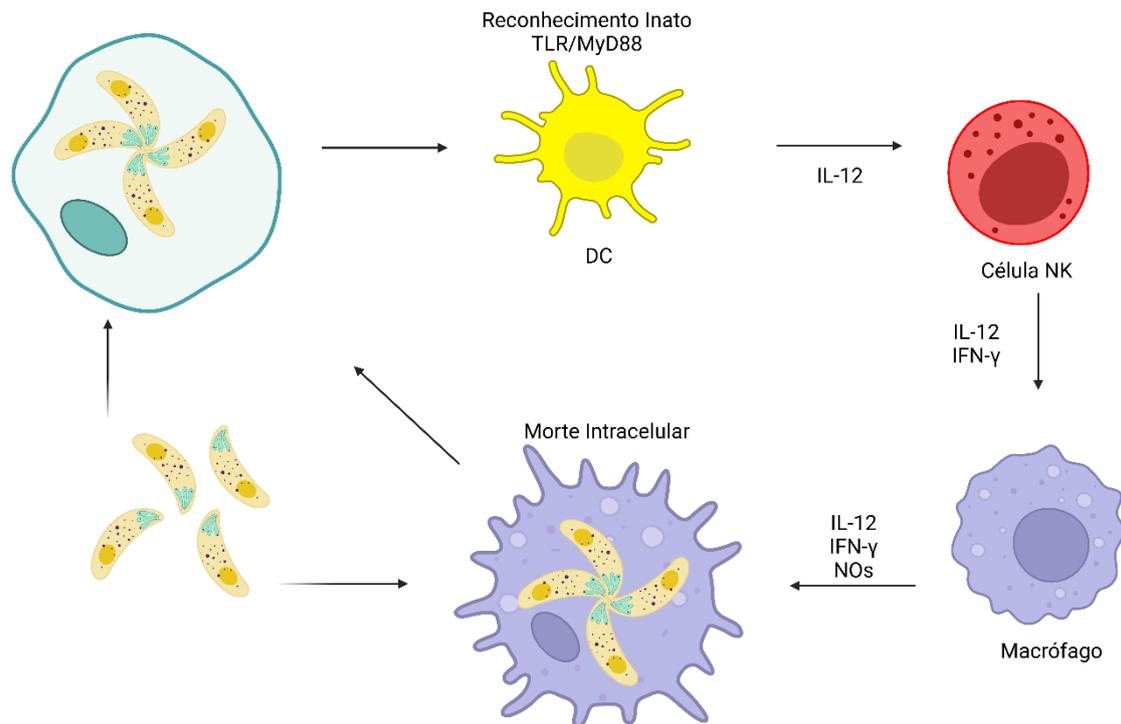
pode ser reativada pela disseminação de bradizoítos e conversão em taquizoítos (12).

Fatores relacionados ao hospedeiro, como a resposta imune também estão envolvidos no curso da patogênese da toxoplasmose. A resposta imune é um dos principais fatores do hospedeiro relacionado à infecção. A ativação de mecanismos inatos e adaptativos da resposta imune culminam, na maioria dos indivíduos, em certa resistência e proteção de longa duração contra a infecção (20).

O sistema imune inato é o primeiro a responder à infecção por *T. gondii*. Em modelos murinos o reconhecimento do parasito é realizado por receptores do tipo *toll* (TLR11 e TLR12). A falta de receptores funcionais equivalentes em humanos, sugere receptores e mecanismos alternativos de reconhecimento (20). Uma vez que o mecanismo de reconhecimento de ligantes de TLR11 e TLR12 murinos em endossomos é semelhante ao de TLR3, TLR7 e TLR9 humanos (reconhecimento de ácidos nucleicos), esses TLRs, assim como TLR8, podem ser estimulados por ácidos nucleicos de *T. gondii* derivados no endossoma para induzir a expressão de IL-12. Camundongos deficientes em MyD88, uma importante molécula adaptadora essencial na sinalização intracelular da maioria dos TLRs, mostraram uma falha pronunciada na produção de IL-12 em resposta à estimulação de antígenos de *Toxoplasma* em ensaios *in vivo* e *in vitro* (20-22) (Fig. 3).

Células infectadas por *T. gondii* também secretam a alarmina S100A11. Em resposta a essa proteína, monócitos produzem quimiocina. Além disso, nessas células, o reconhecimento citosólico do parasito depende do domínio pirina de NLRP1 e NLRP3 (família NLR contendo inflamassoma). Essa cadeia de eventos promove a secreção precoce de IL-1 β , levando à morte celular (20).

Em resposta a infecção, neutrófilos, células dendríticas e monócitos produzem IL-12 (interleucina-12), o que impulsiona uma resposta IFN-dependente. A resposta IFN-dependente inicia a imunidade protetora tipo 1, além de induzir a formação de óxido nítrico sintase induzível (iNOS). A deficiência de iNOS torna o hospedeiro altamente suscetível durante a fase tardia da infecção, resultando em letalidade devido ao aumento da carga parasitária no sistema nervoso central (21-23).

Figura 3 – Imunidade inata do tipo 1 contra *Toxoplasma gondii*

Ativação da imunidade inata do tipo 1 contra *Toxoplasma gondii*. O reconhecimento do antígeno pelos TLRs induz produção de IL-12 em células fagocíticas, que por sua vez promove a síntese de IFN- γ , auxiliando no desencadeamento da resposta IFN-dependente, permitindo assim a eliminação dos parasitas.

Fonte: Autoria própria. Criado com BioRender.com.

A produção de IL-12 durante as respostas imunes inatas é essencial na montagem da resposta imune contra o *T. gondii*, porém existem outros fatores que em conjunto induzem a resposta imune adaptativa (20, 22).

As células B, macrófagos e DCs (células dendríticas), conhecidas como células apresentadoras de antígenos (APCs), captam antígenos através da: 1) fagocitose de parasitos, células infectadas ou detritos parasitários; 2) endocitose de antígenos ou; 3) por invasão ativa do parasito; e apresentam por MHC de classe I ou II. Essa apresentação em conjunto com sinais coestimulatórios, induz a proliferação de populações de células T CD4⁺ auxiliares e células T CD8⁺ citotóxicas, produtoras massivas de IFN- γ (20, 22).

A super expressão de IFN- γ ou de CD40L, receptor que pode ativar mecanismos efetores em macrófagos e outras células que expressam CD40 em sua superfície, indica a capacidade dessas células adaptativas de controlar a

infecção crônica por *T. gondii* através da superprodução de IFN- γ . A resposta de linfócitos T CD8⁺ é influenciada pelo auxílio fornecido pelas células T CD4⁺ (22, 24). No entanto, um estudo feito em camundongos demonstrou que a depleção de linfócitos T CD8⁺ e T CD4⁺ em camundongos cronicamente infectados resulta na reativação da infecção na forma grave, mas a depleção somente de TCD4⁺ tem impacto limitado (Fig. 4). Esses dados sugerem uma resposta mais eficiente quando TCD4⁺ e T CD8⁺ atuam em conjunto (25).

Além da produção de IL-12 e IFN- γ há outras citocinas envolvidas na resposta imune à toxoplasmose. As células Tregs produtoras de IL-10, que possuem mecanismo supressivo, não são necessárias durante a infecção, sendo o número de Tregs rigidamente controlado. A diminuição do número dessas células ocorre pelas menores concentrações locais de IL-2 durante a infecção aguda por *T. gondii*, resultando na inibição das Tregs e ativação do perfil Th1 de resposta imune das células T CD4⁺. A imunossupressão após ativação de células Th1 é importante para proteção contra imunopatologia excessiva em resposta à infecção por *T. gondii* (22-24).

Citocinas como IL-10 e IL-22 são produzidas na fase inicial pós-infecção e também na fase crônica. As células T-bet⁺ Foxp3⁻ Th1 produzem tanto IL-10 quanto IFN- γ em um mecanismo de “autorregulação”. A IL-33, mesmo sendo citocina pró-inflamatória, em conjunto com a IL-27 estimula a produção de IL-10 por macrófagos M2 para ativar Tregs, e demonstraram amplificar a resposta Th2 para suprimir a imunidade Th1 (22, 24).

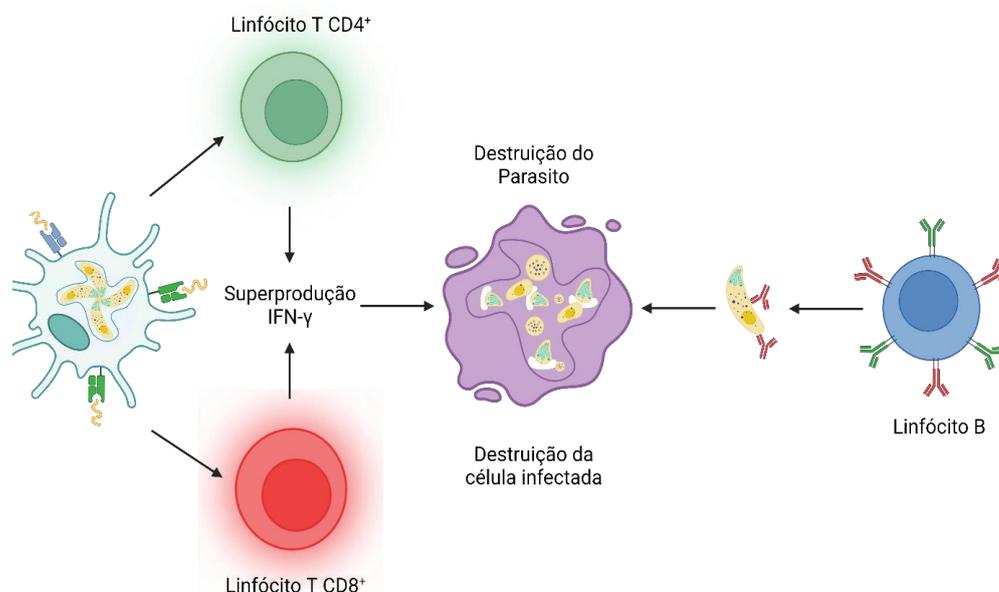
Além da imunidade mediada por células, anticorpos específicos contra o parasito em questão, como IgA, IgE, IgM e IgG foram isolados de pacientes humanos, tornando-se uma importante ferramenta diagnóstica para distinção entre infecções agudas e crônicas. Seus efeitos podem ser de potencializar ou bloquear mecanismos imunoprotetores, e se dão através de vários mecanismos: 1) por opsonização do parasito para fagocitose, 2) bloqueio da invasão e 3) ativação da via clássica do sistema complemento (25, 26).

As respostas humorais são desenvolvidas com o auxílio das células T CD4⁺. Em modelos experimentais, os níveis de IgA estão relacionados à presença de IL-10 e TGF- β , já a concentração de IgE é induzida por IL-4, sendo restrito à fase aguda da infecção. Deve-se considerar que as classes e subclasses de imunoglobulinas produzidas durante a toxoplasmose apresentam

padrão diferente em humanos e murinos. Por isso, em humanos, IgG1 e IgG3 são induzidas por IFN- γ e aumentadas por IL-10 e TGF- β ; a IgG2 é induzida por IL-2, sendo aumentada por IL-6, enquanto IgG4 é induzida por IL-4 e IL-13 (24-26).

O papel do IFN- γ na resposta imune contra o *T. gondii* é indiscutível. É crucial para a ativação de uma variedade de atividades antimicrobianas, tanto em células hematopoiéticas quanto não hematopoiéticas, que limitam a replicação do parasita. Uma de suas ações, em conjunto com TNF- α e CD40L, envolve a indução do aumento da síntese de Óxido Nítrico (NO), através do aumento da expressão da enzima da NO sintase induzível (iNOS), responsável pela produção de NO em macrófagos e outros tipos de células. O mecanismo exato pelo qual o NO inibe a replicação do parasito ainda não foi elucidado, porém estudos demonstram que camundongos deficientes na produção de NO são mais susceptíveis à toxoplasmose. Além disso, o IFN- γ também estimula a degradação do triptofano, que suprime o crescimento de *T. gondii* em fibroblastos humanos, células de glioma, células de retinoblastoma e macrófagos, e carência de ferro nos enterócitos (22, 24, 27).

Figura 4 - Fontes celulares de IFN γ durante infecção por *T. gondii*.



Mecanismos de imunidade adaptativa durante a infecção por *T. gondii*. A produção do IFN- γ pelas células do sistema imune é crucial para a sobrevivência do hospedeiro durante a infecção por *Toxoplasma gondii*. Assim como, a produção de anticorpos que permite a opsonização do parasito para fagocitose, o bloqueio da invasão e a ativação da via clássica do sistema complemento. Fonte: Autoria própria. Criado com BioRender.com.

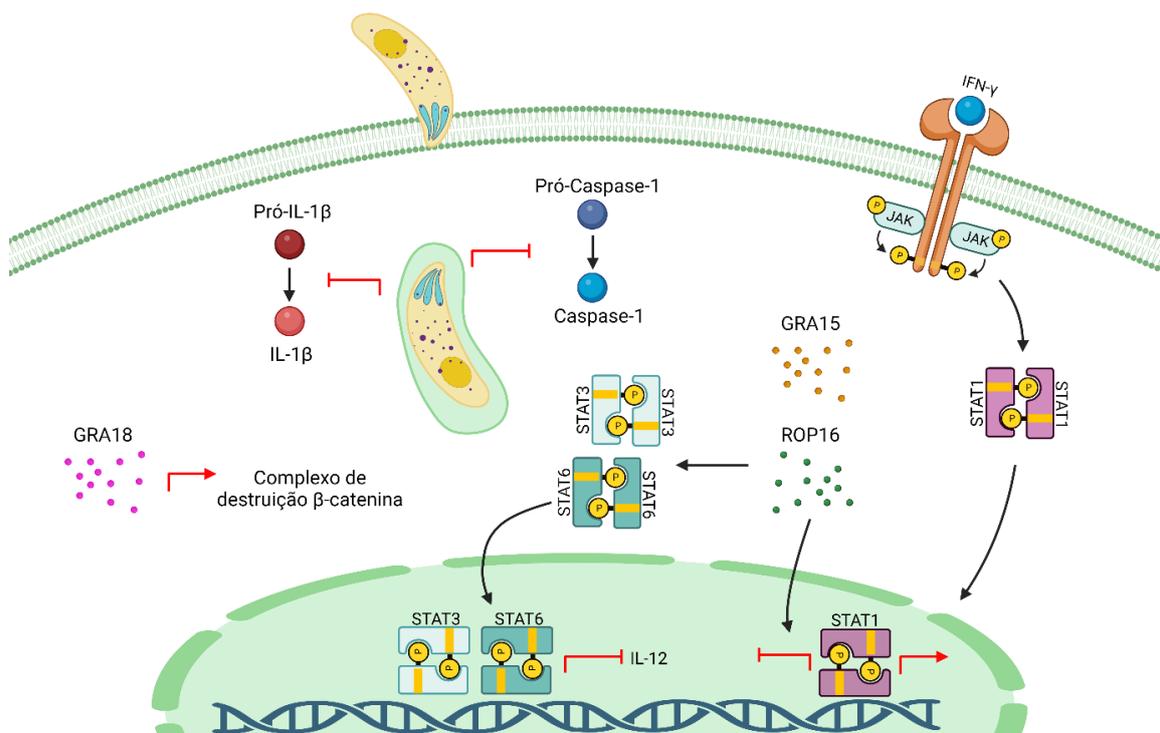
6. MECANISMOS DE EVASÃO DO *Toxoplasma gondii*

A interferência em vias de sinalização responsáveis pela produção de citocinas nos hospedeiros é uma estratégia eficaz do parasito para prejudicar as respostas imunes do hospedeiro. As proteínas efetoras liberadas através das rôptrias ou grânulos densos, participam da manipulação ativa da sinalização da célula hospedeira e das respostas transcricionais (20) (Fig. 5).

Como mencionado em sessões anteriores, as cepas I, II e III de *T. gondii* diferem em sua virulência em células hospedeiras. A rôptria quinase ROP16, nas cepas do tipo I e III, ativam o transdutor de sinal e ativador da transcrição 3 e 6 (STAT3 e STAT6) em células humanas e de camundongo, regulando negativamente a IL-12. A atividade transcricional de STAT1 pode ser inibida em todas as cepas por mecanismos independentes da ROP16 junto com a GRA15, uma proteína de grânulos densos que ativa a sinalização sustentada de NF- κ B. Por outro lado, STAT1 pode ser ativado pela sinalização JAK/STAT, estimulada por IFN- γ . Além disso, o inibidor da transcrição dependente de STAT1 (TgIST), uma proteína de grânulos densos e conservada entre cepas de *T. gondii*, é necessário para bloquear a transcrição de genes estimulados por IFN em Fibroblastos do prepúcio humano (HFFs) (11, 21).

A via NF- κ B também é desregulada pelo *T. gondii*, através da limitação da sua ativação, o que pode levar à inibição da produção de IL-1 β induzida por LPS, pela cepa do tipo I. Além disso, o *T. gondii* também pode inibir a clivagem e ativação da caspase-1 em neutrófilos infectados. Recentemente, foi descoberto que o GRA18 forma complexos com elementos reguladores do complexo de destruição de β -catenina, promovendo a estabilização e translocação nuclear de β -catenina e induzindo a expressão gênica dependente de β -catenina (11, 21).

Figura 5 - Modulação da sinalização imune do hospedeiro por *T. gondii*.



Modulação da sinalização imune do hospedeiro por *T. gondii*. Após a invasão da célula hospedeira, a manipulação das vias de sinalização e expressão gênica prejudicam as respostas imunes.

Fonte: Autoria própria, 2022. Criado com BioRender.com.

Durante o curso de infecções por parasitas intracelulares como as causadas por *T. gondii*, a apoptose é um importante mecanismo de eliminação de patógenos. A inibição das vias intrínsecas e extrínsecas da apoptose celular auxilia na sobrevivência de *T. gondii* e preserva o seu espaço no meio intracelular (23) (Fig. 6).

A regulação de diversos fatores da via apoptótica estão relacionados com a inibição das vias intrínsecas, que parecem convergir na inibição do citocromo C e caspases apoptóticas. A inibição da liberação do citocromo C, pela indução de substâncias, como actinomicina D, arsênio e peróxido de hidrogênio, ou incidência de luz UV, inibem a liberação do citocromo C da mitocôndria, que por

sua vez reduz a clivagem de caspase-9 e caspase-3 apoptóticas, interferindo diretamente no evento (23, 24).

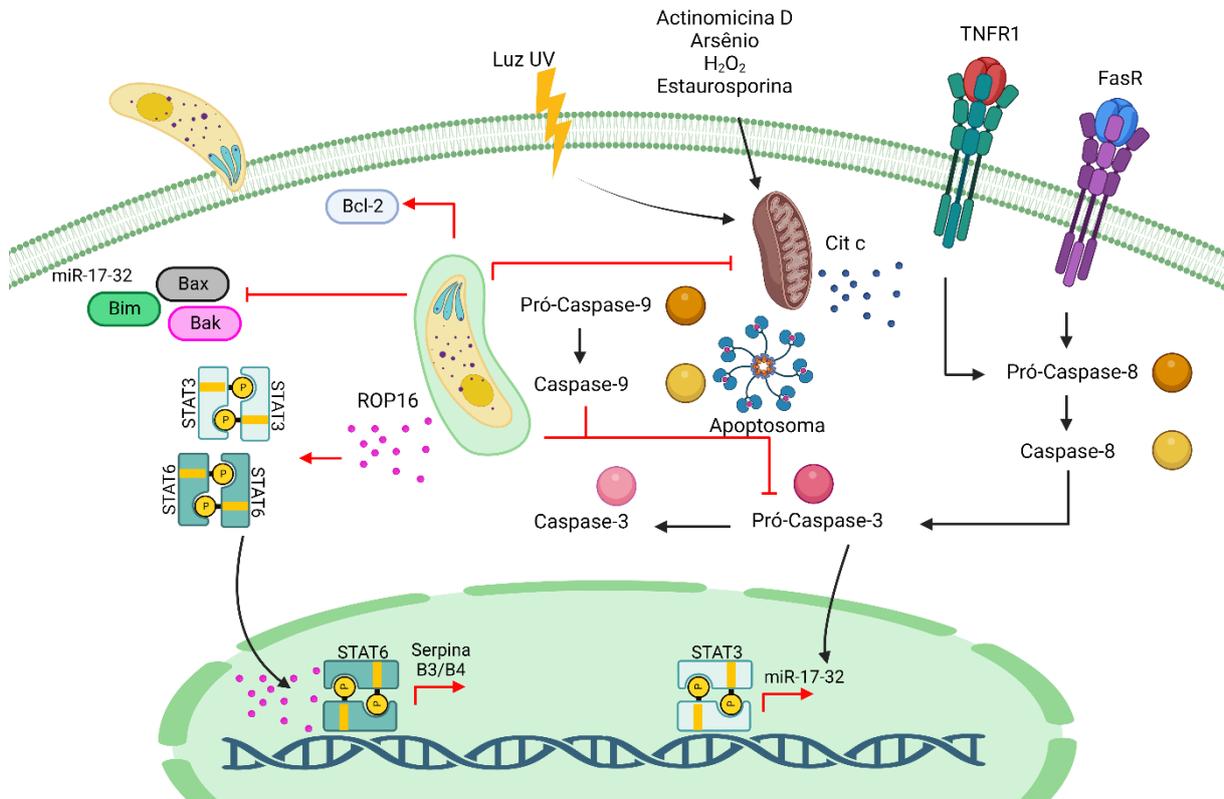
O parasito também pode afetar diretamente a ativação da caspase, independentemente da liberação do citocromo C. A ligação do citocromo C e de dATP ou ATP ao fator de ativação de protease 1 (Apaf-1) permite a formação de um complexo apoptossomo, que por sua vez ativa a caspase-9. Já a ligação da caspase-9 ao Apaf-1, impede a atividade da caspase-9 e a ativação da caspase-7 e caspase-3 (27,28).

O *T. gondii* também inibe a via extrínseca da apoptose. Níveis reduzidos de pró-caspase-8 diminuem sua associação com o complexo de sinalização indutor de morte (DISC) e prejudicam a ativação de caspases efetoras. Esses níveis podem ser alterados através da ligação de TNF- α com receptor TNFR1. Outra forma de alteração é pela indução do receptor Fas/CD95, na ausência de uma alça de amplificação mitocondrial. Caso a ligação Fas/CD95 seja amplificada através da alça de amplificação mitocondrial, *T. gondii* inibe a clivagem da proteína Bid pró-apoptótica BH3, a liberação de citocromo C, a atividade do iniciador caspase-8 e caspase-9 e o efetor caspase-3 e caspase-7 (21, 29).

O aumento da expressão de micro RNAs, como o miR-17-92, também interferem na apoptose. O aumento da expressão desses miRNAs, bloqueia a apoptose se induzida por estaurosporina, mas também pode ser através da ativação do STAT3. A ativação da STAT3, além de levar ao aumento do miR-17-92, leva à expressão diminuída de Bim, que contribui para a formação de poros na membrana mitocondrial e liberação de citocromo C (21, 30).

Além dos fatores apoptóticos, os fatores antiapoptóticos também podem ser regulados, nesse caso positivamente, como os da família Bcl-2 (Bax, Bak e Bim). Embora a infecção por *T. gondii* não afete a expressão de Bax ou Bak, ela inibe as alterações conformacionais dessas proteínas. A translocação de Bax do citosol para a mitocôndria e a oligomerização de Bax contribui para a diminuição da liberação de citocromo C (21, 28, 29).

Figura 6 - Modulação da apoptose de células hospedeiras por *T. gondii*.



Modulação da apoptose de células hospedeiras por *T. gondii*. Após a invasão da célula hospedeira, a manipulação das vias intrínsecas e extrínsecas promove a apoptose celular. Fonte: Autoria própria. Criado com BioRender.com.

Cepas virulentas de *T. gondii* não induzem a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) o que evita a morte intracelular do parasito. Esse evento ocorre devido a presença da enzima NADPH oxidase, que atua reduzindo Nox4 nos níveis de transcrição e proteína, resultando em diminuição de ROS intracelular. A indução de TGFβ1 leva à destruição de iNOS, mas também pode haver a competição entre ele e a arginase pelo mesmo substrato, levando a diminuição de NO^{21, 30}. Um inibidor de serina protease TgPI-1, é secretado pelos grânulos densos e inibe a atividade da elastase de neutrófilos, ele também inibe a tripsina e a quimotripsina, duas enzimas proteolíticas do intestino delgado²¹.

Além da capacidade pronunciada de invasão ativa das células do hospedeiro e consequente disseminação, os mecanismos de evasão do sistema imune presentes em *T. gondii*, posicionam esse parasito como importante agente etiológico da toxoplasmose humana. O conhecimento das vias de sinalização e

da relação parasito/hospedeiro com o ser humano podem auxiliar no desenvolvimento de estratégias profiláticas e para o combate da doença.

REFERÊNCIAS

- 1 Milne G, Webster JP, Walker M. *Toxoplasma gondii*: an underestimated threat?. Trends Parasitol [Internet]. 2020 [cited 2022 ago 12]; 36(12):959-69. doi: 10.1016/j.pt.2020.08.005.
- 2 Kochanowsky JA, Koshy AA. *Toxoplasma gondii*. Curr Biol [Internet]. 2018 [cited 2022 ago 15]; 28(14):770-1. doi: 10.1016/j.cub.2018.05.035
- 3 Kaushik M, Knowles SCL, Webster JP. What makes a feline fatal in *Toxoplasma gondii*'s fatal feline attraction? Infected rats choose wild cats. Am Zool [Internet]. 2014 [cited 2022 sep 28]; 54(2):118-28. Doi:10.1093/icb/icu060
- 4 Attias M, Teixeira DE, Benchimol M, Vommaro RC, Crepaldi PH, De Souza W. The life-cycle of *Toxoplasma gondii* reviewed using animations. Par Vec [Internet]. 2020 [cited 2022 ago 15]; 13(1):588. doi: 10.1186/s13071-020-04445-z.
- 5 Hartmann K, Day MJ, Thiry E, Lloret A, Frymus T, Addie D, Boucraut-Baralon C, Egberink H, Gruffydd-Jones T, Horzinek MC, Hosie MJ, Lutz H, Marsilio F, Pennisi MG, Radford AD, Truyen U, Mostl K. *Toxoplasma gondii* infection in cats: ABCD guidelines on prevention and management. J Feline Med Surg [Internet]. 2013 [cited 2022 ago 15]; 15(7):631-37. doi: 10.1177/1098612X13489228.
- 6 Shapiro K, Bahia-Oliveira L, Dixon B, Dumètre A, Wit LA, VanWormer E, Villena I. Environmental transmission of *Toxoplasma gondii*: Oocysts in water, soil and food. Food Waterb Parasitol [Internet]. 2019 [cited 2022 ago 15]; 15:e00049. doi: 10.1016/j.fawpar.2019.e00049.
- 7 Pinto-Ferreira F, Caldart ET, Pasquali AKS, Mitsuka-Breganó R, Freire RL, Navarro IT. Patterns of transmission and sources of infection in outbreaks of human toxoplasmosis. Emerg infec diseas [Internet]. 2019 [cited 2022 sep 26]; 25(12):2177. doi: [10.3201/eid2512.181565](https://doi.org/10.3201/eid2512.181565)
- 8 Wang ZD, Wang SC, Liu HH, Ma HY, Li ZY, Wei F, Zhu XQ, Liu, Q. Prevalence and burden of *Toxoplasma gondii* infection in HIV-infected people: a systematic review and meta-analysis. The Lancet HIV [Internet]. 2017 [cited 2022 sep 26]; 4(4):177-88. doi:10.1016/s2352-3018(17)30005-x
- 9 Calero-Bernal R, Fernández-Escobar M, Katzer F, Su C, Ortega-Mora LM. Unifying Virulence Evaluation in *Toxoplasma gondii*: A Timely Task. Fron. Cell Infect Microbiol [Internet]. 2022 [cited 2022 ago 24]; 12:868727. doi: 10.3389/fcimb.2022.868727.
- 10 Dardé ML, Ajzenberg D, Su C. Chapter 3: Molecular epidemiology and population structure of *Toxoplasma gondii*. In: Louis M. Weiss, L. M., Kim, K. *Toxoplasma gondii—the model apicomplexan: perspectives and methods*. Editora Academic Press; 2014. p. 61-97
- 11 Zhang Y, Lai BS, Juhas M, Zhang Y. *Toxoplasma gondii* secretory proteins and their role in invasion and pathogenesis. Microbiol Res [Internet]. 2019 [cited 2022 ago 15]; 227:126293. doi: 10.1016/j.micres.2019.06.003.
- 12 Dubey, J. P. Toxoplasmosis—a waterborne zoonosis. Vet parasitol [Internet]. 2004 [cited 2022 ago 24]; 126(1-2):57-72. doi: 10.1016/j.vetpar.2004.09.005.
- 13 Dubey, J. P. The history of *Toxoplasma gondii* — the first 100 years. J. Eukaryot Microbiol [Internet]. 2008 [cited 2022 ago 24]; 55(6):467-475. doi: 10.1016/j.vetpar.2004.09.005.
- 14 Hoppe CM; Albuquerque-Wendt A, Bandini G, Leon DR, Shcherbakova A, Buettner FFR, Izquierdo L, Costello CE, Bakker H, Routier FH. Apicomplexan C-mannosyltransferases modify thrombospondin type I-containing adhesins of the

- TRAP family. *Glycobiology* [Internet]. 2018 [cited 2022 ago 25]; 28(5):333-343. doi: 10.1093/glycob/cwy013.
- 15 Morahan BJ, Wang L, Coppel R L. No TRAP, no invasion. *Trends in parasitol* [Internet], 2009 [cited 2022 sep 28]; 25(2):77-84. Doi: [10.1016/j.pt.2008.11.004](https://doi.org/10.1016/j.pt.2008.11.004)
 - 16 Boothroyd J, Dubremetz, JF. Kiss and spit: the dual roles of *Toxoplasma* rhoptries. *Nat Rev Microbiol* [Internet]. 2008 [cited 2022 ago 25]; 6(8):79-88. doi: 10.1038/nrmicro1800.
 - 17 Jeffers V, Tampaki Z, Kim K, Sullivan Jr WJ. A latent ability to persist: differentiation in *Toxoplasma gondii*. *Cel Mol Life Sci* [Internet]. 2018 [cited 2022 ago 26]; 7(13):2355-2373. doi: 10.1007/s00018-018-2808-x.
 - 18 Cerutti A, Blanchard N, Besteiro S. The bradyzoite: a key developmental stage for the persistence and pathogenesis of toxoplasmosis. *Pathogens* [Internet]. 2020 [cited 2022 ago 29]; 9(3):234. doi: 10.3390/pathogens9030234.
 - 19 Tu V, Yakubu R, Weiss LM. Observations on bradyzoite biology. *Microbes Infect* [Internet]. 2018 [cited 2022 ago 29]; 20(9-10):466-476. doi: 10.1016/j.micinf.2017.12.003
 - 20 Fisch D, Clough, B, Frickel E. Human immunity to *Toxoplasma gondii*. *PLoS Pathog* [Internet]. 2019 [cited 2022 ago 29]; 15(12):e1008097. doi: 10.1371/journal.ppat.1008097
 - 21 Lima TS, Lodoen MB. Mechanisms of human innate immune evasion by *Toxoplasma gondii*. *Front Cell Infect Microbiol* [Internet]. 2019 [cited 2022 ago 30]; 9:103. doi: 10.3389/fcimb.2019.00103.
 - 22 Sasai M, Yamamoto M. Innate, adaptive, and cell-autonomous immunity against *Toxoplasma gondii* infection. *Exp Mol Med* [Internet]. 2019 [cited 2022 ago 30]; 51(12):1-10. doi: 10.1038/s12276-019-0353-9.
 - 23 Pifer R, Yarovinsky F. Innate responses to *Toxoplasma gondii* in mice and humans. *Trends Parasitol* [Internet]. 2011 [cited 2022 ago 15]; 27(9):388-393. doi: 10.1016/j.pt.2011.03.009.
 - 24 Dupont CD, Christian DA, Hunter CA. Immune response and immunopathology during toxoplasmosis. *Semin. Immunopathol* [Internet]. 2012 [cited 2022 ago 15]; 34(6):793-813. doi: 10.1371/journal.ppat.1008097.
 - 25 Reichmann G, Walker W, Villegas EN, Craig L, Cai G, Alexander J. The CD40/CD40 ligand interaction is required for resistance to toxoplasmic encephalitis. *Infect Immun* [Internet]. 2000 [cited 2022 ago 15]; 68(3):1312-1318. doi: 10.1128/IAI.68.3.1312-1318.2000.
 - 26 Souza W, Belfort JR R. *Toxoplasmose & Toxoplasma gondii*. [E-book on the Internet]. Rio de Janeiro: FioCruz, 2014; [cited 2019 Mar 7]; 214 p. doi: 10.7476/9788575415719.
 - 27 Hunter CA, Sibley LD. Modulation of innate immunity by *Toxoplasma gondii* virulence effectors. *Nat Rev Microbiol* [Internet]. 2012[cited 2022 ago 15]; 10(11): 766-778. doi: 10.1038/nrmicro2858.
 - 28 Laliberte J, Carruthers VB. Host cell manipulation by the human pathogen *Toxoplasma gondii*. *Cel Mol Life Sci* [Internet]. 2008 [cited 2022 ago 15]; 65(12):1900-1915. doi: 10.1007/s00018-008-7556-x.
 - 29 Blader IJ, Koshy AA. *Toxoplasma gondii* development of its replicative niche: in its host cell and beyond. *Eukaryotic cell* [Internet]. 2014 [cited 2022 ago 20]; 13(8):965-976. doi: 10.1128/EC.00081-14.
 - 30 Zhu W, Li J, Pappoe F, Shen J, Yu L. Strategies developed by *Toxoplasma gondii* to survive in the host. *Frontiers in Microbiol* [Internet]. 2019 [cited 2022 ago 15]; 10:899. doi: 10.3389/fmicb.2019.00899.

CAPÍTULO 8

ALTERAÇÕES HEPÁTICAS NA DOENÇA DE CHAGAS EXPERIMENTAL

Yarlla Loyane Lira Braga¹
José Rodrigues do Carmo Neto²
Mariana Godoy Garcia³
Rhanoica Oliveira Guerra⁴
Priscilla Elias Ferreira da Silva⁵
Karen Martins Mendes⁶
Mara Rubia Nunes Celes⁷
Flávia Aparecida de Oliveira⁸
Marlene Antônia dos Reis⁹
Juliana Reis Machado¹⁰

¹Doutora pelo Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás – UFG.

²Doutora pelo Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás – UFG.

³Graduanda do curso de farmácia da Universidade Federal de Goiás – UFG.

⁴Doutoranda pelo programa de Imunologia Básica e Aplicada na Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - USP

⁵Doutora em Ciências pelo Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical e Infectologia da Universidade Federal do Triângulo Mineiro

⁶Graduanda do curso de Biomedicina da Universidade Federal do Triângulo Mineiro - UFTM

⁷Professora efetiva do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás (IPTSP-UFG)

⁸Professora efetiva da do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás (IPTSP-UFG)

⁹Doutora em Patologia Humana pela Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto

¹⁰Professora efetiva do Departamento de Patologia, Genética e Evolução. Universidade Federal do Triângulo Mineiro- UFTM

RESUMO

A doença de Chagas é uma antropozoonose causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*, com maior prevalência na América Latina. Cerca de 10 milhões de pessoas são infectadas em todo o mundo, tornando-a um problema de saúde pública. É caracterizada por duas fases, sendo uma delas a aguda que é assintomática na maioria dos casos, mas nos casos sintomáticos pode-se observar febre, inflamação no local da inalação, sinal de Romanã, linfadenopatia e hepatoesplenomegalia; e a outra é a crônica, que pode se apresentar na forma indeterminada, cardíaca, digestiva ou cardiodigestiva. Já existem relatos de que, na fase aguda, o parasito é capaz de provocar alterações estruturais nos sinusóides, células do sistema monofagocitário e hepatócitos. Ademais, induzem aumento dos marcadores hepáticos, como AST e ALT, bem como os fatores de coagulação (PCA e VII). Por outro lado, na fase crônica, tem relatos de que alterações na dieta do camundongo pode interferir na resposta inflamatória,

carga parasitária e o peso do fígado. No geral, a resposta imunológica no órgão frente à infecção é marcada pela ação e presença de células NK, NKT, T CD4⁺, T CD8⁺ e TCD4⁻ TCD8⁻ TCR $\gamma\delta$ ⁺ e macrófagos. O equilíbrio entre resposta pró e anti-inflamatória parece ser importante para o controle da doença. Embora existam esses relatos de alterações hepáticas frente a infecção por *T. cruzi*, ainda faltam estudos que esclareçam de forma clara e completa a interação parasito-hospedeiro neste órgão, principalmente na fase crônica. Com base nisso, nos propomos a sumarizar os estudos que abordam as alterações histológicas e imunes no fígado ocasionadas pela infecção com *T. cruzi* a fim de elucidar as lacunas que podem ser abordadas nos estudos futuros.

Palavras chaves: *T. cruzi*. Fígado. Resposta imunológica. Alterações histológicas.

1. INTRODUÇÃO

A Doença de Chagas (DC), também denominada Triponossomíase Americana, é uma importante doença parasitária, resultante da infecção por *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*). Estima-se que existam cerca de 10 milhões de pessoas infectadas em todo o mundo, com elevada prevalência na América Latina, onde a doença de Chagas é endêmica (1). São encontrados, ainda, casos em países da Europa, América do Norte e outras regiões não endêmicas, resultantes, especialmente, da migração de indivíduos infectados (2).

O curso clínico-patológico da DC consta de duas fases: aguda e crônica. A fase aguda perdura por 4-8 semanas e, normalmente, é assintomática. No entanto, a fase aguda da DC pode apresentar sintomas inespecíficos que dificultam o diagnóstico precoce da doença. No início, além do elevado nível de parasitas circulantes os sintomas mais frequentes são febre prolongada, mal-estar, hepatoesplenomegalia e, no caso da transmissão vetorial, o sinal de entrada de *T. cruzi* através da pele caracterizado como chagoma, e, quando ocorre nas membranas mucosas oculares, romanã (3). A hepatomegalia é uma alteração macroscópica relacionada aos focos de infiltrado inflamatório e dano tecidual induzida durante a infecção aguda por *T. cruzi*. Essa alteração observada é explicada pelo aumento do processo inflamatório devido à intensificação do parasitismo tissular, espessamento da matriz extracelular e macrofagotropismo, com o surgimento de ninhos de amastigotas no fígado (4).

A fase crônica, por sua vez, pode se apresentar na forma indeterminada,

cardíaca, digestiva ou cardiodigestiva. A forma indeterminada, também chamada de estágio assintomático, pode perdurar por décadas. Apesar das alterações cardíacas e digestivas serem as mais descritas para pacientes sintomáticos, correspondendo a 30% e 15% dos casos respectivamente (5), pouco se sabe sobre as alterações hepáticas na doença de Chagas, em especial na fase crônica.

O fígado é um órgão extremamente importante para a manutenção do organismo humano. Logo, as alterações causadas pelo *T. cruzi* no fígado precisam ser melhor elucidadas, uma vez que as consequências clínicas da infecção são variadas e muitos aspectos ainda necessitam ser esclarecidos. Assim, este trabalho tem como objetivo reunir as informações até então relatadas sobre as alterações histológicas e imunes no fígado ocasionadas pela infecção com *T. cruzi*.

2. IMUNOPATOLOGIA DA DOENÇA DE CHAGAS NO FÍGADO

2.1. Fígado

O fígado é o maior órgão sólido do corpo humano e atua como base para diversos processos fisiológicos. Podendo pesar 1,5kg em um corpo adulto, suas funções afetam todos os sistemas fisiológicos, assim, este órgão contribui para à digestão, desintoxicação, equilíbrio de fluidos e eletrólitos e homeostasia. Isso inclui a participação na ação do sistema imunológico, metabolismo de macronutrientes, regulação do volume sanguíneo, controle endócrino das vias de sinalização de crescimento, homeostase de lipídeos e colesterol e a quebra de compostos xenobióticos, incluindo muitos medicamentos (6, 7).

Para exercer suas multifunções, o fígado é composto por dois grandes grupos de células, as células parenquimatosas e não parenquimatosas. Os hepatócitos são as células mais abundantes neste órgão, constituindo aproximadamente 80% do parênquima hepático, que junto com as células epiteliais biliares constituem o grupo das células parenquimatosas. As células não parenquimatosas consistem em células endoteliais sinusoidais do fígado (LSECs), células de Kupffer, células estreladas hepáticas e linfócitos residentes (7).

Os hepatócitos realizam muitas das funções atribuídas ao fígado, tendo em vista que possuem a mitocôndria e o retículo endoplasmático altamente desenvolvidos, organelas que são responsáveis por produzir albumina, fatores de coagulação e outras proteínas séricas. No processo de desintoxicação, os hepatócitos contêm enzimas coletivamente chamadas de P450 que reconhecem e modificam uma ampla variedade de substâncias químicas, permitindo sua eliminação na bile ou na urina (6). Além disso, os hepatócitos atuam na síntese de glutamina, formação de ureia, ácidos biliares e gliconeogênese (8).

Além do papel metabólico no indivíduo, o hepatócito também atua no controle da imunidade inata, que durante a resposta inflamatória, diversas citocinas pró-inflamatórias como IL-6, IL-1, TNF- α e IFN- γ , estimulam essas células a expressarem Receptores de Reconhecimento de Padrões (PRRs) e componentes do sistema complemento e, dessa forma, podem atuar como célula apresentadora de antígeno (APC) (8, 9, 10, 11).

As células epiteliais biliares são células cuboidais que revestem os ductos biliares, para a passagem da bile do hepatócito para o intestino. Composto 70% das células não parenquimatosas, as células endoteliais sinusoidais do fígado têm a característica microvascular e com diversas fenestras, o que difere das células endoteliais comum, e são especialistas na troca de material e resposta imune entre as células sanguíneas e as células do fígado. Além disso, são células altamente fagocíticas, que ajudam a eliminar moléculas potencialmente tóxicas da circulação e, assim, são responsáveis pela eliminação de mais de 75% do lipopolissacarídeo (LPS) que chega do intestino (12, 13, 14).

Localizados no espaço “de Disse” entre os hepatócitos e LSEC, as células estreladas hepáticas, representam 5 a 15% do número total de células do fígado. São células que em estado normal são responsáveis por armazenar vitamina A em gotículas de lipídios. Após a ativação, por fatores patogênicos, o fenótipo dessa célula muda e passa a secretar grandes quantidades de matriz extracelular, citocinas pró-inflamatórias e fatores pró-fibróticos (15, 16).

As células de Kupffer são a população de macrófagos residentes do fígado e correspondem entre 20-30% do grupo das células não parenquimatosas. Essas células reconhecem muitos estímulos patogênicos introduzidos pela circulação portal, não apenas realizando fagocitose para eliminação de bactérias e corpos estranhos, mas também desempenhando um papel na resposta imune

específica, imunidade antitumoral, desintoxicação de endotoxina, regulando a microcirculação e metabolismo (17).

O fígado possui alto grau de vascularização, com um suprimento sanguíneo duplo único, recebendo 20% do sangue da artéria hepática e 80% da veia porta. O sangue portal flui diretamente para o fígado, contornando os tecidos sentinela imunológicos clássicos, como o baço e os linfonodos, assim, sua localização anatômica e as características funcionais o tornam um dos órgãos mais vulneráveis do corpo humano (9). Desta forma, as células no fígado estão sujeitas à sinalização persistente de moléculas dietéticas e comensais, o que induz um estado de tolerância a este órgão. Um fígado saudável possui uma expressão basal de citocinas pró-inflamatórias (IL-2, IL-7, IL-12, IL-15 e IFN- γ) e anti-inflamatórias (IL-10, IL-13 e TGF- β) (18).

Enquanto mantém um ambiente de tolerância geral, o sistema imune hepático deve ser capaz de realizar respostas rápidas e controladas contra as células tumorais e microrganismos patogênicos. Os linfócitos são células residentes no fígado, importantes na defesa imune, são potentes produtores de citocinas e influenciam as respostas imunes inatas e adaptativas, dentre eles inclui um número significativo de células T, células B, células natural killer (NK) e natural killer T (NKT) (19).

Em camundongos, as células NKT e as células NK constituem até 40% e 10% do total de linfócitos hepáticos, respectivamente, enquanto em humanos, essas porcentagens são invertidas, com predominância de células NK (9). As células NK possuem numerosos grânulos, com a atividade regulada por citocinas pró-inflamatórias, entre elas, IFN- γ , IL-12 e IL-15 com principal função de destruir as células-alvo. As células NKT são um grupo heterogêneo de linfócitos T que co-expressam TCR e proteínas de superfície de células NK, sendo responsáveis por produzir rapidamente altos níveis de citocinas Th1 e Th2 após a ativação por meio de suas moléculas TCR e NK1.1 (19,20)

2.2. Alterações hepáticas histológicas e funcionais na doença de Chagas

Os primeiros estudos focados no fígado relataram parasitismo no órgão, dependente da cepa utilizada na fase aguda da infecção experimental (21, 22). Tripomastigotas livres nos sinusóides hepáticos (23) e em células do sistema

monofagocitário, como as de Kupffer, foram relatadas (21, 22, 23, 24, 25). Dessa forma, discute-se que esse parasitismo seja devido à alta quantidade de células fagocíticas no fígado e ao tropismo de determinadas cepas de *T. cruzi* pelo sistema monofagocitário, tornando-se o órgão um alvo da infecção, pelo menos na fase aguda (21, 22).

A infecção em camundongos induz lesões hepáticas a partir do sétimo dia, neste momento o infiltrado inflamatório é discreto e acentua-se com 14 p.i., com características pseudogranuloma focais em todos os lóbulos hepáticos, formados de células mononucleares e alguns neutrófilos (26). Na fase aguda experimental, foram relatados sinusóides dilatados em algumas regiões do fígado, bem como hipertrofia e hiperplasia de células de Kupffer independente de parasitismo (22, 25; 27). A infecção também foi capaz de induzir um aumento de células de Kupffer e macrófagos no espaço sinusoidal (28).

Alterações nos hepatócitos também foram encontradas, como núcleos gigantes, irregulares, binucleados, picnóticos e frequentemente, estavam em mitose (25, 27). Hepatócitos são raramente parasitados *in vivo*, já que o maior foco de infecção são as células de Kupffer e células sinusoidais (29). De fato, *T. cruzi* infecta tanto células do sistema monofagocitário como células do sistema reticuloendotelial. Dessa forma, fica claro a observação de ninhos de amastigotas em células desses dois sistemas, tornado o fígado um alvo de infecção.

Além de alterações histológicas, ainda na fase aguda, marcadores de função hepática também indicam como o órgão é afetado pelo protozoário. Tanto em modelos experimentais (19, 35, 38; 39; 40) como em seres humanos (41). A infecção em momentos iniciais, induz aumento das aminotransferases alanina (ALT) e aspartato (AST), enzimas relacionadas a lesão hepática aguda em diversas condições (11, 27, 30, 31). A concentração dessas enzimas, ao menos para casos de ingestão oral de *T. cruzi*, se mostrou diretamente dependente da carga parasitária do protozoário. Além disso, no mesmo estudo, demonstrou-se que as alterações hepáticas causadas na fase aguda da DC afetariam fatores de coagulação produzidos no órgão, ao aumentar, por exemplo, fatores como a proteína C ativada (PCA) e VII (33).

A partir da fase aguda, a progressão da DC observa-se alterações hemostáticas nas fases subseqüentes. Indivíduos infectados assintomáticos em

fase crônica (34), em fase crônica recente com disautonomia precoce cardíaca (35) e com ou sem acometimento cardíaco e/ou digestivo (36), apresentaram a infecção com status pró-trombótico (com aumento de fragmentos de protrombina 1+ 2, dímero D, PAI-1, fibrinogênio, PAP, ETP e micropartículas) e inflamatório (aumento de IL-6). Interessantemente, ao bloquear sinalização via IL-6 em modelo murino de infecção oral por *T. cruzi* de fase aguda, houve normalização de alterações hematológicas, caracterizadas por coagulação intravascular disseminada, encontrada em camundongos não tratados (37). De fato, infecções por bactérias, fungos e protozoários, como do grupo *Plasmodium* induzem alterações chamadas de tromboimunes, ou seja, a perda de hemostase dependente de alterações imunológicas (38). A partir desses relatos é possível sugerir que as alterações hepáticas causadas pelo processo infeccioso, ao menos, na fase aguda, estejam associadas com as alterações hemostáticas observadas nos indivíduos infectados, o que conecta os sistemas hepáticos e hematológico somado ao status pró-inflamatório na DC.

Ainda na fase aguda experimental, outras funções hepáticas foram avaliadas frente a infecção por *T. cruzi*. Ao utilizar a cepa Brazil, Nagajyothi *et al.* (2013) demonstrou que o processo infeccioso estabelecido nos camundongos, além de afetar a homeostase de glicose no baço, diminui a gliconeogênese hepática por reduzir níveis de mRNA glicose- 6-fosfatase no órgão, uma enzima crítica na via de gliconeogênese, e por aumentar a tolerância ao piruvato (39).

Dessa forma, é possível observar que o fígado pode estar associado com diversos tipos de comorbidades encontradas na DC e representa um importante órgão para entender a fisiopatologia da doença.

Para a fase crônica experimental com foco no fígado, poucos estudos estão disponíveis na literatura. Relata-se que a infecção crônica (BALB/c) com cepa Y, por exemplo, embora com hepatócitos e espaços sinusoidais normais, induz aumento de peso do fígado, infiltrado inflamatório misto, regiões necróticas e presença de ninhos de amastigotas (40). Sendo que comparado a fase aguda, há uma redução substancial de material genético de *T. cruzi* no fígado de animais na fase crônica, tanto em infecção com a cepa Taluhen (camundongo BALB/cJ) (41) quanto com a cepa Y (42). Entretanto, há uma manutenção do infiltrado inflamatório até a fase crônica, o que sugere a persistência do protozoário no

órgão.

2.3. Alterações imunológicas

Como observado no tópico anterior, a infecção por *T. cruzi* leva à um infiltrado de células mononucleares inflamatórias no parênquima hepático. Atualmente a resposta imune hepática tem sido um interesse de estudo para melhor caracterizar os tipos de células que compõem os focos inflamatórios e seus mediadores inflamatórios durante a DC. Haja vista que o fígado tem suas particularidades, este órgão desempenha papel importante na depuração parasitária, com destaque para linfócitos TCD8⁺ e CD4⁺, NK e NKT.

De maneira geral a infecção com *T. cruzi*, envolve diferentes tipos de células, citocinas e culmina na ativação simultânea de mecanismos de defesa do sistema imune inato e adaptativo (43). No início da infecção, células NK são responsáveis por produzirem IFN- γ , induzindo a síntese de óxido nítrico (NO) por macrófagos (44). O IFN- γ também estimula os macrófagos a produzirem TNF- α que, por dinâmica autócrina, intensifica a produção de NO. Além disso, os macrófagos secretam IL-12, que, por sua vez, ativa células NK (45, 46). Em contrapartida, como um mecanismo de controle da resposta imune, citocinas reguladoras, como a IL-10 e o TGF- β são liberadas e inibem os efeitos do IFN- γ (47, 48). Os mecanismos imunes em equilíbrio frente a infecção com *T. cruzi* são determinantes para a evolução e patogênese da doença.

Assim, podemos observar o perfil de resposta semelhante na defesa hepática frente a infecção com *T. cruzi*. Foi observado que camundongos IFN- γ KO infectados apresentaram um aumento drástico nos ninhos de amastigotas acompanhado de um intenso infiltrado inflamatório. As células NK no fígado são uma fonte primária essencial de IFN- γ , assim, um pico de produção hepática proveniente desta célula foi visto no 7^o dia p.i. Posteriormente as células TCD4⁺, TCD8⁺ e TCD4⁻ TCD8⁻ TCR $\gamma\delta$ ⁺ foram relevantes para manter os níveis dessa citocina na fase aguda (26) e fase crônica da infecção (49).

Camundongos deficientes de células NKT, são suscetíveis a aumento de parasitemia. Na fase crônica, essa célula, parece estar associada com o aumento da resposta de anticorpos. Tendo em vista, que esses mesmos camundongos produziram menos IgG e IgG2a (50). As respostas das células

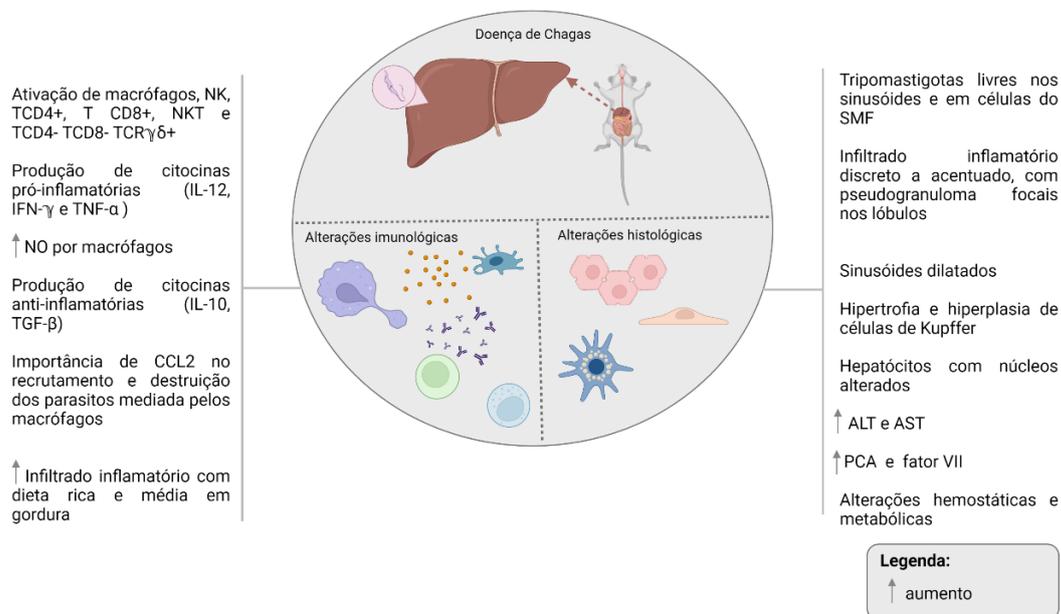
NKT podem ser estimuladas por IL-12, assim, a infecção com a cepa Tulahuen em camundongos IL-12p40^{-/-} também foi observado um aumento no parasitismo tissular no fígado (51).

O fígado é um órgão com características imunológicas de tolerância, assim, em condições de homeostase, diferentes células do órgão expressam níveis mais elevados de IL-10, TGF- β , prostaglandina E2 (PGE2) e vários receptores inibitórios (52). No cenário de infecção com *T. cruzi*, a ausência de IL-10 induziu uma maior resposta inflamatória no fígado com menores números de amastigotas neste órgão. Desta maneira, níveis sistêmicos de IFN- γ , IL-12, TNF- α também foram elevados, porém se correlacionaram com a mortalidade desses animais devido ao choque ocasionado pela resposta pró-inflamatória acentuada (53). Em contrapartida, a inibição de TNF- α foi capaz de diminuir a morte celular e a resposta imune no fígado (54).

A CCL2 é uma importante quimiocina para recrutamento de monócitos (55) durante a infecção chagásica a CCL2, também participa do recrutamento e da destruição do parasita mediada pelos macrófagos (56). No fígado a ausência desta quimocina na fase aguda da infecção ocasionou uma diminuição de células CD69^{hi} CD4⁺ e CD69^{hi} CD8⁺, Mac-3 e Mac-1. Assim, refletindo no infiltrado inflamatório e controle de ninhos de amastigotas no fígado (57).

Os distúrbios metabólicos no fígado também são um fator relevante para a progressão da infecção do *T. cruzi* e alterações hepáticas. A dieta rica em gordura (HFD) ou média (MFD) podem influenciar na infecção aguda, induzindo níveis de parasitemia e parasitismo hepático maiores que em animais com dieta regular (4, 58). O infiltrado inflamatório também é exacerbado neste modelo, assim, a infecção aumentou os níveis de células T, linfócitos B, NK e células dendríticas já induzidos por MFD (4). Os níveis de IFN- γ e TNF- α entres os grupos infectados foram semelhantes (58; 59). A dieta rica em gordura, deste modo, contribuiu ainda mais para alterações no metabolismo lipídico, inflamação e estresse oxidativo no fígado durante a infecção aguda de *T. cruzi*.

Figura 1 – Alterações histológicas e imunes no fígado de camundongos infectados com *T. cruzi*.



O parasito *Trypanosoma cruzi* provoca diversas alterações histológicas, como a presença de tripomastigotas livres nos sinusóides e em células do sistema monofagocitário (SMF); infiltrado inflamatório discreto a acentuado, com pseudogranuloma focais nos lóbulos; sinusóides dilatados; hipertrofia e hiperplasia de células de Kupffer; alterações nucleares nos hepatócitos; aumento dos marcadores hepáticos, como aminotransferases de alanina (ALT) e de aspartato (AST); aumento de fatores de coagulação, como proteína C ativada (PCA) e fator VII e alterações hemostáticas e metabólicas. No geral, as alterações imunológicas são caracterizadas pela ativação de macrófagos, células natural killer (NK), linfócitos T (CD8+ e CD4+), células T Natural Killer (NKT), bem como as células TCD4⁻ TCD8⁻ TCR $\gamma\delta$ ⁺. Além disso, as citocinas liberadas pelas células imunológicas foram tanto pró-inflamatórias (IL-12, TNF- α e IFN- γ) quanto as anti-inflamatórias (IL-10 e TGF- β). Os macrófagos também liberam óxido nítrico (NO). Foi observado que a quimiocina CCL2 tem papel importante no recrutamento e destruição dos parasitos mediada pelos macrófagos. E ainda, que há um aumento no infiltrado inflamatório com dieta rica e média em gordura em camundongos infectados.

Fonte: Autoria própria. Criado com BioRender.com.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Embora descrita há mais de um século, ainda existem muitas lacunas a serem superadas no que se refere aos mecanismos de resposta imune e acometimento por Doença de Chagas. De caráter insidioso, a doença cursará de

modo específico tanto em modelos murinos quanto em seres humanos. Diante da perspectiva apresentada, observou-se que a hepatomegalia é um dos sinais clínicos mais bem observados na literatura. É sabido que o fígado é o principal local de síntese de componentes do sistema complemento. Desse modo, o controle da doença nesse local se dá a partir da interação entre citocinas pró-inflamatórias – as quais desempenharão papéis cruciais na eliminação do parasito em suas formas tripomastigotas, e anticorpos específicos que auxiliarão no controle da parasitemia.

As principais alterações hepáticas e imunológicas no fígado frente a infecção por *T. cruzi* estão representadas na figura 1. Como demonstrado, a infecção por *T. cruzi* é capaz de produzir respostas do tipo Th1 e Th2 e o balanço desses perfis de resposta determinará, portanto, a resistência ou a susceptibilidade ao parasito. Ainda há muito o que ser discutido. A elucidação desses mecanismos por ele utilizados, podem ser úteis em pesquisas futuras envolvendo o desenvolvimento de vacinas e adjuvantes contra *T. cruzi*. Ademais, torna-se premente atualmente, estudos voltados ao tratamento, haja visto e documentado sua alta toxicidade e possibilidades de resistência aos escassos fármacos disponibilizados.

REFERÊNCIAS

1. WHO. 2013. “Second WHO Report on Neglected Tropical Diseases ,” 3–137.
2. Gascon, Joaquim, Caryn Bern, and María Jesús Pinazo. 2010. “Chagas Disease in Spain, the United States and Other Non-Endemic Countries.” *Acta Tropica* 115 (1–2): 22–27. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2009.07.019>.
3. Martins, Káryta Suely Macedo, André Schmidt, Minna Moreira Dias Romano, José Antonio Marin-Neto, and Marcus Vinicius Simões. 2018. “Chagas Disease Cardiomyopathy.” *International Journal of Cardiovascular Sciences* 31 (2): 173–89. <https://doi.org/10.5935/2359-4802.20180011>.
4. Onofrio, Luisina I., Augusto F. Paroli, Susana Gea, Alfredo R. Arocena, Marta C. Andrada, María E. Cabalén, and Roxana C. Cano. 2015. “Trypanosoma Cruzi Infection Is a Potent Risk Factor for Non-Alcoholic Steatohepatitis Enhancing Local and Systemic Inflammation Associated with Strong Oxidative Stress and Metabolic Disorders.” *PLOS Neglected Tropical Diseases* 9 (2): e0003464. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003464>.
5. Lidani, Kárita C.F., Lorena Bavia, Altair R. Ambrosio, and Iara J. de Messias Reason. 2017. “The Complement System: A Prey of Trypanosoma Cruzi.” *Frontiers in Microbiology* 8 (APR): 1–14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00607>.
6. Stanger, Ben Z. 2015. “HHS Public Access,” 179–200. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-021113-170255>.Cellular.
7. Bogdanos, Dimitrios P., Bin Gao, and M. Eric Gershwin. 2013. “Liver Immunology.” *Comprehensive Physiology* 3 (2): 567–98. <https://doi.org/10.1002/cphy.c120011>.

8. Warren, Alessandra, David G. Le Couteur, Robin Fraser, David G. Bowen, Geoffrey W. McCaughan, and Patrick Bertolino. 2006. "T Lymphocytes Interact with Hepatocytes through Fenestrations in Murine Liver Sinusoidal Endothelial Cells." *Hepatology* 44 (5): 1182–90. <https://doi.org/10.1002/hep.21378>
9. Gao, Bin, Won Il Jeong, and Zhigang Tian. 2008. "Liver: An Organ with Predominant Innate Immunity." *Hepatology* 47 (2): 729–36. <https://doi.org/10.1002/hep.22034>.
10. Ebrahimkhani, Mohammad R., Isaac Mohar, and Ian N. Crispe. 2011. "Cross-Presentation of Antigen by Diverse Subsets of Murine Liver Cells." *Hepatology* 54 (4): 1379–87. <https://doi.org/10.1002/hep.24508>.
11. Carrera-Silva, Eugenio Antonio, Natalia Guiñazu, Andrea Pellegrini, Roxana Carolina Cano, Alfredo Arocena, Maria Pilar Aoki, and Susana Gea. 2010. "Importance of TLR2 on Hepatic Immune and Non-Immune Cells to Attenuate the Strong Inflammatory Liver Response during Trypanosoma Cruzi Acute Infection." *PLoS Neglected Tropical Diseases* 4 (11). <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000863>.
12. Suzuki, H., and Y. Sugiyama. 2000. "Transport of Drugs across the Hepatic Sinusoidal Membrane: Sinusoidal Drug Influx and Efflux in the Liver." *Seminars in Liver Disease* 20 (3): 251–63. <https://doi.org/10.1055/s-2000-8408>.
13. Vacani-Martins, Natalia, Marcelo Meuser-Batista, Carina de Lima Pereira Dos Santos, Alejandro Marcel Hasslocher-Moreno, and Andrea Henriques-Pons. 2021. "The Liver and the Hepatic Immune Response in Trypanosoma Cruzi Infection, a Historical and Updated View." *Pathogens* 10 (9). <https://doi.org/10.3390/pathogens10091074>.
14. Elvevold, Kjetil, Bard Smedsrød, and Inigo Martinez. 2008. "The Liver Sinusoidal Endothelial Cell: A Cell Type of Controversial and Confusing Identity." *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology* 294 (2). <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00167.2007>.
15. Mederacke, Ingmar, Christine C. Hsu, Juliane S. Troeger, Peter Huebener, Xueru Mu, Dianne H. Dapito, Jean Philippe Pradere, and Robert F. Schwabe. 2013. "Fate Tracing Reveals Hepatic Stellate Cells as Dominant Contributors to Liver Fibrosis Independent of Its Aetiology." *Nature Communications* 4: 1–11. <https://doi.org/10.1038/ncomms3823>.
16. Giampieri, M. P., A. M. Jezequel, and F. Orlandi. 1981. "The Lipocytes in Normal Human Liver. A Quantitative Study." *Digestion* 22 (4): 165–69. <https://doi.org/10.1159/000198640>.
17. Bilzer, Manfred, Frigga Roggel, and Alexander L. Gerbes. 2006. "Role of Kupffer Cells in Host Defense and Liver Disease." *Liver International* 26 (10): 1175–86. <https://doi.org/10.1111/j.1478-3231.2006.01342.x>.
18. Kubes, Paul, and Craig Jenne. 2018. "Immune Responses in the Liver," no. December 2017: 1–31.
19. Crispe, Ian Nicholas. 2009. "The Liver as a Lymphoid Organ." *Annual Review of Immunology* 27: 147–63. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.021908.132629>.
20. Doherty, Derek G., and Cliona O'Farrelly. 2000. "Innate and Adaptive Lymphoid Cells in the Human Liver." *Immunological Reviews* 174: 5–20. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0528.2002.017416.x>.
21. Melo, R. C., and Z. Brener. 1978. "Tissue Tropism of Different Trypanosoma Cruzi Strains." *Journal of Parasitology* 64 (3): 475–82. <https://doi.org/10.2307/3279787>.
22. Diego, J. A., P. Penin, J. Del Rey, R. Mayer, and C. Gamallo. 1991. "A Comparative Pathological Study of Three Strains of Trypanosoma Cruzi in an Experimental Model." *Histology and Histopathology* 6 (2): 199–206.
23. Sanabria, Antonio. 1971. "Ultrastructure of Trypanosoma Cruzi in Mouse Liver." *Experimental Parasitology* 30 (2): 187–98. [https://doi.org/10.1016/0014-4894\(71\)90083-X](https://doi.org/10.1016/0014-4894(71)90083-X).
24. Andrade, Z. A., and E. A. Lopes. 1963. "A HISTOCHEMICAL STUDY OF EXPERIMENTAL CHAGAS' DISEASE." *Revista Do Instituto de Medicina Tropical*

- de São Paulo 19: 236–42.
25. Ragonha, Louise Helena Olhan, Ana Amélia Carraro Abrahão, Miguel Angel Sala, Ruberval A. Lopes, Rosa Domingues Ribeiro, José Clovis Do Prado, Sérgio De Albuquerque, and Sérgio Zucoloto. 2006. “Estudio Morfométrico Del Hígado de Ratón En La Enfermedad de Chagas Experimental.” *International Journal of Morphology* 24 (3): 383–90. <https://doi.org/10.4067/s0717-95022006000400015>.
 26. Sardinha, Luiz Roberto, Rosa Maria Elias, Karina R B Bastos, R F Marinho, Maria Regina D Impe, Departamento De Imunologia, and Instituto De Cie. 2006. “Contribution of NK , NK T , γ T , and α T Cells to the Gamma Interferon Response Required for Liver Protection against Trypanosoma Cruzi” 74 (4): 2031–42. <https://doi.org/10.1128/IAI.74.4.2031>.
 27. Boari, Jimena Tosello, María Carolina Amezcua Vesely, Daniela Andrea Bermejo, Maria Cecilia Ramello, Carolina Lucía Montes, Hugo Cejas, Adriana Gruppi, and Eva Virginia Acosta Rodríguez. 2012. “IL-17RA Signaling Reduces Inflammation and Mortality during Trypanosoma Cruzi Infection by Recruiting Suppressible IL-10-Producing Neutrophils.” *PLoS Pathogens* 8 (4). <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002658>.
 28. Lizardo, Kezia, Vanessa Almonte, Calvin Law, Janeesh Plakkal Aiyappan, Min Hui Cui, and Jyothi F. Nagajyothi. 2017. “Diet Regulates Liver Autophagy Differentially in Murine Acute Trypanosoma Cruzi Infection.” *Parasitology Research* 116 (2): 711–23. <https://doi.org/10.1007/s00436-016-5337-2>.
 29. Bouzahzah, Boumediene, Fnu Nagajyothi, Mahalia S. Desruisseaux, Mohan Krishnamachary, Stephen M. Factor, Alex W. Cohen, Michael P. Lisanti, et al. 2006. “Cell Cycle Regulatory Proteins in the Liver in Murine Trypanosoma Cruzi Infection.” *Cell Cycle* 5 (20): 2396–2400. <https://doi.org/10.4161/cc.5.20.3380>.
 30. Novaes, Rômulo Dias, Eliziária C. Santos, Marli C. Cupertino, Daniel S.S. Bastos, Jerusa M. Oliveira, Thaís V. Carvalho, Mariana M. Neves, Leandro L. Oliveira, and André Talvani. 2015. “Trypanosoma Cruzi Infection and Benzimidazole Therapy Independently Stimulate Oxidative Status and Structural Pathological Remodeling of the Liver Tissue in Mice.” *Parasitology Research* 114 (8): 2873–81. <https://doi.org/10.1007/s00436-015-4488-x>.
 31. Duthie, Malcolm S., and Stuart J. Kahn. 2005. “NK Cell Activation and Protection Occur Independently of Natural Killer T Cells during Trypanosoma Cruzi Infection.” *International Immunology* 17 (5): 607–13. <https://doi.org/10.1093/intimm/dxh239>.
 32. Carrera-Silva, Eugenio Antonio, Cano Roxana Carolina, Guiñazu Natalia, Aoki Maria Pilar, Pellegrini Andrea, and Susana Gea. 2008. “TLR2, TLR4 and TLR9 Are Differentially Modulated in Liver Lethally Injured from BALB/c and C57BL/6 Mice during Trypanosoma Cruzi Acute Infection.” *Molecular Immunology* 45 (13): 3580–88. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2008.05.004>.
 33. dos Santos, Valéria Regina Cavalcante Dos, Dina Antunes, Dilma Do Socorro Moraes de Souza, Otacilio Cruz Moreira, Igor Campos de Almeida Lima, Désio A. Farias-De-oliveira, João Pedro Lobo, et al. 2020. “Human Acute Chagas Disease: Changes in Factor Vii, Activated Protein C and Hepatic Enzymes from Patients of Oral Outbreaks in Pará State (Brazilian Amazon).” *Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz* 115. <https://doi.org/10.1590/0074-02760190364>.
 34. Herrera, Ramón N., Elba I. Díaz De Amaya, Rossana C. Pérez Aguilar, Claudio Joo Turoni, Rodrigo Marañón, Sofía G. Berman, Héctor L. Luciardi, Alfredo Coviello, and María Peral De Bruno. 2011. “Inflammatory and Prothrombotic Activation with Conserved Endothelial Function in Patients with Chronic, Asymptomatic Chagas Disease.” *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis* 17 (5): 502–7. <https://doi.org/10.1177/1076029610375814>.
 35. Herrera, Ramón N., Elba Díaz, Rossana Pérez, Sergio Chaín, Roque Sant-Yacumo, Eduardo Rodríguez, Jorge Bianchi, et al. 2003. “Estado Protrombótico En Estadios Tempranos de La Enfermedad de Chagas Crónica.” *Revista Española de Cardiología* 56 (4): 377–82. [https://doi.org/10.1016/s0300-8932\(03\)76881-x](https://doi.org/10.1016/s0300-8932(03)76881-x).

36. Pinazo, Maria Jesus, Elizabeth de Jesus Posada, Luis Izquierdo, Dolors Tassies, Alexandre Ferreira Marques, Elisa de Lazzari, Edelweiss Aldasoro, et al. 2016. "Altered Hypercoagulability Factors in Patients with Chronic Chagas Disease: Potential Biomarkers of Therapeutic Response." *PLoS Neglected Tropical Diseases* 10 (1). <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004269>.
37. Antunes, Dina, Alessandro Marins-Dos-Santos, Mariana Tavares Ramos, Barbara Angelica S. Mascarenhas, Carlos José De Carvalho Moreira, Désio Aurélio Farias-De-Oliveira, Wilson Savino, Robson Q. Monteiro, and Juliana De Meis. 2019. "Oral Route Driven Acute Trypanosoma Cruzi Infection Unravels an IL-6 Dependent Hemostatic Derangement." *Frontiers in Immunology* 10 (MAY): 1073. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01073>.
38. AKINOSOGLOU, Karolina S.; SOLOMOU, Elena E.; GOGOS, Charalambos A.. Malaria: a haematological disease. *Hematology*, [S.L.], v. 17, n. 2, p. 106-114, mar. 2012. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1179/102453312x13221316477336>.
39. Nagajyothi, Fnu, Regina Kuliawat, Christine M. Kusminski, Fabiana S. Machado, Mahalia S. Desruisseaux, Dazhi Zhao, Gary J. Schwartz, et al. 2013. "Alterations in Glucose Homeostasis in a Murine Model of Chagas Disease." *American Journal of Pathology* 182 (3): 886–94. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2012.11.027>.
40. Scarim, Cauê B., Cleverton R. de Andrade, João A. da Rosa, Jean L. dos Santos, and Chung M. Chin. 2018. "Hydroxymethylnitrofurazone Treatment in Indeterminate Form of Chronic Chagas Disease: Reduced Intensity of Tissue Parasitism and Inflammation—A Histopathological Study." *International Journal of Experimental Pathology* 99 (5): 236–48. <https://doi.org/10.1111/iep.12289>.
41. Cencig, Sabrina, Nicolas Coltel, Carine Truyens, and Yves Carlier. 2011. "Parasitic Loads in Tissues of Mice Infected with Trypanosoma Cruzi and Treated with Ambisome." *PLoS Neglected Tropical Diseases* 5 (6). <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001216>.
42. Mateus, Jose, Paula Guerrero, Paola Lasso, Claudia Cuervo, John Mario González, Concepción J. Puerta, and Adriana Cuéllar. 2019. "An Animal Model of Acute and Chronic Chagas Disease with the Reticulotropic Y Strain of Trypanosoma Cruzi That Depicts the Multifunctionality and Dysfunctionality of T Cells." *Frontiers in Immunology* 10 (APR). <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00918>.
43. Gutierrez, F. R.S., P. M.M. Guedes, R. T. Gazzinelli, and J. S. Silva. 2009. "The Role of Parasite Persistence in Pathogenesis of Chagas Heart Disease." *Parasite Immunology* 31 (11): 673–85. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3024.2009.01108.x>.
44. Cardillo, Fabíola, Julio C. Voltarelli, Steven G. Reed, and João S. Silva. 1996. "Regulation of Trypanosoma Cruzi Infection in Mice by Gamma Interferon and Interleukin 10: Role of NK Cells." *Infection and Immunity* 64 (1): 128–34.
45. Camargo, M. M., A. C. Andrade, I. C. Almeida, L. R. Travassos, and R. T. Gazzinelli. 1997. "Glycoconjugates Isolated from Trypanosoma Cruzi but Not from Leishmania Species Membranes Trigger Nitric Oxide Synthesis as Well as Microbicidal Activity in IFN-Gamma-Primed Macrophages." *American Associations of Immunologists*, no. December 2015: 6131–39.
46. Basso, Beatriz. 2013. "Modulation of Immune Response in Experimental Chagas Disease." *World Journal of Experimental Medicine* 3 (1): 1. <https://doi.org/10.5493/wjem.v3.i1.1>.
47. Silva, Joao S, Daniel R Twardzik, and Steven G Reed. 1991. "Regulation of Trypanosoma Cruzi Infections in Vitro and in Vivo by Transforming Growth Factor Beta (TGF-Beta)." *The Journal of Experimental Medicine* 174 (3): 539–45. <https://doi.org/10.1084/jem.174.3.539>.
48. Silva, Joao S. 1994. "Interleukin 10 and Interferon Gamma Regulation of Experimental Trypanosoma Cruzi Infection." *Journal of Experimental Medicine* 175 (1): 169–74. <https://doi.org/10.1084/jem.175.1.169>.
49. Sardinha, Rosa Maria Elias, Farias Marinho, Carlos Penha-gonc, A Maria, and Regina D Impe. 2010. "The Liver Plays a Major Role in Clearance and Destruction

- of Blood Trypomastigotes in Trypanosoma Cruzi Chronically Infected Mice” 4 (1). <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000578>.
50. Duthie, Malcolm S, Monika Wlekinski-lee, Sherilyn Smith, Toshinori Nakayama, Masaru Taniguchi, and Stuart J Kahn. 2002. “During Trypanosoma Cruzi Infection CD1d-Restricted NK T Cells Limit Parasitemia and Augment the Antibody Response to a Glycophosphoinositol-Modified Surface Protein” 70 (1): 36–48. <https://doi.org/10.1128/IAI.70.1.36>.
 51. Graefe, Sebastian E.B., Thomas Jacobs, Iris Gaworski, Ulricke Klauenberg, Christiane Steeg, and Bernhard Fleischer. 2003. “Interleukin-12 but Not Interleukin-18 Is Required for Immunity to Trypanosoma Cruzi in Mice.” *Microbes and Infection* 5 (10): 833–39. [https://doi.org/10.1016/S1286-4579\(03\)00176-X](https://doi.org/10.1016/S1286-4579(03)00176-X).
 52. Zheng, Meijuan, and Zhigang Tian. 2019. “Liver-Mediated Adaptive Immune Tolerance.” *Frontiers in Immunology* 10 (November). <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02525>.
 53. HOLSCHER, CHRISTOPH, Markus Mohrs, W E N Juan Dai, Gabriele Ko, Nter A Schaub, Horst Mossmann, and Bernhard Ryffel. 2000. “Tumor Necrosis Factor Alpha-Mediated Toxic Shock in Trypanosoma Cruzi -Infected Interleukin 10-Deficient Mice” 68 (7): 4075–83.
 54. Ronco, Maria T, Daniel E Francés, Paola I Ingaramo, Ariel D Quiroga, Maria L Alvarez, Gerardo B Pisani, Silvia S Revelli, and Cristina E Carnovale. 2010. “Cytokine Tumor Necrosis Factor Alpha Induced by Trypanosoma Cruzi Infection Mediates Inflammation and Cell Death in the Liver of Infected Mice.” *Cytokine* 49 (1): 64–72. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2009.09.012>.
 55. Kuziel, William A, Sharon J Morgan, Tracey C Dawson, Stephanie Griffin, Oliver Smithies, Klaus Ley, and Nobuyo Maeda. 1997. “Severe Reduction in Leukocyte Adhesion and Monocyte Extravasation in Mice Deficient in CC Chemokine Receptor 2 (Gene Targeting monocyte Chemoattractant Protein 1 Trafficking peritonitis granuloma).” *Immunology* 94 (October): 12053–58. <http://www.pnas.org/content/pnas/94/22/12053.full.pdf>.
 56. Talvani, André, Gilcinea Santana, Luciola S. Barcelos, Satoshi Ishii, Takao Shimizu, Álvaro J. Romanha, João S. Silva, Milena B.P. Soares, and Mauro M. Teixeira. 2003. “Experimental Trypanosoma Cruzi Infection in Platelet-Activating Factor Receptor-Deficient Mice.” *Microbes and Infection* 5 (9): 789–96. [https://doi.org/10.1016/S1286-4579\(03\)00146-1](https://doi.org/10.1016/S1286-4579(03)00146-1).
 57. Paiva, N, Rodrigo T Figueiredo, Karina Kroll-palhães, Andrea A Silva, Daniel Gibaldi, Alexandre S Pyrrho, Claudia F Benjamim, Joseli Lannes-vieira, and Marcelo T Bozza. 2009. “CCL2 / MCP-1 Controls Parasite Burden, Cell Infiltration , and Mononuclear Activation during Acute Trypanosoma Cruzi Infection” 86 (November): 1239–46. <https://doi.org/10.1189/jlb.0309187>
 58. Figueiredo, Vivian Paulino, Evandro Saraiva Lopes Junior, Laís Roquete Lopes, Natalia Figueirôa Simões, Arlete Rita Penitente, Eduardo Bearzoti, Paula Melo de Abreu Vieira, Richard Schulz, and André Talvani. 2018. “High Fat Diet Modulates Inflammatory Parameters in the Heart and Liver during Acute Trypanosoma Cruzi Infection.” *International Immunopharmacology* 64 (May): 192–200. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2018.08.036>.
 59. Lizardo, Kezia, Vanessa Almonte, Calvin Law, Janeesh Plakkal Aiyappan, Jyothi F Nagajyothi, and Molecular Genetics. 2018. “HHS Public Access” 116 (2): 711–23. <https://doi.org/10.1007/s00436-016-5337-2.Diet>

CAPÍTULO 9

MICROBIOTA E PARASITISMO INTESTINAL

Thais Cristina Vilela Rodrigues¹
Andrei Giacchetto Felice²
Eduarda Guimarães Sousa³
Marcela Rezende Lemes⁴
Pedro Henrique Marques⁵
Siomar de Castro Soares⁶

¹Doutoranda em Genética Celular e Molecular, participando de supervisão internacional conjunta entre a Universidade Federal de Minas Gerais e a Université Paris Saclay.

²Doutorando em Imunologia e Parasitologia Aplicadas, com ênfase em Bioinformática, do Programa de Pós-Graduação em Medicinal Tropical e Infectologia da Universidade Federal do Triângulo Mineiro

³Mestranda em Genética, com área de concentração em Genômica e Bioinformática, pelo Programa de Pós-graduação da Universidade Federal de Minas Gerais

⁴Doutoranda em Bioinformática pelo Programa Interunidades de Pós-Graduação em Bioinformática da Universidade Federal de Minas Gerais

⁵Mestrando no Programa Interunidades de Pós-Graduação em Bioinformática pela Universidade Federal de Minas Gerais

⁶Docente do Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia da Universidade Federal do Triângulo Mineiro

RESUMO

A microbiota humana é uma comunidade complexa de microrganismos que desempenha um papel fundamental na homeostase intestinal e contribui ativamente para a saúde humana. Mais de 10 gêneros de parasitas foram indicados como residentes da microbiota intestinal humana, exibindo papel na manutenção desse ecossistema. Embora os mecanismos relacionados as propriedades dos parasitas e as consequências para o hospedeiro ainda não estejam completamente elucidadas, existe a necessidade de explorar o equilíbrio entre seus efeitos benéficos ou prejudiciais, assim como as espécies envolvidas e as moléculas efetoras responsáveis por essas interações. Neste capítulo, exploramos os efeitos dos parasitas no organismo humano, com foco nas respostas imunológicas desencadeadas por esses organismos. Também discutimos as consequências para a saúde intestinal, destacando como a presença de parasitas patogênicos pode causar lesões locais e repercussões sistêmicas. Finalmente, abordamos os avanços mais recentes na compreensão da relação entre parasitas e microbiota, além de explorar as lacunas no conhecimento e as direções futuras de pesquisa.

Palavras chaves: Microbiota intestinal; Parasitos intestinais; Interações imunológicas; Saúde intestinal

1. MICROBIOTA INTESTINAL

1.1. Definição e composição da microbiota intestinal

Microbiota pode ser compreendido por uma complexa comunidade de microrganismos presentes em um local definido, dentro ou fora do corpo de humanos e animais. A depender da região onde se encontra, a mesma terá uma composição diferente (1). A microbiota compreende vários táxons da vida como bactérias, arqueias, leveduras, vírus e parasitas. Ademais, a microbiota surge ao nascimento e vai sendo modulada de acordo com o comportamento de cada indivíduo e o ambiente em que ele se encontra. A composição do corpo humano possui uma quantidade maior de bactérias, 10^{14} microrganismos, do que de células, 10^{13} , por isso a sua importância para o funcionamento e homeostase do corpo (2).

A microbiota intestinal tem em sua composição mais de 1.500 espécies de bactérias já identificadas distribuídas em diferentes filos, sendo os mais encontrados *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Fusobacteria*, *Tenericutes*, *Actinobacteria* e *Verrucomicrobia* (3). A maioria das bactérias encontradas no intestino são anaeróbias (90%), isto é, crescem em ambientes com pouca ou nenhuma disponibilidade de oxigênio, com exceção do ceco onde se pode encontrar uma quantidade mais significativa de bactérias aeróbias.

Em 2007 foi iniciado o Projeto Microbioma Humano pelo Instituto Nacional de Saúde dos EUA, que impulsionou muitos estudos acerca da diversidade microbiana e como seu impacto na saúde humana pode influenciar positivamente a saúde ou desencadear distúrbios nos indivíduos. Tais estudos visam entender o funcionamento e o comportamento desse ecossistema, no qual ocorre interações biológicas e bioquímicas entre o hospedeiro, sua resposta imunológica e a relação com parasitas intestinais (2).

A maior diversidade de microrganismos é encontrada principalmente na microbiota intestinal, que é densamente povoada por bactérias (4). A compreensão da relação entre microrganismos e o hospedeiro humano começou a ser decifrada graças ao sequenciamento de alto rendimento e estudos de

metagenômica no Projeto Metagenômica do Trato Intestinal Humano (MetaHit) em 2010 (5), quando foi possível identificar e caracterizar a composição dessa comunidade e quais seriam as mudanças nesse ambiente que determinariam doenças (6, 7).

1.2. Função da microbiota intestinal

A microbiota intestinal e sua composição é de extrema importância para a homeostase do corpo. Ela participa na regulação do metabolismo, imunomodulação, proteção contra patógenos, desenvolvimento ósseo, comunicação intestino-cérebro, entre várias outras relações simbióticas (1).

Os microrganismos são responsáveis pela metabolização de vários elementos dietéticos que não são metabolizados pelo hospedeiro como celulose, amidos resistentes, pectina, oligossacarídeos e lignina, ácidos graxos de cadeia curta (SCFAs) e componentes alimentares bioativos como ácido acético, importante como fonte de energia, efeitos antimicrobianos, regulação da glicose no sangue e efeitos anti-inflamatórios (8, 9). Além disso, a microbiota intestinal tem um papel crucial na síntese de vitaminas e produtos neuroquímicos que influenciam o sistema nervoso central e entérico (10, 11).

O papel protetor da microbiota também está relacionado ao efeito de barreira intestinal contra microrganismos patogênicos e na capacidade da produção de metabólitos advindos da fermentação anaeróbica realizada por diferentes espécies de bactérias (12). Os compostos principais são os ácidos graxos de cadeia curta (SCFAs) que além de serem uma fonte de energia, fortalecem a barreira intestinal através da produção de muco (13), possuem propriedades anti-inflamatórias e quimio preventivas que são benéficas até mesmo na supressão de tumores como descrito por Morrison e Preston em 2016 (13, 14). Produzidos a partir da fermentação de fibras alimentares, acetato, propionato e butirato, são os principais SCFAs produzidos pela microbiota, que estão ligados intensamente a crescimento, desenvolvimento ósseo e no manutenção da integridade da barreira hemato encefálica (15, 16). Os componentes da microbiota intestinal possuem mecanismos que influenciam na regulação da absorção de nutrientes da dieta como cálcio e fósforo, demonstrado por um estudo de 2016, evidenciando a maior absorção de cálcio através da

fermentação dos SCFAs pela microbiota e como essa via pode influenciar no seu desenvolvimento (17).

Apesar de estarmos no início do conhecimento sobre a interação entre microbiota intestinal e o sistema nervoso central (conhecido como *gut-brain-axis*), esta é uma relação complexa com efeitos bilaterais (18). A comunicação neural via nervos como o vago, juntamente com sinalizações moleculares com citocinas, peptídeos e hormônios, permitem a comunicação entre intestino e cérebro, onde esses sinais produzidos pela microbiota intestinal ao serem transmitidos por esse caminho, interferem no humor, apetite e até mesmo na resposta ao estresse (1) Essa relação implica em muitos mecanismos como a alteração da permeabilidade intestinal que pode refletir na passagem de metabólitos neuroativos e microrganismos para a corrente sanguínea influenciando na modulação do sistema nervoso central (SNC) (19). O sistema imunológico também tem influência nessa relação, uma vez que fatores de sinalização produzidos pela microbiota atuam na estruturação e funcionamento da micróglia. Dessa forma, estudos demonstram que alterações na microbiota podem afetar a função cerebral, implicando em distúrbios neuropsiquiátricos como depressão e ansiedade (20, 21). Outro exemplo da relação microbiota e SNC é a capacidade desses comensais intestinais em produzir ácido gama amino butírico (GABA) que é um neurotransmissor inibitório essencial no SNC e que está associado a distúrbios neuropsiquiátricos como redução da ansiedade e estresse, promoção do sono e controle do humor (22, 23).

1.3. Modulação da microbiota intestinal

A composição da microbiota intestinal difere entre os indivíduos por fatores intrínsecos como genética, idade e exposição à microrganismos após nascimento, e fatores extrínsecos como dieta, intervenções terapêuticas e estímulos ambientais (24, 25). Já se sabe que o desequilíbrio entre diferentes classes de bactérias presentes no intestino, também conhecido como disbiose, está relacionado com diversos distúrbios como doenças inflamatórias intestinais, doença de CRHON, além de outras que extrapolam os limites intestinais (26, 27). Potenciais intervenções terapêuticas baseadas nesse ecossistema são pontos de estudos para entender como elas funcionam interferindo no processo de

saúde e de doença do indivíduo e como ela pode determinar respostas fisiológicas humanas (28).

A dieta é um dos fatores extrínsecos que desempenha um papel fundamental na modulação da microbiota intestinal, podendo contribuir ou não para a saúde do hospedeiro. O desbalanço pelo aumento ou diminuição de espécies específicas, está intimamente relacionado, por exemplo, com os metabólitos produzidos no ambiente intestinal (29). Bebês, por exemplo, que são amamentados por leite materno têm uma tendência maior a desenvolverem uma microbiota rica em Actinobactérias, uma vez que esse leite materno é rico em oligossacarídeos, o que auxilia no equilíbrio imunológico. Já bebês que são alimentados com fórmula apresentam uma tendência diferente na composição microbiana como o aumento de membros dos grupos Clostridia, Estreptococos, Bacteriodes e Enterobactérias (30, 31).

Durante todo o desenvolvimento humano, a relação da alimentação e microbiota intestinal é significativamente observada, na qual dietas ricas em fibras promovem a saúde e diversidade bacteriana, enquanto dietas ricas em gorduras e açúcares podem causar desequilíbrios prejudiciais, com destaque ao aumento significativo de risco a doenças metabólicas (32). Além disso, estudos demonstraram que dietas saudáveis associadas ao exercício tendem a enriquecer a diversidade da microflora intestinal de forma benéfica para o indivíduo, ao auxiliar na produção de indicadores da saúde intestinal como os SCFAs (33, 34).

O uso de antibióticos é um elemento crucial que tem um impacto direto na constituição da microbiota intestinal. Apesar de atuar na destruição de micróbios patogênicos, os antibióticos também são capazes de inviabilizar organismos que compõem naturalmente a microbiota intestinal (35). E então, ocorre um mecanismo de exclusão competitiva entre a microbiota e o patógeno, levando a processos de disbiose (36). A depender de qual antibiótico e o tempo de administração utilizado, diferentes efeitos na composição microbiana são observados (1). O uso de probióticos é aconselhado em muitos casos de doenças inflamatórias e infecciosas, onde o uso de um antibiótico é necessário, justamente para auxiliar na restauração dessa microflora intestinal, ajudar como um coadjuvante no tratamento e amenizar os efeitos adversos (37).

1.4. Importância da microbiota intestinal para a saúde humana

A diversidade da microbiota intestinal tem uma alta relação com o estado de saúde e doença dos indivíduos. A interação microbiota-hospedeiro positiva em equilíbrio, que beneficia ambos os lados, é conhecida como simbiose, a qual é essencial para o funcionamento adequado do sistema imunológico, digestão de alimentos, síntese de vitaminas e proteção contra patógenos (38) Entender a complexidade da microbiota intestinal e quais são os componentes chave para um desequilíbrio e processos de disbiose é imprescindível para o desenvolvimento de tratamentos e estratégias que possam prevenir ou atuar como coadjuvantes em diversas doenças inflamatórias, síndrome do intestino irritável, alergias e distúrbios metabólicos (39, 40, 41).

A obesidade, apesar de ser um distúrbio multifatorial, está intimamente ligada à microbiota; por exemplo, estudos mostraram a interação da microbiota com o hospedeiro em camundongos, onde há uma alteração significativa nos seus componentes, principalmente pela redução de Bacteroidetes e aumento de Firmicutes nesse processo patológico (42, 43). De forma semelhante, foi encontrado em estudos posteriores com gêmeos uma diminuição do mesmo grupo taxonômico e aumento de Actinobacterium (44). Essas alterações na microbiota intestinal resultaram em um aumento da capacidade de captação de energia dos alimentos e produção de um estado inflamatório. Entretanto, devido principalmente as dificuldades analíticas, ainda existem muitas controvérsias entre esse equilíbrio, não existindo ainda uma relação definitiva entre obesidade e abundância de Firmicutes e Bacteroidetes (45). A importância da interação entre a flora intestinal e o hospedeiro é evidenciada em diversos estudos e modelos de animais para diferentes doenças. Os desequilíbrios na microbiota, além da relação com obesidade, também contribuem significativamente para processos inflamatórios e síndromes metabólicas (38).

Outro aspecto que evidencia a importância da microbiota intestinal é sua relação com doenças autoimunes, como Diabetes Tipo 1. Foi demonstrada uma alteração da diversidade microbiana em indivíduos que não são autoimunes em relação aos que possuem a doença. Giongo A. e colaboradores mostraram que há uma composição diferente na microbiota de crianças com alto risco genético para diabetes e esse fator leva as crianças a exibirem uma diminuição da

diversidade bacteriana ao longo do tempo. Isso também foi demonstrado em doenças como esclerose múltipla e artrite reumatóide (46).

Exploraremos a complexa interação entre a microbiota intestinal e parasitas, e como esses parasitas podem influenciar o comportamento e o equilíbrio desse ambiente vital. Serão discutidos não apenas os ciclos de vida desses parasitas intestinais, mas também o impacto que exercem sobre a microbiota intestinal e as respostas imunológicas desencadeadas pelo organismo hospedeiro. Desta forma, buscaremos compreender a dinâmica da relação entre a microbiota e os parasitas, trazendo os fatores que propiciam o desequilíbrio nesse sistema e aqueles que, de maneira benéfica, podem restaurar o equilíbrio em situações de disbiose (47).

2. PARASITISMO INTESTINAL

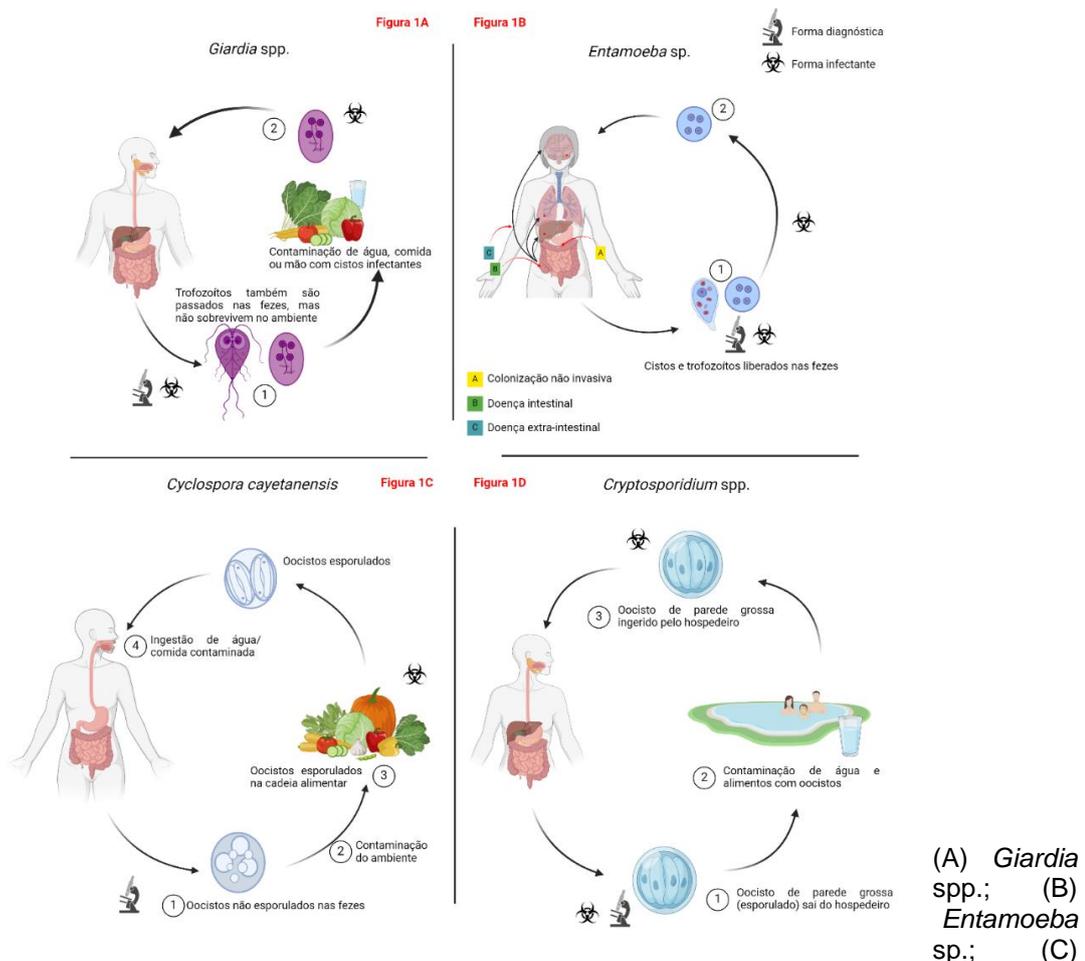
O parasitismo é definido como a “associação entre seres vivos, em que existe unilateralidade de benefícios, sendo um dos associados prejudicado pela associação”. Essa associação, quando ocorre por meio do intestino, é chamada de parasitismo intestinal, sendo um dos maiores problemas de saúde pública no mundo (48). Alguns pesquisadores, entretanto, defendem que é comum ocorrer a colonização intestinal por parasitos juntamente com as bactérias, fungos e vírus (49, 50, 51), influenciando funções do organismo como um todo, sendo essa interação conhecida como “superorganismo” (52). Estudos indicam que a presença de parasitos intestinais pode ser benéfica para a microbiota (53, 54), entretanto ainda existe a necessidade de maior aprofundamento nessas questões para que sejam confirmadas.

Os parasitos intestinais podem ser divididos em dois grandes grupos: protozoários, os quais são organismos unicelulares e os helmintos, que são vermes multicelulares. Os primeiros têm como seus principais exemplos *Giardia intestinalis*, *Entamoeba histolytica*, *Cyclospora cayetanensis*, e *Cryptosporidium spp.* (55). Já os helmintos mais comuns são os Helmintos Transmitidos pelo Solo (HTS), *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, *Necator americanus* e *Ancylostoma duodenale*. Cerca de 1,5 bilhão de pessoas estão infectadas por HTS, o que corresponde a 24% da população mundial (56). Ainda

nos helmintos, existem a *Taenia spp.*, e o *Schistosoma spp.*, os quais possuem mais de um hospedeiro, ou seja, apresentam um ciclo heteroxênico.

Os protozoários, em sua maioria, são transmitidos por meio de água contaminada, que podem vir de fezes humanas ou até mesmo de animais. Na **Figura 1** podem ser observados os ciclos de cada um dos protozoários citados. A contaminação entre humanos também pode ocorrer, sendo comum em crianças que usam fraldas, principalmente em creches ou por água de piscinas. Esses parasitos não necessitam da passagem em outros hospedeiros para serem infectantes aos humanos, o que dificulta ainda mais sua eliminação. Locais em que há problemas com saneamento básico são os que possuem maior quantidade de pessoas infectadas, ou seja, países subdesenvolvidos e em desenvolvimento (55).

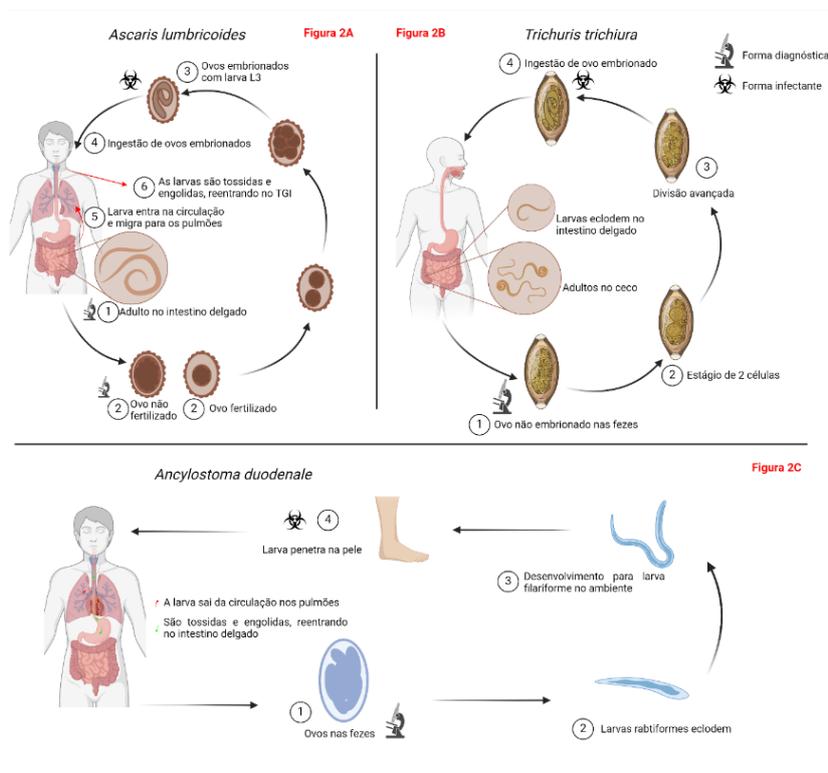
Figura 1 - Ciclo de vida dos protozoários



Fonte: Autoria própria, figura criada em Biorender.com

Como o próprio nome diz, os HTS são adquiridos pelo solo, podendo ser por meio de alimentos contaminados, mãos não higienizadas, ou até mesmo ao andar descalço, que é o caso de *Necator americanus* e *Ancylostoma duodenale*. O ciclo de vida desses HTS pode ser observado na **Figura 2**. As *Taenias spp.* e os *Schistosomas spp.* também são helmintos, entretanto eles são transmitidos após passarem por outros animais. As tênias causam teníase a partir do consumo de carne de vaca (*Taenia saginata*) e de porco (*Taenia solium*) que estejam malcozidas, os quais, por sua vez, são infectados por meio de alimentos contaminados por ovos ou as chamadas proglotes (**Figura 3B**) (57, 58). Esses contaminantes são provenientes de fezes de humanos infectados, nos levando outra vez para o problema de ausência de saneamento básico, o qual também é a origem do ciclo de vida dos *Schistosomas spp.* Esse último possui como seu hospedeiro intermediário caramujos que vivem próximos de fontes de água doce (**Figura 3A**) (59).

Figura 2 - Ciclo de vida dos Helmintos Transmitidos pelo Solo (HTS)



(A) *Ascaris lumbricoides*; (B) *Trichuris trichiura*; (C) *Ancylostoma duodenale*.

Fonte: Autoria própria, figura criada em Biorender.com

2.1. Impacto dos parasitas intestinais na microbiota

Os parasitos e a microbiota intestinal coevoluíram, tendo influências e relações complexas entre os outros componentes da mucosa intestinal, (60). Ainda não é claro os fatores e mecanismos pelos quais os parasitos atuam de forma comensal ou prejudicial no intestino, mas já é sabido que certos parasitas possuem capacidade imunomoduladora benéficas, e essa relação se intensifica ainda mais com estudos indicando a capacidade das bactérias em interferir na patogenicidade dos parasitos (55).

Li, R. e colaboradores, por exemplo, observaram diferenças de abundância entre 30 táxons de bactérias no intestino de bodes infectados com helmintos em comparação com controles saudáveis. Foi observada uma redução nas bactérias produtoras de butirato, as quais possuem capacidade de reparo tecidual da mucosa intestinal e inflamação (61).

Em porcos, a presença de *Trichuris suis*, gerou uma mudança de 26% das vias metabólicas da microbiota do cólon proximal desses animais (62). Além dessas alterações, Wu e colaboradores (63) observaram um aumento de três vezes na abundância relativa da bactéria *Campylobacter* no cólon de porcos infectados com esse mesmo helminto. Ainda em porcos, a presença de *Ascaris suum* gerou uma redução na diversidade da microbiota sem correlação com o nível de infecção, com cerca de 58 vias metabólicas, incluindo o metabolismo de carboidratos (64).

Uma via recentemente descoberta para a patogenicidade de *Giardia* é a perturbação de biofilmes na mucosa intestinal (65), estratégia parecida com a de *E. histolytica*, que consegue mudar o biofilme da microbiota para um padrão patogênico a partir da fagocitose de bactérias ditas saudáveis, como *Lactobacillus* (66). McGregor e colaboradores (67), após uma análise metagenômica de fezes de humanos infectados por *Giardia duodenalis*, chegaram à conclusão de que, por meio da competição por colonização ou mesmo pela produção de metabólitos da microbiota, ocorre a modulação da susceptibilidade do hospedeiro e aumento da virulência do parasito na giardiase, quando utilizado desta mesma via.

Existem evidências sobre a capacidade de parasitas colonizarem o intestino humano durante longos períodos, como por exemplo a presença de parasitas unicelulares como Blastocistos e Dientamoeba, têm demonstrado estarem mais relacionados com efeitos positivos ao hospedeiro (68, 69). Corroborado por níveis mais altos desses organismos identificados em indivíduos saudáveis e o contrário para pacientes com doença inflamatória intestinal (70). Além disso, o perfil da microbiota bacteriana em pacientes com *G. duodenalis* apresentou padrão associado a disbiose, enquanto os indivíduos em que foram detectados Blastocistos e *Entamoeba*, a abundância de *Faecalibacterium prausnitzii*, indicador de saúde, foi superior (71).

As mudanças no microbioma intestinal causadas pelos parasitos ou aquelas que facilitam sua colonização são cruciais para entender tanto a saúde quanto as doenças. Embora ainda não tenhamos uma compreensão completa sobre a natureza dessas alterações, é inegável que a interação entre os parasitos e o microbioma intestinal desempenha um papel essencial nos estados de saúde e doença dos hospedeiros que precisa ser melhor estudado.

3. RESPOSTA DO SISTEMA IMUNOLÓGICO HUMANO A PARASITAS INTESTINAIS

A interação entre a microbiota intestinal e os parasitas intestinais é um campo de pesquisa em constante evolução, com estudos recentes fornecendo *insights* significativos sobre a resposta do sistema imunológico, a inflamação e os danos associados ao parasitismo intestinal. Os parasitas intestinais, como já citados, podem ser dos diversos tipos como protozoárias unicelulares, exemplo de helmintos, e artrópodes como *Enterobius vermiculares*, e afetam milhões de pessoas ao redor do mundo, inclusive toda a comunidade complexa de microrganismos que residem no trato gastrointestinal humano. Além de todas as funções acima citadas sobre papel vital na digestão, absorção de nutrientes, a microbiota intestinal possui forte influência na função do sistema imunológico e na proteção contra infecções (72, 73).

A microbiota intestinal pode influenciar na suscetibilidade e na progressão de infecções parasitárias intestinais de várias maneiras. Primeiramente, a microbiota intestinal desempenha um papel na modulação da resposta

imunológica. Ela produz moléculas que podem estimular ou suprimir a resposta imunológica, influenciando assim a eficácia da defesa do hospedeiro contra os parasitas. A composição da microbiota intestinal pode ser um fator determinante na resposta imunológica a parasitas intestinais, levando à diferença entre uma resposta eficaz e ineficaz. Em segundo lugar, a microbiota intestinal contribui para a proteção do intestino contra a invasão de parasitas ao formar uma barreira física que pode impedir a entrada de parasitas no intestino. Além disso, produz moléculas antimicrobianas e metabólitos que podem matar ou inibir o crescimento de parasitas, desempenhando assim um papel direto na resistência às infecções parasitárias (74, 75, 76).

A resposta do sistema imunológico humano a parasitas intestinais envolve mecanismos de defesa inatos e adaptativos. No nível inato, a fagocitose desempenha um papel fundamental. Células do sistema imunológico, como neutrófilos e macrófagos, podem fagocitar e matar parasitas invasores. Além disso, o sistema complemento, composto por uma série de proteínas, desempenha um papel na destruição de parasitas. Já a nível adaptativo, os linfócitos T e B têm um papel central na resposta imunológica. Os linfócitos T podem reconhecer e matar células infectadas por parasitas, enquanto os linfócitos B produzem anticorpos que se ligam aos parasitas, neutralizando-os (77).

Linfócitos T, particularmente os linfócitos T helper 1 (Th1), desempenham um papel essencial na resposta imune adaptativa contra bactérias intracelulares, protozoários e vírus, através da estimulação da produção de IFN- γ . Eles reconhecem células infectadas pelos parasitas e as destroem. Por outro lado, os linfócitos T helper 2 (Th2) são eficazes contra bactérias extracelulares e helmintos, estimulando a produção de interleucinas como IL-4 e IL-10. Ambas as respostas são consideradas como antagônicas, sendo que a estimulação da produção de uma citocina por um tipo de resposta, diminui a ação do outro tipo, e isso mantém a homeostasia e uma resposta mais balanceada. Além desses dois tipos principais, existe o Th17 que pode ser muito útil quando os padrões anteriores não obtiveram sucesso no combate e precisam de mais neutrófilos ou outras citocinas como apoio (77).

Exemplificando esses mecanismos, estudos recentes têm demonstrado a complexidade das interações entre a microbiota intestinal, o sistema imunológico

e os parasitas intestinais. Por exemplo, um estudo publicado em 2022 (78) mostrou que camundongos com microbiota intestinal alterada apresentavam uma resposta Th2 mais pronunciada à infecção por *Trichuris muris*. Essa resposta Th2 mais pronunciada foi associada a uma maior inflamação e a danos intestinais mais graves. Os resultados sugerem que a composição da microbiota pode modular a resposta Th2, afetando assim a gravidade da infecção. Outro estudo, publicado em 2019 (79), revelou que a microbiota intestinal pode proteger contra a infecção por *Schistosoma mansoni*, um helminto que causa esquistossomose. Essa proteção foi mediada por uma resposta Th17 mais pronunciada, que também é eficaz contra parasitas intracelulares.

3.1. Inflamações e danos relacionados ao parasitismo intestinal

A interação entre parasitas intestinais e o sistema imunológico humano desempenha um papel crucial na saúde do intestino e na microbiota intestinal. Além disso, têm revelado a complexidade dessas interações e os possíveis efeitos no equilíbrio microbiano e na inflamação intestinal.

Parasitas intestinais, como protozoários e helmintos, desencadeiam respostas inflamatórias no intestino humano justamente por serem reconhecidas como corpos estranhos e que devem ser eliminadas pelo organismo. Ademais, não necessariamente estão somente presentes no ambiente, mas sim secretando diversas moléculas ou estruturas, que por vezes ajudam no seu processo de locomoção, fixação e penetração. Tais estruturas normalmente afetam a homeostase da microbiota intestinal normal e também a homeostase do próprio intestino do hospedeiro, dessa maneira sendo responsáveis por danos funcionais, metabólicos e até mecânicos (80).

Os fatores de virulência são estruturas ou moléculas que contribuem para a colonização de um determinado ambiente, e possuem esses papéis primordiais em manter a ligação/invasão do patógeno, entrar ou sair de células, tecidos ou fluidos e até mesmo responsáveis pela evasão imunológica (81). Devido a isso, esse processo de ligação e invasão do patógeno no intestino, por exemplo, pode gerar perfurações, obstruções e até mesmo, desencadear a inflamação decorrente do processo de resposta imune, e então, causar lesões intestinais. Conseqüentemente, essas lesões levam a problemas de saúde mais

graves, incluindo doença inflamatória intestinal (DII), doenças cardiovasculares, doenças autoimunes, deficiências nutricionais, perda de peso, e em casos mais graves, a morte (82, 83, 84).

4. PESQUISAS E AVANÇOS RECENTES

A relação entre a microbiota e os parasitos se caracteriza por uma interação de influências recíprocas. A presença de parasitos pode modular a composição e a atividade metabólica das bactérias intestinais, ao mesmo tempo que as mudanças na microbiota podem afetar a sobrevivência e o comportamento do parasito. Considerando essas interações no contexto das infecções parasitárias, torna-se evidente que o impacto mútuo entre esses microrganismos e parasitos é um fator crucial na determinação da virulência e das manifestações clínicas das doenças parasitárias (85). Tal interação não apenas influencia a resposta imunológica do hospedeiro, mas também pode servir como um indicador diagnóstico fundamental para a compreensão de uma ampla gama de condições parasitárias (86).

A microbiota pode auxiliar no combate a infecções de mucosa, sanguíneas e em outros tecidos. Os poucos conhecidos e mais importantes mecanismos associados a isso são a regulação de vias de sinalização, estimulação da imunidade inata ou adaptativa e produção de metabólitos derivados da microbiota (87). Para além da resposta imunológica, a produção de metabólitos oriundos da microbiota emerge como um elemento essencial na modulação de aspectos-chave da fisiologia do hospedeiro, delineando, assim, uma rede intrincada de sinais bioquímicos cruciais para o desfecho e a expressão clínica das infecções parasitárias (88).

O gênero *Faecalibacterium* por exemplo, possui espécies que produzem butirato, um Ácido Graxo de Cadeia Curta (AGCC) que é uma das principais fontes energéticas das células epiteliais do colon (89). Esse metabólito é conhecido por gerar importantes respostas anti-inflamatórias, aumentar a produção de muco e podem ser empregados para diminuir a carga helmíntica, como já foi demonstrado para a triquinelose, doença causada pelo nematódeo *Trichinella spiralis* (90).

De fato, um conjunto substancial de pesquisas recentes corrobora a relevância dos Ácidos Graxos de Cadeia Curta produzidos exclusivamente pela microbiota, tanto a favor do hospedeiro, como associados ao ciclo de vida dos parasitos. Esses metabólitos são produzidos a partir do catabolismo de carboidratos provenientes da alimentação do hospedeiro e são convertidos em AGCC por espécies como *Faecalibacterium prausnitzii* (91) e *Roseburia intestinalis* (89). Os três principais metabólitos produzidos pela microbiota (butirato, propionato e acetato) podem modular as funções das células hospedeiras, controlando a transcrição gênica através de receptores acoplados à proteína G (isto é, receptores sensíveis aos metabólitos), além de estarem associados à promoção da resposta imunológica. Esses metabólitos podem ainda serem usados pelo patógeno para regular seu ciclo de vida (92, 93). Portanto é essencial ter uma visão completa sobre os mecanismos e benefícios desses metabólitos. A *Entamoeba histolytica*, por exemplo, possui a capacidade de fagocitar bactérias componentes da microbiota, consumindo concomitantemente os AGCC que possuem efeito direto em seu ciclo de vida. Por meio de alterações epigenéticas como a inibição de histona desacetilases (HDAC) e assim relaxamento da cromatina, esses metabólitos podem promover o encistamento do patógeno. Isto é, através da regulação das HDAC, o parasita pode modular sua entrada no estágio de encistamento ao fagocitar a microbiota produtora de AGCC (94). Contudo, a utilização de Ácidos Graxos de Cadeia Curta para manipulação epigenética de parasitos intestinais está apenas surgindo, com poucos estudos associados, e os verdadeiros efeitos positivos e negativos para cada metabólito precisam ainda serem elucidados.

É necessário ter cautela ao associar microbiota e parasitos sempre como antagonistas e que apenas efeitos deletérios existem para o segundo. Um exemplo que ilustra isso é a produção de folato pela microbiota (95). O folato é essencial para a formação de SAM (S-Adenosil Metionina), um cofator de atividades enzimáticas de metiltransferases no hospedeiro (96). Contudo, *E. histolytica* depende de folato para crescer em determinadas condições, sugerindo que há a possibilidade de o patógeno depender do folato produzido pela microbiota para seu desenvolvimento (97). Estudos recentes demonstraram que há diversos tipos de metabólitos que podem atuar contra parasitos e protozoários patogênicos. Além dos AGCC, sais biliares e indóis de *Bacteroides*

thetaitaomicron demonstraram prejudicar o crescimento de *Cryptosporidium parvum* por exemplo (98).

Na doença de chagas (DC), já está elucidado que a microbiota tem papel biomarcador e portanto, prognóstica sobre a doença. Sabe-se que a infecção pelo *Trypanosoma cruzi* é seguida por alterações no microbioma e no metaboloma intestinal, o que pode ser importante para a persistência do parasita no hospedeiro e, assim, a microbiota poderia explicar diferentes consequências clínicas da doença (99). Um dos principais fatores, seria a microbiota estimular neurônios entéricos e afetar a motilidade intestinal negativamente durante a infecção (100, 101). Um dos principais achados durante a DC, é a presença de *Parabacteroides* spp, que pode exercer um papel significativo na regulação da resposta imunológica e na modificação da função da barreira intestinal em pacientes diagnosticados com doença de Chagas (100). Além disso, este gênero também é responsável por produzir acetato e propionato (102). Uma perspectiva futura seria investigar a correlação entre a abundância de espécies deste gênero na microbiota de pacientes com DC, e avaliar a alteração na produção de AGCC e o quanto isso contribui para a patogênese da doença (103).

Além do intestino, outras regiões afetadas por parasitos podem ser altamente influenciadas pelos componentes da microbiota. Existem alguns patógenos que possuem a capacidade de promover processos neuroinflamatórios crônicos, como a neurotoxoplasmose e a malária cerebral, causadas pelo *Toxoplasma gondii* (104) e *Plasmodium falciparum* (105), por exemplo. Neste contexto, a disbiose de microrganismos no intestino pode promover o desenvolvimento de muitas doenças, incluindo as neurológicas (106, 107). Alguns desses problemas neurológicos em que o desbalanço da microbiota está associada são o autismo (108), a esquizofrenia, transtornos de humor e ansiedade (109), e doenças neurodegenerativas como Parkinson e Alzheimer (110, 111, 112).

Um conceito emergente é que a microbiota poderia estar associada com infecções e inflamações no sistema nervoso central causadas por parasitos, via eixo intestino-cérebro (113, 114). E apesar dos poucos estudos acerca disso, a disbiose poderia ser um fator que agravaria as infecções parasitárias no sistema nervoso. Outra possível visão é que a disbiose provocada por parasitos

intestinais poderia provocar um processo neuroinflamatório, promovendo a piora de doenças neurodegenerativas (115) como Alzheimer e Parkinson por exemplo.

Uma das possíveis estratégias terapêuticas seria modular a microbiota para prevenir neuro-inflamações causadas por parasitos. Por exemplo, diversas moléculas de sinalização, originárias da microbiota gastrointestinal, facilitam a comunicação com o sistema neuroimune e após isso citocinas podem ser produzidas no hospedeiro em resposta (116). Na realidade, parte dos metabólitos sinalizadores atuam sobre células gliais desempenhando um papel na modulação dos processos inflamatórios. De forma similar, os AGCCs desempenham um papel fundamental na interligação entre o intestino e o cérebro, por meio de diversos mecanismos, incluindo modificações epigenéticas (117). O acetato é capaz de transpor a barreira hematoencefálica por exemplo, enquanto o butirato demonstra potencial na restauração da integridade da barreira. Além disso, os AGCC mostram-se capazes de reverter fenótipos microgliais disfuncionais.

Neste contexto, o uso de nutrientes que favoreçam o crescimento de determinadas espécies bacterianas (prebióticos), a introdução ou aumento de outras espécies benéficas (probióticos), e o transplante fecal, seriam abordagens para reduzir os níveis de inflamação no sistema nervoso causado por infecções parasitárias (118). Ainda não há nenhum estudo que comprove na literatura, mas já é considerada a possibilidade de existir uma microbiota cerebral que estaria associada à inflamação autoimune no sistema nervoso central (119). Caso mais estudos confirmem a existência de uma microbiota cerebral, entender quais seriam suas associações com parasitos que afetam este sistema, seria fundamental.

Estudos recentes indicam uma possível ligação entre a microbiota e os parasitas e distúrbios neurológicos, incluindo a instalação e persistência da depressão. Isso sugere que a interação entre esses elementos pode estar exercendo um impacto direto nesse conjunto de condições (120). Na realidade, essa interação representa uma intrincada teia de comunicação entre macro e microrganismos, estabelecendo relações de causa e efeito, que em última instância impactam o hospedeiro. Resumidamente, o ciclo se baseia na capacidade do parasito infectante de induzir disbiose e deficiências nutricionais no hospedeiro (121). Simultaneamente, a microbiota desempenha um papel na

regulação da carga e da infecção parasitária, enquanto a persistência da infecção pode comprometer os processos cognitivos do hospedeiro, tais como memória, aprendizado e inteligência não verbal. Recentemente, evidenciou-se que as infecções por *Ascaris lumbricoides* podem ter um impacto significativo na microbiota e causar desnutrição no hospedeiro, interferindo nas redes de interação do eixo intestino-cérebro, possivelmente contribuindo para o desenvolvimento de sintomas depressivos (122).

Em resumo, há uma complexa interação entre a microbiota e parasitos, e as consequências dessas interações são refletidas nos mais diversos locais do hospedeiro, como no intestino, no sangue e no sistema nervoso central. Um conjunto de metabólitos como os AGCCs, indóis e sais biliares produzidos pela microbiota demonstram ser os principais compostos capazes de interagir diretamente ou indiretamente (via promoção da resposta imune) com os patógenos. Porém, como se sabe, grande parte das parasitoses são transmitidas por meio de vetores como mosquitos (123) e outros insetos como os triatomíneos (124). Atualmente novos esforços estão sendo voltados para identificar estratégias terapêuticas e de prevenção para os vetores, a fim de cortar o ciclo do parasito antes que ele chegue ao humano.

A microbiota de insetos vetores desempenha um papel crucial na fisiologia e no comportamento desses organismos. Essas comunidades microbianas complexas, presentes no trato digestivo e em outras partes do corpo dos insetos vetores, influenciam diretamente a competência vetorial e a transmissão de agentes patogênicos, desempenhando um papel significativo na ecologia e na epidemiologia de doenças transmitidas por vetores (125). Como parte do ciclo de vida dos parasitos pode passar pelo intestino do inseto, alguns estudos já correlacionaram diferenças na microbiota com maior ou menor capacidade de transmissão vetorial. Assim, algumas evidências indicam inclusive que as bactérias comensais dos vetores desempenham um papel significativo na promoção de um sistema imunológico saudável (126). O uso de *Wolbachia* em vetores é um exemplo de como a modulação da microbiota pode ser aplicada para reduzir a transmissão. Quando vetores machos infectados por *Wolbachia* acasalam com fêmeas, leva à incompatibilidade citoplasmática resultando na morte do embrião e na disseminação de mais insetos infectados. *W. pipientis* por exemplo, demonstrou causar incompatibilidade citoplasmática

em mosquitos *Culex* e também suprimir a infecção por *Plasmodium falciparum* em mosquitos *Anopheles* (127).

Estudos feitos no Irã demonstraram que uma microbiota enriquecida com *Bacillus subtilis*, *Enterobacter cloacae* e *Asaia* sp. poderia contribuir para reduzir a transmissão de *Leishmania* (128). Além disso, mais recentemente foi verificado que o catabolismo do triptofano na microbiota intestinal (mais especificamente por *Pseudomonas alcaligenes*) dos mosquitos anofelinos poderiam diminuir a competência do vetor em transmitir *Plasmodium berghei* (129).

Neste contexto surge a paratransgênese, uma abordagem considerada um “Cavalo de Troia”. Nesta abordagem estratégica, a comunidade de microrganismos benéficos naturalmente presentes nos organismos transmissores de doenças é identificada e submetida a modificações genéticas em ambiente controlado (*in vitro*), com o propósito de permitir a secreção de moléculas que interferem no processo de transmissão do agente patogênico (130). Os simbioses geneticamente alterados são então reintroduzidos no organismo hospedeiro, onde a expressão das moléculas modificadas afeta a habilidade do hospedeiro em transmitir o agente patogênico, ou seja, sua competência vetorial. Essa estratégia busca reduzir a disseminação de agentes patogênicos sem causar efeitos prejudiciais nos próprios organismos transmissores. Além disso, aproveita a microbiota endógena do hospedeiro como veículo para a transferência de genes (131, 132).

A ideia central de paratransgênese foi inicialmente concebida no contexto do triatomíneo *R. prolixus*, cujo simbionte, *R. rhodnii*, foi geneticamente alterado para produzir compostos com propriedades antiparasitárias no lúmen do intestino médio. Esse processo foi projetado para exercer controle sobre a transmissão do agente patogênico *T. cruzi* (133). Um outro exemplo de aplicação é a colonização de *E. coli* com capacidade de expressar RNA de fita dupla visando a proteína de ligação ao heme de *Rhoni* (RHBP) e a catalase (CAT) em triatomíneos. Esses triatomíneos com os dois genes inviáveis apresentam aumento da mortalidade e diminuição das taxas de muda e reprodução (134). Dessa forma, há a perspectiva de que em um futuro próximo, diversas abordagens baseadas na microbiota possam existir para combater o parasito diretamente, ou indiretamente através da promoção da resposta imune, como também novas estratégias como a paratransgênese podem surgir para impedir

que o ciclo dos parasitos seja completado no vetor, impedindo-os de chegar nos humanos.

5. CONCLUSÃO

É evidente que ainda pouco se conhece sobre a relação entre parasitos intestinais e a microbiota, entretanto já existem evidências suficientes de que nem sempre essa relação fornece um impacto negativo. A complexidade da microbiota vai além da interação bactéria-hospedeiro, tendo atuação ativa de diferentes classes de vírus, fungos e dos parasitos eucariotos.

Neste capítulo, foram revisadas as principais funções da microbiota intestinal, seu papel na modulação imune, metabólica, a participação nas vias de sinalização neurais e algumas desordens associadas. Também abordamos capacidade de colonização dos parasitos e as respostas imunes desencadeadas por eles no lúmen intestinal. Respostas estas que envolvem elaboradas redes de sinalização e interações que também podem variar dependendo do perfil bacteriano do intestino.

Por fim, exploramos o papel dos parasitos no intestino, novas tecnologias a respeito e os principais avanços relacionados a prevenção de transmissão, tratamento e compreensão dos mecanismos associados a interação entre esses organismos, bactérias e hospedeiro. Em suma, a ciência por trás da interação entre parasitos intestinais, microbiota e hospedeiro está revelando uma complexidade surpreendente, desafiando noções prévias e destacando a necessidade contínua de investigação. Apesar de demonstrar o quanto ainda estamos distantes de uma resposta clara sobre os sistemas biológicos internos, essa revisão também oferece perspectivas inovadoras para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas e preventivas, que se fazem necessárias com a realidade de coexistir com organismos tão diversos e complexos.

REFERÊNCIAS

1. GOMAA, E. Z. Human gut microbiota/microbiome in health and diseases: a review. *Antonie van Leeuwenhoek* 2020 113:12, v. 113, n. 12, p. 2019–2040, 2 nov. 2020a.
2. BEYHAN, Y. E.; YILDIZ, M. R. Microbiota and parasite relationship. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, v. 106, n. 4, p. 115954, 1 ago. 2023a.
3. GOMAA, E. Z. Human gut microbiota/microbiome in health and diseases: a review. *Antonie van Leeuwenhoek* 2020 113:12, v. 113, n. 12, p. 2019–2040, 2 nov. 2020b.
4. JOHNSON, K. V. A.; BURNET, P. W. J. Microbiome: Should we diversify from diversity? *Gut Microbes*, v. 7, n. 6, p. 455–458, 1 nov. 2016.
5. QIN, J. et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature* 2010 464:7285, v. 464, n. 7285, p. 59–65, 2010.
6. HAMADY, M. et al. Error-correcting barcoded primers for pyrosequencing hundreds of samples in multiplex. *Nature Methods* 2008 5:3, v. 5, n. 3, p. 235–237, 10 fev. 2008.
7. SHENDURE, J.; JI, H. Next-generation DNA sequencing. *Nature Biotechnology* 2008 26:10, v. 26, n. 10, p. 1135–1145, 9 out. 2008.
8. LIN, L.; ZHANG, J. Role of intestinal microbiota and metabolites on gut homeostasis and human diseases. *BMC Immunology* 2017 18:1, v. 18, n. 1, p. 1–25, 6 jan. 2017.
9. THURSBY, E.; JUGE, N. Introduction to the human gut microbiota. *Biochemical Journal*, v. 474, n. 11, p. 1823–1836, 1 jun. 2017.
10. FORSYTHE, P. et al. Mood and gut feelings. *Brain, Behavior, and Immunity*, v. 24, n. 1, p. 9–16, 1 jan. 2010.
11. LEBLANC, J. G. et al. Bacteria as vitamin suppliers to their host: a gut microbiota perspective. *Current Opinion in Biotechnology*, v. 24, n. 2, p. 160–168, 1 abr. 2013.
12. KARCZEWSKI, J. et al. Regulation of human epithelial tight junction proteins by *Lactobacillus plantarum* in vivo and protective effects on the epithelial barrier. *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology*, v. 298, n. 6, p. 851–859, jun. 2010.
13. BRON, P. A. et al. Can probiotics modulate human disease by impacting intestinal barrier function? *British Journal of Nutrition*, v. 117, n. 1, p. 93–107, 14 jan. 2017.
14. MORRISON, D. J.; PRESTON, T. Formation of short chain fatty acids by the gut microbiota and their impact on human metabolism. *Gut Microbes*, v. 7, n. 3, p. 189–200, 3 maio 2016.
15. BRANISTE, V. et al. The gut microbiota influences blood-brain barrier permeability in mice. *Science Translational Medicine*, v. 6, n. 263, 19 nov. 2014a.
16. SILVA, Y. P.; BERNARDI, A.; FROZZA, R. L. The Role of Short-Chain Fatty Acids From Gut Microbiota in Gut-Brain Communication. *Frontiers in Endocrinology*, v. 11, p. 508738, 31 jan. 2020.
17. YAN, J. et al. Gut microbiota induce IGF-1 and promote bone formation and growth. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 113, n. 47, p. E7554–E7563, 22 nov. 2016.
18. LIMA, K. N. et al. Microbiota Intestinal e Sistema Nervoso Central: explorando o eixo cérebro e intestino. *Revista Neurociências*, v. 30, p. 1–29, 25 abr. 2022.
19. CHEN, X. et al. Maintenance of Gastrointestinal Glucose Homeostasis by the Gut-Brain Axis. *Current Protein & Peptide Science*, v. 18, n. 6, p. 541–547, 22 abr. 2017.
20. CRISTINA, A. et al. PRINCIPAIS MECANISMOS QUE CORRELACIONAM A MICROBIOTA INTESTINAL COM A PATOGÊNESE DA DEPRESSÃO. *FAG JOURNAL OF HEALTH (FJH)*, v. 1, n. 3, p. 232–239, 20 out. 2019.

21. MORAIS, L. H.; SCHREIBER, H. L.; MAZMANIAN, S. K. The gut microbiota–brain axis in behaviour and brain disorders. *Nature Reviews Microbiology* 2020 19:4, v. 19, n. 4, p. 241–255, 22 out. 2020.
22. DURANTI, S. et al. *Bifidobacterium adolescentis* as a key member of the human gut microbiota in the production of GABA. *Scientific Reports* 2020 10:1, v. 10, n. 1, p. 1–13, 24 ago. 2020.
23. REN, W. et al. Intestinal microbiota-derived GABA mediates interleukin-17 expression during enterotoxigenic *Escherichia coli* infection. *Frontiers in Immunology*, v. 7, n. JAN, p. 225644, 16 jan. 2017.
24. NAGPAL, R. et al. Ontogenesis of the gut microbiota composition in healthy, full-term, vaginally born and breast-fed infants over the first 3 years of life: A quantitative bird’s-eye view. *Frontiers in Microbiology*, v. 8, n. JUL, p. 276855, 21 jul. 2017.
25. ODAMAKI, T. et al. Age-related changes in gut microbiota composition from newborn to centenarian: A cross-sectional study. *BMC Microbiology*, v. 16, n. 1, p. 1–12, 25 maio 2016.
26. GAGNIÈRE, J. et al. Gut microbiota imbalance and colorectal cancer. *World Journal of Gastroenterology*, v. 22, n. 2, p. 501, 1 jan. 2016.
27. INTILI, G. et al. From Dysbiosis to Neurodegenerative Diseases through Different Communication Pathways: An Overview. *Biology* 2023, Vol. 12, Page 195, v. 12, n. 2, p. 195, 28 jan. 2023.
28. PARFREY, L. W.; KNIGHT, R. Spatial and temporal variability of the human microbiota. *Clinical Microbiology and Infection*, v. 18, n. SUPPL. 4, p. 8–11, 1 jul. 2012.
29. FICARA, M. et al. Changes of intestinal microbiota in early life. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*, v. 33, n. 6, p. 1036–1043, 18 mar. 2020.
30. LE HUROU-LURON, I.; BLAT, S.; BOUDRY, G. Breast- v. formula-feeding: impacts on the digestive tract and immediate and long-term health effects. *Nutrition Research Reviews*, v. 23, n. 1, p. 23–36, jun. 2010.
31. MUSILOVA, S. et al. Beneficial effects of human milk oligosaccharides on gut microbiota. <https://doi.org/10.3920/BM2013.0080>, v. 5, n. 3, p. 273–283, 9 jun. 2014.
32. GOMAA, E. Z. Human gut microbiota/microbiome in health and diseases: a review. *Antonie van Leeuwenhoek* 2020 113:12, v. 113, n. 12, p. 2019–2040, 2 nov. 2020c.
33. ALLEN, J. M. et al. Exercise Alters Gut Microbiota Composition and Function in Lean and Obese Humans. *Medicine and science in sports and exercise*, v. 50, n. 4, p. 747–757, 1 abr. 2018.
34. HUGHES, R. L. A Review of the Role of the Gut Microbiome in Personalized Sports Nutrition. *Frontiers in Nutrition*, v. 6, p. 504337, 10 jan. 2020.
35. KLINGENSMITH, N. J.; COOPERSMITH, C. M. The Gut as the Motor of Multiple Organ Dysfunction in Critical Illness. *Critical Care Clinics*, v. 32, n. 2, p. 203–212, 1 abr. 2016.
36. RAMNANI, P. et al. In vitro fermentation and prebiotic potential of novel low molecular weight polysaccharides derived from agar and alginate seaweeds. *Anaerobe*, v. 18, n. 1, p. 1–6, 1 fev. 2012.
37. CARMO, F. L. R. DO et al. Probiotic *Propionibacterium freudenreichii* requires SlpB protein to mitigate mucositis induced by chemotherapy. *Oncotarget*, v. 10, n. 68, p. 7198–7219, 31 dez. 2019.
38. CLEMENTE, J. C. et al. The Impact of the Gut Microbiota on Human Health: An Integrative View. *Cell*, v. 148, n. 6, p. 1258–1270, 16 mar. 2012.
39. DE JESUS, L. C. L. et al. Probiogenomics of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Lactis cidca* 133: In silico, in vitro, and in vivo approaches. *Microorganisms*, v. 9, n. 4, p. 829, 1 abr. 2021.
40. MACIEL-FIUZA, M. F. et al. Role of gut microbiota in infectious and inflammatory diseases. *Frontiers in Microbiology*, v. 14, p. 1098386, 27 mar. 2023.

41. TILG, H. et al. The Intestinal Microbiota in Colorectal Cancer. *Cancer Cell*, v. 33, n. 6, p. 954–964, 11 jun. 2018.
42. LEY, R. E. Obesity and the human microbiome. *Current Opinion in Gastroenterology*, v. 26, n. 1, p. 5–11, jan. 2010.
43. TILG, H. et al. The intestinal microbiota fuelling metabolic inflammation. *Nature Reviews Immunology* 2019 20:1, v. 20, n. 1, p. 40–54, 6 ago. 2019.
44. TURNBAUGH, P. J. et al. A core gut microbiome in obese and lean twins. *Nature* 2008 457:7228, v. 457, n. 7228, p. 480–484, 30 nov. 2008.
45. MAGNE, F. et al. The Firmicutes/Bacteroidetes Ratio: A Relevant Marker of Gut Dysbiosis in Obese Patients? *Nutrients* 2020, Vol. 12, Page 1474, v. 12, n. 5, p. 1474, 19 maio 2020.
46. GIONGO, A. et al. Toward defining the autoimmune microbiome for type 1 diabetes. *The ISME Journal* 2011 5:1, v. 5, n. 1, p. 82–91, 8 jul. 2010.
47. LEE, Y. K.; MAZMANIAN, S. K. Has the Microbiota Played a Critical Role in the Evolution of the Adaptive Immune System? *Science*, v. 330, n. 6012, p. 1768–1773, 24 dez. 2010.
48. AHMED, M.; AHMED, M. Intestinal Parasitic Infections in 2023. *Gastroenterology Research*, v. 16, n. 3, p. 127–140, 11 jun. 2023.
49. BURGESS, S. L.; PETRI, W. A. The Intestinal Bacterial Microbiome and *E. histolytica* Infection. *Current Tropical Medicine Reports*, v. 3, n. 3, p. 71–74, 1 set. 2016.
50. HOLLM-DELGADO, M. G. et al. Lack of an Adverse Effect of *Giardia intestinalis* Infection on the Health of Peruvian Children. *American Journal of Epidemiology*, v. 168, n. 6, p. 647–655, 15 set. 2008.
51. SCANLAN, P. D.; MARCHESI, J. R. Micro-eukaryotic diversity of the human distal gut microbiota: qualitative assessment using culture-dependent and -independent analysis of faeces. *The ISME Journal* 2008 2:12, v. 2, n. 12, p. 1183–1193, 31 jul. 2008.
52. SALVUCCI, E. The human-microbiome superorganism and its modulation to restore health. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, v. 70, n. 7, p. 781–795, 3 out. 2019.
53. LEE, S. C. et al. Helminth Colonization Is Associated with Increased Diversity of the Gut Microbiota. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, v. 8, n. 5, p. e2880, 2014.
54. STENSVOLD, C. R.; VAN DER GIEZEN, M. Associations between Gut Microbiota and Common Luminal Intestinal Parasites. *Trends in Parasitology*, v. 34, n. 5, p. 369–377, 1 maio 2018a.
55. IANIRO, G. et al. How the gut parasitome affects human health. *Therapeutic Advances in Gastroenterology*, v. 15, 30 abr. 2022b.
56. Soil-transmitted helminth infections. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/soil-transmitted-helminth-infections>>. Acesso em: 5 nov. 2023.
57. GABRIËL, S. et al. Foodborne Parasites and Their Complex Life Cycles Challenging Food Safety in Different Food Chains. *Foods* 2023, Vol. 12, Page 142, v. 12, n. 1, p. 142, 27 dez. 2022.
58. HOSSAIN, M. S. et al. Insights into the diagnosis, vaccines, and control of *Taenia solium*, a zoonotic, neglected parasite. *Parasites and Vectors*, v. 16, n. 1, p. 1–8, 1 dez. 2023.
59. MCMANUS, D. P. et al. Schistosomiasis. *Nature Reviews Disease Primers* 2018 4:1, v. 4, n. 1, p. 1–19, 9 ago. 2018.
60. PARTIDA-RODRÍGUEZ, O. et al. Human Intestinal Microbiota: Interaction Between Parasites and the Host Immune Response. *Archives of Medical Research*, v. 48, n. 8, p. 690–700, 1 nov. 2017a.
61. LI, R. W. et al. The effect of helminth infection on the microbial composition and structure of the caprine abomasal microbiome. *Scientific Reports* 2016 6:1, v. 6, n. 1, p. 1–10, 8 fev. 2016.

62. LI, R. W. et al. Alterations in the porcine colon microbiota induced by the gastrointestinal nematode *Trichuris suis*. *Infection and Immunity*, v. 80, n. 6, p. 2150–2157, 2012.
63. WU, S. et al. Worm Burden-Dependent Disruption of the Porcine Colon Microbiota by *Trichuris suis* Infection. *PLOS ONE*, v. 7, n. 4, p. e35470, 20 abr. 2012.
64. WANG, C.; LI, Q.; REN, J. Microbiota-immune interaction in the pathogenesis of gut-derived infection. *Frontiers in Immunology*, v. 10, n. AUG, p. 452409, 7 ago. 2019.
65. BEATTY, J. K. et al. *Giardia duodenalis* induces pathogenic dysbiosis of human intestinal microbiota biofilms. *International Journal for Parasitology*, v. 47, n. 6, p. 311–326, 1 maio 2017.
66. IYER, L. R. et al. Phagocytosis of Gut Bacteria by *Entamoeba histolytica*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, v. 9, p. 439722, 26 fev. 2019.
67. MCGREGOR, B. A. et al. A shotgun metagenomic analysis of the fecal microbiome in humans infected with *Giardia duodenalis*. *Parasites and Vectors*, v. 16, n. 1, p. 1–19, 1 dez. 2023.
68. SCANLAN, P. D. et al. The microbial eukaryote *Blastocystis* is a prevalent and diverse member of the healthy human gut microbiota. *FEMS Microbiology Ecology*, v. 90, n. 1, p. 326–330, 1 out. 2014.
69. SCANLAN, P. D.; STENSVOLD, C. R.; COTTER, P. D. Development and application of a *Blastocystis* subtype-specific PCR assay reveals that mixed-subtype infections are common in a healthy human population. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 81, n. 12, p. 4071–4076, 2015.
70. STENSVOLD, C. R.; VAN DER GIEZEN, M. Associations between Gut Microbiota and Common Luminal Intestinal Parasites. *Trends in Parasitology*, v. 34, n. 5, p. 369–377, 1 maio 2018b.
71. IEBBA, V. et al. Gut microbiota related to *Giardia duodenalis*, *Entamoeba* spp. and *Blastocystis hominis* infections in humans from Côte d'Ivoire. *Journal of Infection in Developing Countries*, v. 10, n. 9, p. 1035–1041, 1 set. 2016.
72. KING, I. L.; LI, Y. Host-parasite interactions promote disease tolerance to intestinal helminth infection. *Frontiers in Immunology*, v. 9, n. SEP, p. 411552, 20 set. 2018a.
73. PARTIDA-RODRÍGUEZ, O. et al. Human Intestinal Microbiota: Interaction Between Parasites and the Host Immune Response. *Archives of Medical Research*, v. 48, n. 8, p. 690–700, 1 nov. 2017b.
74. KING, I. L.; LI, Y. Host-parasite interactions promote disease tolerance to intestinal helminth infection. *Frontiers in Immunology*, v. 9, n. SEP, p. 411552, 20 set. 2018b.
75. PARTIDA-RODRÍGUEZ, O. et al. Human Intestinal Microbiota: Interaction Between Parasites and the Host Immune Response. *Archives of Medical Research*, v. 48, n. 8, p. 690–700, 1 nov. 2017c.
76. WANG, Y. et al. *Ascaris suum* infection was associated with a worm-independent reduction in microbial diversity and altered metabolic potential in the porcine gut microbiome. *International Journal for Parasitology*, v. 49, n. 3–4, p. 247–256, 1 mar. 2019.
77. ABBAS, A. K.; LITCHTMAN, A. H.; PILLAI, S. Anticorpos e Antígenos. *Imunologia Celular e Molecular*, 2019.
78. YOUSEFI, Y. et al. *Trichuris muris* Model: Role in Understanding Intestinal Immune Response, Inflammation and Host Defense. *Pathogens* 2021, Vol. 10, Page 925, v. 10, n. 8, p. 925, 22 jul. 2021.
79. KALANTARI, P.; BUNNELL, S. C.; STADECKER, M. J. The c-type lectin Receptor-Driven, Th17 Cell-Mediated severe pathology in schistosomiasis: Not all immune responses to helminth parasites are Th2 dominated. *Frontiers in Immunology*, v. 10, n. JAN, p. 425713, 30 jan. 2019.
80. ARGÜELLO-GARCÍA, R.; CARRERO, J. C.; ORTEGA-PIERRES, M. G. Extracellular Cysteine Proteases of Key Intestinal Protozoan Pathogens—Factors

- Linked to Virulence and Pathogenicity. *International Journal of Molecular Sciences* 2023, Vol. 24, Page 12850, v. 24, n. 16, p. 12850, 16 ago. 2023a.
81. ARGÜELLO-GARCÍA, R.; ORTEGA-PIERRES, M. G. *Giardia duodenalis* Virulence — “To Be, or Not To Be”. *Current Tropical Medicine Reports*, v. 8, n. 4, p. 246–256, 1 dez. 2021.
82. ARGÜELLO-GARCÍA, R.; CARRERO, J. C.; ORTEGA-PIERRES, M. G. Extracellular Cysteine Proteases of Key Intestinal Protozoan Pathogens—Factors Linked to Virulence and Pathogenicity. *International Journal of Molecular Sciences* 2023, Vol. 24, Page 12850, v. 24, n. 16, p. 12850, 16 ago. 2023b.
83. KHURANA, S.; GUR, R.; GUPTA, N. Chronic diarrhea and parasitic infections: Diagnostic challenges. *Indian Journal of Medical Microbiology*, v. 39, n. 4, p. 413–416, 1 out. 2021.
84. PARTIDA-RODRÍGUEZ, O. et al. Human Intestinal Microbiota: Interaction Between Parasites and the Host Immune Response. *Archives of Medical Research*, v. 48, n. 8, p. 690–700, 1 nov. 2017d.
85. ULUSAN BAGCI, O.; CANER, A. The interaction of gut microbiota with parasitic protozoa. *Journal of parasitic diseases : official organ of the Indian Society for Parasitology*, v. 46, n. 1, p. 8–11, 1 mar. 2022.
86. BÄR, A. K. et al. The Interplay of Host Microbiota and Parasitic Protozoans at Mucosal Interfaces: Implications for the Outcomes of Infections and Diseases. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, v. 9, n. 12, p. e0004176, 10 dez. 2015.
87. NETEA, M. G. et al. Trained immunity: A program of innate immune memory in health and disease. *Science*, v. 352, n. 6284, p. 427, 22 abr. 2016.
88. BEYHAN, Y. E.; YILDIZ, M. R. Microbiota and parasite relationship. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, v. 106, n. 4, p. 115954, 1 ago. 2023b.
89. FADEN, H. The Role of Faecalibacterium, Roseburia, and Butyrate in Inflammatory Bowel Disease. *Digestive Diseases*, v. 40, n. 6, p. 793–795, 15 nov. 2022.
90. JIN, X. et al. Lentinan -triggered butyrate-producing bacteria drive the expulsion of the intestinal helminth *Trichinella spiralis* in mice. *Frontiers in Immunology*, v. 13, p. 926765, 28 jul. 2022.
91. LOPEZ-SILES, M. et al. Faecalibacterium prausnitzii: from microbiology to diagnostics and prognostics. *The ISME Journal* 2017 11:4, v. 11, n. 4, p. 841–852, 3 jan. 2017.
92. CHEN, J.; FALLER, D.; SPANJAARD, R. Short-chain fatty acid inhibitors of histone deacetylases: promising anticancer therapeutics? *Current cancer drug targets*, v. 3, n. 3, p. 219–236, 25 mar. 2003.
93. MASLOWSKI, K. M.; MACKAY, C. R. Diet, gut microbiota and immune responses. *Nature Immunology* 2011 12:1, v. 12, n. 1, p. 5–9, 17 dez. 2010.
94. WESEL, J. et al. Encystation of *Entamoeba histolytica* in Axenic Culture. *Microorganisms* 2021, Vol. 9, Page 873, v. 9, n. 4, p. 873, 18 abr. 2021.
95. ENGEVIK, M. A. et al. Microbial Metabolic Capacity for Intestinal Folate Production and Modulation of Host Folate Receptors. *Frontiers in Microbiology*, v. 10, p. 460453, 9 out. 2019.
96. BAILEY, L. B.; GREGORY, J. F. Folate metabolism and requirements. *Journal of Nutrition*, v. 129, n. 4, p. 779–782, 1999.
97. DIAMOND, L. S.; HARLOW, D. R.; CUNNICK, C. C. A new medium for the axenic cultivation of *Entamoeba histolytica* and other entamoeba. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 72, n. 4, p. 431–432, 1978.
98. FUNKHOUSER-JONES, L. J. et al. Microbiota-produced indole metabolites disrupt mitochondrial function and inhibit *Cryptosporidium parvum* growth. *Cell Reports*, v. 42, n. 7, 25 jul. 2023.
99. DUARTE-SILVA, E. et al. Targeting the Gut Microbiota in Chagas Disease: What Do We Know so Far? *Frontiers in Microbiology*, v. 11, p. 585857, 10 dez. 2020.

100. HUSEBYE, E. et al. Influence of microbial species on small intestinal myoelectric activity and transit in germ-free rats. *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology*, v. 280, n. 3 43-3, 2001.
101. RINGEL, Y. The Gut Microbiome in Irritable Bowel Syndrome and Other Functional Bowel Disorders. *Gastroenterology Clinics of North America*, v. 46, n. 1, p. 91–101, 1 mar. 2017.
102. ISLAM, M. Z. et al. Reproducible and opposing gut microbiome signatures distinguish autoimmune diseases and cancers: a systematic review and meta-analysis. *Microbiome*, v. 10, n. 1, 1 dez. 2022.
103. PÉREZ-MOLINAN, J. A. et al. Chagas disease is related to structural changes of the gut microbiota in adults with chronic infection (TRIPOBIOME Study). *PLOS Neglected Tropical Diseases*, v. 17, n. 7, p. e0011490, 1 jul. 2023.
104. SCHLÜTER, D.; BARRAGAN, A. Advances and challenges in understanding cerebral toxoplasmosis. *Frontiers in Immunology*, v. 10, n. FEB, 2019.
105. GHAZANFARI, N.; MUELLER, S. N.; HEATH, W. R. Cerebral malaria in mouse and man. *Frontiers in Immunology*, v. 9, n. SEP, p. 412582, 10 set. 2018.
106. COX, L. M.; WEINER, H. L. Microbiota Signaling Pathways that Influence Neurologic Disease. *Neurotherapeutics*, v. 15, n. 1, p. 135–145, 1 jan. 2018.
107. RUTSCH, A.; KANTSJÖ, J. B.; RONCHI, F. The Gut-Brain Axis: How Microbiota and Host Inflammasome Influence Brain Physiology and Pathology. *Frontiers in immunology*, v. 11, 10 dez. 2020.
108. KANG, D. W. et al. Reduced Incidence of *Prevotella* and Other Fermenters in Intestinal Microflora of Autistic Children. *PLOS ONE*, v. 8, n. 7, p. e68322, 3 jul. 2013.
109. JIANG, H. et al. Altered fecal microbiota composition in patients with major depressive disorder. *Brain, behavior, and immunity*, v. 48, p. 186–194, 2015.
110. BRAAK, H. et al. Gastric α -synuclein immunoreactive inclusions in Meissner's and Auerbach's plexuses in cases staged for Parkinson's disease-related brain pathology. *Neuroscience Letters*, v. 396, n. 1, p. 67–72, 20 mar. 2006.
111. ROY SARKAR, S.; BANERJEE, S. Gut microbiota in neurodegenerative disorders. *Journal of Neuroimmunology*, v. 328, p. 98–104, 15 mar. 2019.
112. VOGT, N. M. et al. Gut microbiome alterations in Alzheimer's disease. *Scientific Reports*, v. 7, n. 1, 1 dez. 2017.
113. FLOUDAS, A. et al. *Schistosoma mansoni* worm infection regulates the intestinal microbiota and susceptibility to colitis. *Infection and Immunity*, v. 87, n. 8, 2019a.
114. VILLARINO, N. F. et al. Composition of the gut microbiota modulates the severity of malaria. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 113, n. 8, p. 2235–2240, 23 fev. 2016
115. FLOUDAS, A. et al. *Schistosoma mansoni* worm infection regulates the intestinal microbiota and susceptibility to colitis. *Infection and Immunity*, v. 87, n. 8, 2019b.
116. BAILEY, M. T. et al. Exposure to a social stressor alters the structure of the intestinal microbiota: implications for stressor-induced immunomodulation. *Brain, behavior, and immunity*, v. 25, n. 3, p. 397–407, mar. 2011.
117. BRANISTE, V. et al. The gut microbiota influences blood-brain barrier permeability in mice. *Science Translational Medicine*, v. 6, n. 263, 19 nov. 2014b.
118. BALDI, S. et al. Microbiota shaping - The effects of probiotics, prebiotics, and fecal microbiota transplant on cognitive functions: A systematic review. *World Journal of Gastroenterology*, v. 27, n. 39, p. 6715–6732, 21 out. 2021.
119. ELKJAER, M. L. et al. Hypothesis of a potential BrainBiota and its relation to CNS autoimmune inflammation. *Frontiers in Immunology*, v. 13, p. 1043579, 2 dez. 2022.
120. ADAMO, S. A. Modulating the Modulators: Parasites, Neuromodulators and Host Behavioral Change. *Brain Behavior and Evolution*, v. 60, n. 6, p. 370–377, 1 jul. 2002.

121. RAMÍREZ-CARRILLO, E. et al. Disturbance in human gut microbiota networks by parasites and its implications in the incidence of depression. *Scientific Reports* 2020 10:1, v. 10, n. 1, p. 1–12, 28 fev. 2020a.
122. RAMÍREZ-CARRILLO, E. et al. Disturbance in human gut microbiota networks by parasites and its implications in the incidence of depression. *Scientific Reports* 2020 10:1, v. 10, n. 1, p. 1–12, 28 fev. 2020b.
123. MEIBALAN, E.; MARTI, M. *Biology of malaria transmission*. Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine, v. 7, n. 3, 1 mar. 2017.
124. DE OLIVEIRA, A. B. B. et al. Parasite-vector interaction of chagas disease: A mini-review. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 98, n. 3, p. 653–655, 2018.
125. KELLY, P. H. et al. The gut microbiome of the vector *Lutzomyia longipalpis* is essential for survival of *Leishmania infantum*. *mBio*, v. 8, n. 1, 1 jan. 2017.
126. WANG, J.; GAO, L.; AKSOY, S. Microbiota in disease-transmitting vectors. *Nature Reviews Microbiology* 2023 21:9, v. 21, n. 9, p. 604–618, 22 maio 2023a.
127. BIAN, G. et al. *Wolbachia* invades *Anopheles stephensi* populations and induces refractoriness to *Plasmodium* infection. *Science*, v. 340, n. 6133, p. 748–751, 2013.
128. KARIMIAN, F. et al. Comparative analysis of the gut microbiota of sand fly vectors of zoonotic visceral leishmaniasis (ZVL) in Iran; host-environment interplay shapes diversity. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, v. 16, n. 7, p. e0010609, 1 jul. 2022.
129. FENG, Y. et al. Anopheline mosquitoes are protected against parasite infection by tryptophan catabolism in gut microbiota. *Nature Microbiology*, v. 7, n. 5, p. 707–715, 1 maio 2022a.
130. WANG, J.; GAO, L.; AKSOY, S. Microbiota in disease-transmitting vectors. *Nature Reviews Microbiology* 2023 21:9, v. 21, n. 9, p. 604–618, 22 maio 2023b.
131. FENG, Y. et al. Anopheline mosquitoes are protected against parasite infection by tryptophan catabolism in gut microbiota. *Nature Microbiology*, v. 7, n. 5, p. 707–715, 1 maio 2022b.
132. HURWITZ, I. et al. Paratransgenic control of vector borne diseases. *International Journal of Biological Sciences*, v. 7, n. 9, p. 1334–1344, 1 nov. 2011.
133. DURVASULA, R. V. et al. Prevention of insect-borne disease: An approach using transgenic symbiotic bacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 94, n. 7, p. 3274–3278, 1 abr. 1997.
134. TARACENA, M. L. et al. Genetically Modifying the Insect Gut Microbiota to Control Chagas Disease Vectors through Systemic RNAi. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, v. 9, n. 2, 2015

SOBRE OS ORGANIZADORES

JULIANA REIS MACHADO E SILVA

Bacharel em Biomedicina pela Universidade de Uberaba, Uberaba-MG; Mestre e Doutora em Patologia pela Universidade Federal do Triângulo Mineiro – UFTM, Uberaba – MG. Atua como Professora Efetiva do Ensino Superior no Instituto de Ciências Biológicas e Naturais, Universidade Federal do Triângulo Mineiro – UFTM, Uberaba – MG.

MARCOS VINÍCIUS DA SILVA

Bacharel em Biomedicina pela Universidade de Uberaba, Uberaba-MG; Mestre e Doutor em Medicina Tropical e Infectologia pela Universidade Federal do Triângulo Mineiro – UFTM, Uberaba – MG. Atua como Professor Efetivo do Ensino Superior no Instituto de Ciências Biológicas e Naturais, Universidade Federal do Triângulo Mineiro – UFTM, Uberaba – MG.

JOSÉ RODRIGUES DO CARMO NETO

Bacharel em Biotecnologia pela Universidade Federal de Goiás, Goiânia-GO; Mestre e Doutor na área de concentração em Ciências Básicas e Aplicadas em Doenças Infecções Parasitárias e Saúde Pública: Parasitologia pela Universidade Federal do Goiás - UFG, Goiânia - GO. Atua como Pesquisador no Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública na Universidade Federal de Goiás – UFG, Goiânia, Goiás – GO.

LÚCIO ROBERTO CANÇADO CASTELLANO

Bacharel em Biomedicina pela Universidade Federal do Triângulo Mineiro – UFTM, Uberaba – MG; Mestre e Doutor em Medicina Tropical e Infectologia pela Universidade Federal do Triângulo Mineiro – UFTM, Uberaba – MG. Atua como Professor Efetivo do Ensino Básico, Técnico e Tecnológico da Escola Técnica de Saúde da UFPB, Universidade Federal da Paraíba – UFPB, João Pessoa



CONTATOS:

<https://creativeeventos.com.br/editoracreative/>
editora@creativeeventos.com.br

ISBN: 978-65-84626-01-0

ORL



9 786584 626010