

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

INSTITUTO DE BIOLOGIA

MARIA EDUARDA SILVA DINIZ

**AVALIAÇÃO DO ESTÍMULO DO EXTRATO ANTIGÊNICO DE *Taenia
crassiceps* NA INFECÇÃO DE *Toxoplasma gondii* EM CÉLULAS
TROFOBLÁSTICAS HUMANAS**

UBERLÂNDIA

2025

MARIA EDUARDA SILVA DINIZ

**AVALIAÇÃO DO ESTÍMULO DO EXTRATO ANTIGÊNICO DE *Taenia
crassiceps* NA INFECÇÃO DE *Toxoplasma gondii* EM CÉLULAS
TROFOBLÁSTICAS HUMANAS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Instituto de Biologia da Universidade Federal de
Uberlândia, como requisito parcial para a obtenção do
título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Área de Concentração: Parasitologia

Orientador: Prof. Dr. Henrique Tomaz Gonzaga

Coorientadora: Profa. Dra. Bellisa de Freitas Barbosa

UBERLÂNDIA

2025

AGRADECIMENTOS

Primeiramente eu quero agradecer e dedicar o fim dessa jornada da vida universitária e esse TCC para minha família, por família me refiro aos meus pais Andréa e Eduardo e a minha irmã Emanuelle, sem o apoio deles em todos os dias nublados eu não teria chegado até aqui, obrigada por serem minha base em todos os momentos, principalmente nos difíceis e especialmente nos felizes. Eles fizeram e me apoiaram para virar a pessoa que sou hoje e a profissional que serei amanhã.

Ao LADIPAR ministrado pelo meu orientador Henrique, que me passou todo o conhecimento necessário e agregou muito na minha vida acadêmica, mesmo em dias difíceis esteve me ajudando e me orientando. Juntamente com todos os membros dele, principalmente para minhas colegas de laboratório que tanto me ajudaram e me ensinaram Bhrenda e Fabíola e para a Priscila que com toda certeza não conseguiria ter todo o sucesso que tive nos resultados sem ela. Também gostaria de agradecer ao LABIFIR ministrado pela minha coorientadora Bellisa que foram essenciais para o desenvolvimento dos meus experimentos, principalmente para a Luana que me ensinou bastante sobre a rotina de experimentos. Ao CNPq que deu todo apoio para o desenvolvimento dessa pesquisa.

Aos meus amigos que estiveram presentes durante esses quatro anos de curso, em especial ao João Paulo pelo apoio em todos os projetos que fiz, por estar presente em todos os momentos, por ser minha família fora de casa, sem ele para deixar meu dia mais alegre eu não teria ido tão longe como fui. Também para meus amigos Júlia Victorino, Waterson, Amanda, Lucas e Desiré e a minha namorada Ana Clara que estiveram do meu lado e me deram todo o apoio durante a graduação e com toda certeza deixaram meus dias mais felizes.

RESUMO

O complexo teníase-cisticercose considerado uma doença tropical negligenciada causada por helmintos e aquelas causadas por protozoários como toxoplasmose. constituem um problema para saúde pública, especialmente em países em desenvolvimento. Considerando que as infecções por helmintos podem alterar a suscetibilidade a outros parasitos, é importante entender os impactos dessa interação em diferentes modelos, como na interface materno-fetal. Esse trabalho teve como objetivo avaliar o papel do extrato salino (ES) do cisticerco de *Taenia crassiceps* durante a infecção por *Toxoplasma gondii* nas células trofoblásticas da linhagem BeWo. O extrato salino foi obtido do metacestódeo de *T. crassiceps* e usado nas células em diferentes concentrações (64; 32; 16; 8; 4; 2; 1; 0.5; 0.25 e 0.125 µg/ml). Os parâmetros avaliados incluíram:(a) a viabilidade celular, usando o método MTT, (b) o efeito do ES na proliferação de *T. gondii*, avaliado via reação β-galactosidase, e (c) secreção de citocinas (IL-6, IL-8, IL-10, e MIF) em culturas sobrenadantes, avaliada pelo ensaio ELISA imunoenzimático, depois com a estimulação com ES, com ou sem a infecção por *T. gondii*. O ES não afetou a viabilidade das células BeWo. No ensaio de proliferação, nas concentrações testadas (32 e 8 µg/mL), houve uma redução no número de *T. gondii*, similar ao efeito observado com o tratamento padrão com sulfadiazina e pirimetamina. A respeito das citocinas, a produção de IL-10 aumentou após estimulação com ES, nas mesmas condições em que foi observado a diminuição da proliferação de *T. gondii*. Esses resultados contribuíram para o entendimento da coinfecção de *Taenia* sp. e *T. gondii*. Antígenos de *Taenia crassiceps* podem possuir influenciar a interação com drogas durante o tratamento e impactar o resultado da transmissão vertical da toxoplasmose.

Palavras-chave: Célula BeWo; Cisticercose; Coinfecção; *Taenia crassiceps*

ABSTRACT

The taeniasis-cysticercosis complex, considered a neglected tropical disease caused by helminths, and protozoan infections such as toxoplasmosis constitute a public health problem, especially in developing countries. Considering that helminth infections can alter susceptibility to other parasites, it is important to understand the impacts of this interaction in different models, such as at the maternal-fetal interface. This study aimed to evaluate the role of the saline extract (SE) of *Taenia crassiceps* cysticerci during *Toxoplasma gondii* infection in BeWo trophoblastic cells. The saline extract was obtained from *T. crassiceps* metacestodes and applied to cells at different concentrations (64, 32, 16, 8, 4, 2, 1, 0.5, 0.25, and 0.125 µg/mL). The parameters evaluated included: (a) cell viability, using the MTT assay, (b) the effect of SE on *T. gondii* proliferation, assessed by the β-galactosidase reaction, and (c) cytokine secretion (IL-6, IL-8, IL-10, and MIF) in culture supernatants, measured by ELISA immunoassay, after stimulation with SE, with or without *T. gondii* infection. SE did not affect the viability of BeWo cells. In the proliferation assay, at the tested concentrations (32 and 8 µg/mL), there was a reduction in the number of *T. gondii*, like the effect observed with standard treatment using sulfadiazine and pyrimethamine. Regarding cytokines, IL-10 production increased after stimulation with SE, under the same conditions in which a decrease in *T. gondii* proliferation was observed. These findings contributed to the understanding of *Taenia* sp. and *T. gondii* coinfection. *Taenia crassiceps* antigens may potentially influence drug interactions during treatment and impact the outcome of vertical transmission of toxoplasmosis.

Keywords: BeWo cells; Cysticercosis; Co-infection; *Taenia crassiceps*.

SUMÁRIO

1 Introdução	7
1.1 O gênero <i>Taenia</i> e aspectos gerais do complexo teníase-cisticercose	7
1.2 <i>Toxoplasma gondii</i> e a toxoplasmose	11
1.3 A toxoplasmose e a gestação	12
1.4 Modelos de avaliação <i>in vitro</i> : <i>Taenia crassiceps</i> e células BeWo	13
2 Objetivos	15
3 Metodologia	16
3.1 Obtenção dos cisticercos e preparação do extrato salino	16
3.2 Cultura e manutenção das células BeWo	16
3.3 Cultura e manutenção de <i>Toxoplasma gondii</i>	17
3.4 Ensaio de viabilidade celular	17
3.5 Ensaio de proliferação	18
3.6 Dosagem de citocinas	19
3.7 Análise estatística	19
4 Resultados	21
4.1 Extrato salino de <i>Taenia crassiceps</i> não alterou a viabilidade das células Bewo	21
4.2 Extrato salino de <i>T. crassiceps</i> em concentrações específicas reduziu a proliferação de <i>Toxoplasma gondii</i> em células BeWo	22
4.3 O estímulo com o extrato salino de <i>T. crassiceps</i> aumentou a produção de IL-10 em células infectadas	23
4.4 Razão das outras citocinas (MIF, IL-6 e IL-8)	24
5 Discussão	25
6 Conclusão	29
Referências	30

1 INTRODUÇÃO

1.1 O gênero *Taenia* e aspectos gerais do complexo teníase-cisticercose

As doenças tropicais negligenciadas (DTN) constituem atualmente um grande problema de saúde e gestão pública em países em desenvolvimento. Elas ocorrem em cerca de 149 países, onde uma grande parcela da população vive em condições de baixa renda, afetando mais de um bilhão de pessoas (FIOCRUZ, 2010). Apesar de serem cosmopolitas o seu endemismo da cisticercose concentra-se em regiões como a América Latina, África e Ásia com estimativa de 50.000 mortes anuais (WHO, 2022).

Dentro desse contexto podemos citar o complexo teníase-cisticercose que é causado em humanos por duas espécies de parasitos zoonóticos, *Taenia saginata* e *T. solium*, que popularmente, recebem o nome de solitárias (TOLEDO et al., 2018). A teníase é causada pelo parasito adulto de ambas as espécies já a cisticercose, pela larva (cisticerco) de *T. solium*.

Teníase e cisticercose têm distribuição com abrangência mundial (CDC, 2017). Estima-se que cerca de 2,5-8,3 milhões de pessoas estejam infectadas com cisticercose no mundo, segundo a Organização Mundial da Saúde (WHO, 2022). Dentro desse número há muitos casos diagnosticados na América Latina. Nesta região, entre outros fatores epidemiológicos, a alta prevalência decorre da falta de saneamento básico de qualidade na maioria das cidades. No Brasil, a ocorrência do complexo teníase-cisticercose tem ligação principalmente a comunidades rurais, onde é comum a criação de suínos em ‘chiqueiros’ e gado solto, associada a falta de saneamento básico, propiciando a contaminação do alimento, da água, de bovinos e suínos (ACEVEDO-NIETO et al., 2017). É menos evidenciada em regiões urbanizadas onde a manutenção do ciclo de *Taenia* é observada dentro do próprio ambiente familiar, por meio de transmissão domiciliar. Além disso, o fato de que em muitas regiões o atendimento médico é de difícil acesso, e a falta de informação sobre ambas as doenças dificulta o diagnóstico e tratamento adequados.

Tênias são vermes morfologicamente achatados dorsoventralmente, em forma de fita, e divididos em cabeça ou escólex, colo ou pescoço e estróbilo ou corpo (NEVES, 2022). *Taenia saginata* apresenta quatro ventosas em seu escólex, seguido por um pescoço longo e fino; e suas proglotes não grávidas são largas enquanto as proglotes grávidas são longas. *T. saginata* é a espécie mais comum em humanos e podem alcançar até 20 metros de comprimento, porém usualmente alcança cerca de 5 a 8 metros, tem como hospedeiro intermediário os bovinos (ROBERTS; JANOVY; NADLER, 2012). *Taenia solium* apresenta 4 ventosas e dois círculos de acúleos no ápice do seu rostro; suas proglotes grávidas são mais largas do que as não grávidas. Usualmente alcança cerca de 2 a 3 metros e tem como hospedeiro intermediário o suíno, porém o ser humano também accidentalmente pode servir como hospedeiro intermediário, por isso ela é considerada a mais grave para humanos, por causar a cisticercose (ROBERTS; JANOVY; NADLER, 2012).

O ciclo se inicia quando bovinos e suínos se alimentam ou bebem água que estão contaminados com ovos presentes nas fezes do homem parasitado (TOLEDO et al., 2018). Os ovos, na presença de umidade e na ausência de luz, podem permanecer viáveis por muito tempo (BASTOS, 2019). Após ingeridos pelos hospedeiros intermediários, as oncosferas (embriões hexacantos) são liberadas no intestino delgado e, em ação conjunta do suco gástrico e da bile, penetram a parede do intestino delgado até alcançar os vasos sanguíneos, para invadir os órgãos ou tecidos do animal infectado e formar cisticercos (CHIEFFI; SANTOS, 2020). A teníase desenvolve-se ou ocorre quando o homem ingere as formas metacestóideas, presentes em carnes cruas ou malcozidas de suíno ou bovino. No homem, após ação digestiva, o escólex do cisticerco evagina e se fixa à mucosa do intestino através das suas ventosas (DA SILVA et al., 2022). A tênia adulta começa a se desenvolver e crescer seu estróbilo em uma ação do colo ou pescoço. A *Taenia saginata*, ao atingir a fase adulta, iniciará a eliminação das proglotes grávidas pelas fezes, as quais, na fase madura se desprendem do estróbilo da tênia e alcançam as fezes. Já em *T. solium*, essas proglotes migram para o ânus do hospedeiro, em ambos os casos as proglotes serão eliminadas pelas fezes. No caso de *Taenia solium*, o homem pode atuar como hospedeiro

intermediário ao ingerir os ovos que resultam em cisticercose (BUSCHMANN, 2011).

A cisticercose pode ser classificada de acordo com a localização dos cisticercos, com casos de cisticercos alojados no tecido subcutâneo, cardíaco, cerebral e outras estruturas pertencentes ao sistema nervoso central (SNC) chamada de neurocisticercose (NCC). Quando há casos de NCC, os sintomas dependem, entre outros fatores, do estágio do cisticerco: vesicular, coloidal, granular nodular ou granular calcificado. O estágio em que o cisticerco se encontra, combinado com a carga parasitária e com a resposta imune que o indivíduo infectado apresenta frente ao período de infecção, afeta a patogenia da NCC. Geralmente, nos casos em que há sintomas, os cisticercos comprimem as estruturas adjacentes ao local onde está localizado (WEBB, et al., 2018). Quando ocorre um extravasamento do líquido vesicular, podem surgir complicações graves, tal como uma reação inflamatória intensa no SNC central (GUIMARÃES, 2010). Na maioria dos pacientes infectados, esses sintomas compreendem desde dores de cabeça até convulsões. Na gravidez, pode acontecer um agravamento desses sintomas que serão acompanhados de um aumento da pressão intracraniana e, em casos raros, esses sintomas podem levar ao coma e à morte da mãe e do feto. Não há evidência de ocorrência de transmissão vertical (WEBB et al., 2018).

O diagnóstico da teníase e da cisticercose, muitas vezes, ocorre de forma tardia ou, à vezes, por se tratar de parasitos na maioria dos casos assintomáticos não são sequer diagnosticadas, sendo difícil identificar a população afetada. Quando é investigada, a teníase pode ser diagnosticada através do exame parasitológico de fezes, que detecta os ovos da família *Taeniidae*, ou da tamisação das fezes, que envolve a coleta e a identificação específica das proglotes (DA SILVA et al., 2022). Há também a possibilidade de aplicação do ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA) e a reação em cadeia da polimerase (PCR). A cisticercose pode ser diagnosticada por exames de imagem – padrão ouro -, exames sorológicos, exame de líquor que é um teste sorológico (em caso de neurocisticercose - NCC) e biopsia (CARPIO; ROMO; DEL BRUTTO, 2023).

O tratamento adequado para teníase e cisticercose, quando são diagnosticadas, é feito com medicamentos antiparasitários; um dos mais comuns nesses casos é o albendazol. Quando há o diagnóstico de NCC, utiliza-se o antiparasitário associado a anti-inflamatórios, antiepilepticos e, em casos graves como hidrocefalia, lesões intracranianas sintomáticas, cisticercos intraventriculares ou que causam compressão de estruturas vitais, pode haver uma intervenção cirúrgica (WHITE JUNIOR et al., 2018).

As helmintíases têm como uma das suas características a capacidade de alterar a imunidade e de tornar o hospedeiro mais suscetível a doenças diretamente relacionadas aos helmintos, sejam elas causadas por outros parasitas do mesmo grupo, protozoários, vírus ou bactérias. Quando há infecção em humanos por helmintos, há uma indução de resposta imunológica tipo 2 (Th2), associada à produção, entre outras, de citocinas IL-4, IL-5 e IL-13. A modulação na resposta produzida pelo sistema imune é benéfica para que os helmintos consigam sobreviver por muito tempo no hospedeiro sem serem prejudicados, ao mesmo tempo em que tornam o hospedeiro mais suscetível a outras infecções (CHETTY et al., 2020).

Sobre a NCC a resposta imune do hospedeiro aos cisticercos é complexa e diversa; a resposta mais comum é a do tipo Th2, principalmente quando observada em indivíduos assintomáticos, porém esse quadro pode mudar em quadros clínicos sintomáticos. Os tipos de respostas para a NCC são humoral e celular. A resposta humoral envolve o aumento de IgG e suas subclasses dependendo do estágio de infecção no indivíduo. A resposta celular é dependente do estágio do metacestódeo e da sua localização; inicialmente, a resposta predominante é de citocinas Th2 e imunorregulatórias que limitam a inflamação e favorecem a sobrevivência do parasita. À medida que há uma deterioração dos cisticercos, ocorre a ativação inflamatória Th1, com produção de IFN- γ , TNF- α e IL-1 β , o que leva à produção de granulomas maduros. Além disso, as formas metacestóideas induzem a ativação de células T reguladoras, que produzem IL-10 e TGF- β , suprimindo a proliferação dos linfócitos e ajudando a evitar a destruição excessiva do tecido neural (PRODJINOTHO et al., 2020).

1.2 *Toxoplasma gondii* e a toxoplasmose

A toxoplasmose é uma infecção causada pelo parasito protozoário intracelular obrigatório *Toxoplasma gondii* que por ter uma distribuição mundial e alta prevalência, é de importância para a saúde pública. Esse parasito tem um ciclo heteroxênico facultativo, ou seja, pode ter um ou mais hospedeiros (DINIZ et al., 2022). Seu hospedeiro intermediário pode ser qualquer mamífero ou ave e seu hospedeiro definitivo é um felídeo. Devido a essa ampla gama de hospedeiros, estima-se que em alguns países a prevalência sorológica atinja 80% da população (NEVES, 2022).

O *T. gondii* apresenta três formas distintas: esporozoítos, merozoítos (taquizoítos e bradizoítos) e gametas. Seus hospedeiros podem ser infectados de várias formas diferentes. A rota de transmissão depende do estágio em que o *T. gondii* se apresenta: a infecção por bradizoítos acontece pela ingestão de carne crua ou mal cozida; já a infecção por esporozoítos em oocistos, pela ingestão de alimentos crus e água contaminados e contato com o solo contaminado por fezes de gatos infectados; enquanto taquizoítos podem estar presentes em fluidos corporais (leite e saliva), em órgãos infectados usados para transplante, no sangue de indivíduos infectados e podem ser transmitidos verticalmente, quando a mãe transmite via transplacentária para seu feto. Seu ciclo de vida é dividido em fase assexuada em hospedeiros intermediários e definitivos e fase sexuada apenas em hospedeiros definitivos: felídeos (NEVES, 2022).

A fase assexuada inicia-se após a infecção no hospedeiro intermediário. Os esporozoítos sofrem intensas multiplicações intracelulares. No vacúolo parasitóforo intracelular os novos taquizoítos são formados via endodiogenia, rompem a célula e invadem novas células e reiniciam esse processo (NEVES, 2022). A fase de replicação rápida dos taquizoítos nos tecidos é denominada de fase aguda. Quando alguns parasitos se diferenciarem em bradizoítos, formam cistos teciduais, e a toxoplasmose entra em fase crônica (NEVES, 2022). A fase sexuada ocorre nas células epiteliais do intestino delgado de felídeos não imunes. Há uma fase reprodutiva por esquizogonia, seguida por uma sexuada.

A esquizogonia gera vários merozoítos - seu conjunto dentro do vacúolo parasitóforo recebe o nome de esquizonte maduro-, então a célula se rompe e libera os merozoítos que penetram novas células epiteliais e se diferenciar em formas sexuadas Os gametócitos, após passarem por um processo de maturação, formarão os microgametas móveis e os macrogametas imóveis. Após a fecundação, forma-se o zigoto, que evoluirá dentro do epitélio, formando uma parede externa dupla e dará origem ao oocisto. Em alguns dias, a célula se rompe e libera o oocisto que atingirá o ambiente com as fezes; sua maturação acontecerá por esporogonia (NEVES, 2022).

Geralmente, a toxoplasmose é uma doença assintomática em pessoas saudáveis, e seus sintomas dependem de fatores do parasita e do hospedeiro. Entre os fatores do parasita que influenciam as manifestações sintomáticas da toxoplasmose estão a carga parasitária e a cepa do parasita. Relativamente ao hospedeiro, destacam-se a resposta imune elaborada e o estado imune geral, com ênfase nos imunocomprometidos e nas gestantes como principais fatores. Os sintomas podem ser facilmente confundidos com sintomas de outras doenças, incluindo: febre, fadiga, dores musculares, dor de garganta e dor de cabeça. Suas manifestações mais graves estão relacionadas aos indivíduos que apresentam lesões nos olhos e no cérebro e na infecção congênita: aborto, nascimento prematuro e danos neurológicos no feto (SANTOS; RIBEIRO; LIMA, 2023).

O diagnóstico é feito por exames laboratoriais, onde se realiza uma testes sorológicos que detecta os anticorpos IgM e IgG específicos (DE MORAES, 2022). O tratamento pode ser realizado usando medicamentos como pirimetamina, sulfadiazina e espiramicina. A prevenção da doença envolve a melhoria dos hábitos de higiene pessoal e da forma de higienizar e cozinhar os alimentos, além de um diagnóstico rápido tanto nos animais quanto nos seres humanos contaminados (ALVES et al., 2022).

1.3 A toxoplasmose e a gestação

O Brasil tem uma alta taxa de incidência de toxoplasmose congênita, podendo alcançar até 10 casos a cada 10 mil nascidos vivos. Suas manifestações clínicas são variáveis e incluem: alterações oftalmológicas,

neurológicas e alterações do volume craniano (microcefalia e macrocefalia). Também incluem manifestações sistêmicas e podem, em casos muito graves, levar à morte fetal e neonatal (SANTOS; RIBEIRO; LIMA, 2023). Por ser uma doença de circulação endêmica, a notificação de casos de toxoplasmose gestacional e congênita é compulsória desde fevereiro de 2016 (BRASIL, 2016).

A toxoplasmose na gestação terá como fatores determinantes do risco de transmissão a resposta imunológica materna, a idade gestacional no momento da infecção e a virulência do parasito. No caso da idade gestacional o risco de transmissão varia da seguinte forma: 2% no período periconcepcional, 10-25% no primeiro trimestre, 30-45% no segundo, 60-65% no terceiro e 80% antes do parto (DINIZ et al., 2022). A criança pode nascer assintomática, mas com o desenvolvimento surgem os sintomas da doença surgem (DE MORAES, 2022). O diagnóstico é feito por exames laboratoriais, onde se realiza uma triagem sorológica, que detecta os anticorpos IgM e IgG específicos, porque a maioria das gestantes não apresenta sintomas e, quando ocorrem, eles podem ser: febre, cefaleia, mialgia, linfadenopatia e erupção cutânea no feto.

1.4 Modelos de avaliação *in vitro*: interação de *Taenia crassiceps* e células BeWo

O trofoblasto é uma célula de origem fetal que desempenha um papel importante para garantir o sucesso gestacional, impossibilitando casos de rejeição materna (WEGMANN et al., 1993). Ela é responsável por aderir e invadir o blastocisto no endométrio, nutrir o embrião e formar a porção fetal da placenta (FITZGERALD et al., 2008). As células BeWo foram as primeiras células trofoblásticas endócrinas humanas a serem cultivadas e usadas como modelo; elas crescem rápido e secretam citocinas e hormônios (FUJISAWA et al., 2000). A linhagem BeWo possibilita avaliar *in vitro* as interações entre as células trofoblásticas e infecções causadas por parasitos.

Taenia crassiceps tem características muito próximas às de *T. solium*, porém pode ser facilmente mantida em laboratórios e manipulada *in vitro* e *in vivo*. Em condições naturais, *Taenia crassiceps* tem como hospedeiros

definitivos raposas, marmotas, lobos e cães, e como hospedeiros intermediários ratos de campo, pequenos roedores e camundongos BALB/c (LOOS-FRANK, 2000). Assim, é um modelo adequado para estudar os aspectos da cisticercose humana (WILLMS; ZURABIAN, 2010).

Taenia crassiceps induz uma resposta imune do tipo Th2 estereotipada no hospedeiro. Essa resposta é caracterizada pela secreção de citocinas anti-inflamatórias, como IL-4 e IL-13, juntamente com outras citocinas como IL-6, IL-9, IL-10, IL-25, IL-33 e TGF-B (PEÓN; ESPINOZA-JIMÉNEZ; TERRAZAS, 2013). Essas citocinas promovem alterações no recrutamento e ativação de leucócitos, incluindo a diferenciação de linfócitos T CD4+ em subconjuntos Th2 e células T reguladoras, ativação de células B produtoras de IgG1 e IgE, e aumento de eosinófilos, basófilos e mastócitos (PEÓN; ESPINOZA-JIMÉNEZ; TERRAZAS, 2013).

Sendo usado como modelo animal, o cisticerco de *Taenia crassiceps* é mantido através de passagens intraperitoneais seriadas de cistos da cavidade peritoneal de camundongos BALB/c infectados, a reprodução para novos camundongos ocorre por brotamento (WILLMS; ZURABIAN, 2010).

Existem estudos sobre a toxoplasmose associada a doenças infecciosas relacionadas a vírus, como por exemplo a toxoplasmose cerebral, que é mais frequente e apresenta maiores riscos em pacientes infectados pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) e com síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS) (CORREA-ACOSTA et al., 2018). Em contrapartida, não existem muitos estudos sobre o complexo teníase-cisticercose, e estudos sobre o impacto que duas infecções parasitárias exercem na expressão do sistema imunológico são muito escassos. Por esses motivos, tornam-se necessário estudos que proponham qual o impacto que a tênia e seu mecanismo de modulação da resposta imunológica do hospedeiro podem ter em modelo de interface materno-fetal envolvendo *Toxoplasma gondii*.

2 OBJETIVOS

- Avaliar o papel do extrato salino (ES) de cisticercos de *Taenia crassiceps* na infecção de *Toxoplasma gondii* em células trofoblásticas humanas vilosas da linhagem BeWo.
- Analisar o efeito do ES de *Taenia crassiceps* na viabilidade celular de BeWo;
- Avaliar o ES de *Taenia crassiceps* na proliferação de *Toxoplasma gondii* nas células trofoblásticas;
- Mensurar a produção de citocinas no sobrenadante de células BeWo infectadas ou não por *Toxoplasma gondii* e estimuladas com ES de *Taenia crassiceps*.

3 METODOLOGIA

3.1 Obtenção dos cisticercos e preparação do extrato salino

O Laboratório de Diagnóstico de Parasitoses (LADIPAR) possui estoque de cisticercos de *Taenia crassiceps* obtidos via protocolo CEUA/UFU 094/16. A manutenção experimental da cepa de *T. crassiceps* foi realizada em camundongos fêmeas da linhagem BALB/c na Rede de Biotérios de Roedores (REBIR) da Universidade Federal de Uberlândia (UFU).

O extrato salino (ES) dos metacestódeos foi preparado de acordo com Silva et al. (2017). As formas larvais foram ressuspensas em solução salina tamponada com fosfato (PBS; 0,01 mol/L, pH 7,2), acrescentando um coquetel de inibidores de protease (mini-ULTRACcomplete, Roche, Alemanha). Utilizando um macerador, um pilão e nitrogênio líquido, os cisticercos foram rompidos em cinco ciclos de maceração, adicionando o nitrogênio no início de cada um. Por fim, foram adicionados 2,5 mL de PBS e o conteúdo foi centrifugado (12400 x g, 30 min, 4°C) e recolhido o sobrenadante (ES). A dosagem proteica foi realizada usando o método de Lowry et al. (1951). O extrato salino foi armazenado a -20°C até o uso.

3.2 Cultura e manutenção das células BeWo

As células trofoblásticas humanas da linhagem BeWo foram descongeladas, lavadas e ressuspensas. Após esse processo, foram colocadas em frascos estéreis para cultura com meio de cultivo Roswell Park Institute 1640 (RPMI 1640), 10 % soro fetal bovino e 1% de antibióticos (10.000 U/ml de penicilina e 10 mg/ml de estreptomicina). Elas foram incubadas em uma estufa de cultura a 37°C e 5% de CO₂. Para manter a viabilidade das células, foi necessário realizar uma repicagem cerca de duas vezes por semana. Para o repique, as garrafas foram tratadas com tripsina, 0,25% de ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) e colocadas durante 5 min dentro da estufa de cultura. Depois, foi adicionado meio suplementado com 10% de soro fetal bovino para a inativação da tripsina e a lavagem das células. As células foram transferidas para tubos de 15 mL e centrifugadas por 5 min em temperatura ambiente. Após a

centrifugação, foi feita a contagem celular usando a câmera de Neubauer onde foram contados os 4 quadrantes laterais. Após a contagem o sobrenadante foi descartado e o sedimento foi ressuspenso com meio completo. Por fim, metade dessa solução foi colocada novamente na garrafa.

3.3 Cultura e manutenção do *Toxoplasma gondii*

A cultura e manutenção do *Toxoplasma gondii* foi feita com o seu estágio de taquizoítos da cepa RH (alta virulência), mantidos em frascos de cultura contendo células BeWo e incubadas na estufa de cultura (37°C, 5% CO₂). À medida que essas células sofriam lise do parasito, o meio que estava com os taquizoítos foi transferido para tubos de 15 mL e centrifugado por 5 minutos. Após a centrifugação, foi feita a contagem utilizando a câmara de Neubauer contando o quadrante do meio. Após a contagem o sobrenadante foi descartado e o sedimento contendo os parasitos foi homogeneizado e colocado novamente na garrafa contendo células não-infectadas.

3.4 Ensaio de viabilidade celular

O ensaio de viabilidade celular foi realizado para avaliar o efeito do ES de *Taenia crassiceps* na proliferação das células da linhagem BeWo. Esse ensaio seguiu o protocolo de Mosmann (1983) e é baseado na conversão do sal tetrazólio (MTT) (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio) em formazan.

Uma quantidade de 3x10⁴ de células BeWo foi colocada em cada poço de placas de cultura de 24 poços, juntamente com meio RPMI e 10% de soro fetal bovino. As placas foram incubadas por 24 horas em estufa (37°C, 5% CO₂) e foram tratadas em diluição seriada com concentrações decrescentes de extrato salino de *T. crassiceps* (64; 32; 16; 8; 4; 2; 1; 0,5; 0,25; 0,125 µg/ml) durante 24 horas. Como controle, células BeWo foram tratadas apenas com o meio RPMI e 10% de soro fetal bovino.

Após 24 horas de tratamento, as placas foram incubadas com MTT (5 mg/ml) juntamente com meio RPMI e 10% de soro fetal bovino, durante 4 horas.

Após o tempo de incubação, os sobrenadantes foram removidos e os cristais de formazan foram solubilizados com 100 µL de solução contendo SDS 10% e N,N-dimetilformamida 50%, seguindo o protocolo de Mosmann. Posteriormente, a absorbância foi medida pela leitura da densidade óptica (DO) em um leitor de microplacas (Titertek Multiskan Plus, Flow Laboratories, EUA) com comprimento de onda de 570 nm.

3.5 Ensaio de proliferação

O ensaio de proliferação foi realizado para avaliar o *Toxoplasma gondii*, após o tratamento com extrato salino de *Taenia crassiceps*. O ensaio foi realizado com base na expressão da β-galactosidase (β-gal), que funciona como uma marcador de proliferação celular do parasito modificado. A proliferação de *Toxoplasma gondii* foi analisada utilizando o ensaio colorimétrico de β-galactosidase. Esse ensaio é fundamentado na clivagem do substrato clorofenol vermelho-β-D-galactopiranósideo (CPRG) pela enzima β-galactosidase, que acarreta a formação de galactose e de cromóforo vermelho de clorofenol, detectável por espectrofotometria a 570 nm (TONINI; STEIDEL, 2013).

Células BeWo (3×10^4 células/poço) foram plaqueadas em placas de 24 poços juntamente com RPMI e 10% de soro fetal bovino. As células foram mantidas durante 24 horas na estufa e, após esse tempo, foram infectadas com taquizoítos de *Toxoplasma gondii* em meio RPMI e 10% de soro fetal bovino. Após 3 horas de infecção, as placas foram lavadas com meio de cultura incompleto (sem soro fetal bovino) - para remover os parasitos que estavam fora das células - e foram tratadas com as concentrações não citotóxicas do extrato salino de *T. crassiceps*. As células BeWo foram tratadas com sulfadiazina (SDZ) + pirimetamina (PIR; 200 + 8 µg/ml, respectivamente).

As placas foram centrifugadas 24 horas após o tratamento e, em seguida, foram adicionados 100 µL de tampão de lise RIPA por poço [50 mM de Tris-HCl, 150 mM de NaCl, 1% de Triton X-100, 1% de deoxicícolato de sódio e 0,1% de dodecil sulfato de sódio (SDS), pH 7.5] por 15 minutos à temperatura ambiente. Foram adicionados, após esse tempo, 160 µL de tampão de ensaio (100 mM de

tampão fosfato, pH 7,3, 102 mM de β -mercaptoetanol, 9 mM de MgCl₂) e 40 μ L do substrato CPRG (Roche, EUA), e foi incubada no escuro à temperatura ambiente por 15 min.

Para efeito de visualização qualitativa do fenômeno de proliferação, também foram preparadas lamínulas. Para o ensaio em lamínula, as células BeWo foram cultivadas em uma placa de 24 poços, com uma lamínula em cada. Após a realização dessa etapa, as células presentes em cada poço foram fixadas com uma solução de formaldeído a 4% por 2 horas e, em seguida, lavadas com PBS para remover o fixador e resíduos do meio de cultura. As lâminas onde foram colocadas a lamínula foram limpas com álcool, e o sobrenadante presente nos poços da placa foi retirado. As lamínulas foram retiradas dos poços com a ajuda de uma agulha e foram mergulhadas no azul de toluidina por cerca de 40 segundos; após esse tempo, foram mergulhadas na água para retirar o excesso e conferidas no microscópio. Por fim, após a secagem das lamínulas, elas foram fixadas à lâmina usando uma solução de Entellan.

3.6 Dosagem de citocinas

O ELISA foi realizado com kits comerciais, utilizando os sobrenadantes das culturas de células BeWo infectadas e não infectadas com *Toxoplasma gondii*. Esses sobrenadantes foram tratados respectivamente com 32 μ g/ml ou 8 μ g/ml. Os níveis das citocinas IL-6, IL-8, IL-10 e MIF foram usados para as avaliações. As concentrações das citocinas em cada uma das amostras foram quantificadas a partir de curvas padrão, cada uma com os limites mínimos de detecção: IL-6 (4,7 pg/ml), IL-8 (3,125 pg/ml), IL-10 (7,81 pg/ml) e MIF (31,25 pg/ml). Foram realizados três experimentos independentes e as concentrações de citocinas foram expressas em pg/ml.

3.7 Análise estatística

Os dados submetidos à análise no *GraphPad Prism® Version 9.5*, onde os *outliers* foram identificados utilizando o método de ROUT, com Q=10%. Após a verificação da distribuição de normalidade, os dados paramétricos foram

analisados pelo teste ANOVA, seguido por um pós-teste de múltiplas comparações.

Para a comparação com o controle negativo (C), foi utilizado o teste de múltiplas comparações de Dunnett para as seguintes finalidades: (a) viabilidade celular com as concentrações variando de 64 a 0,125 µg/ml de ES; (b) proliferação do *T. gondii* usando as concentrações sulfadiazina e pirimetamina (SP), 32, 8, 2, 0,5 e 0,125 µg/ml; e (c) níveis de citocina de cada uma das concentrações (SP, 32 e 8 µg/ml).

Os valores de proliferação do *T. gondii* foram divididos pela média do controle (C) e expressos como a razão da condição/controle. Para as análises das citocinas, a razão também foi calculada em relação ao controle (C) e comparada com as condições das placas infectadas e não infectadas utilizando o teste *T de Student*. Os dados foram expressos como a média e desvio padrão (DP), e valores de P < 0,05 foram considerados estatisticamente significativos.

4 RESULTADOS

4.1 Extrato salino de *Taenia crassiceps* não altera a viabilidade das células BeWo

Para avaliar o potencial efeito tóxico do extrato salino (ES) de *Taenia crassiceps* nas células da linhagem BeWo, foi realizado o ensaio de viabilidade celular, que se baseia na conversão do sal tetrazólio (MTT) (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio) em formazan. A absorbância das placas foi medida por leitura de densidade óptica (DO) em um leitor de microplacas, e os dados obtidos foram submetidos à análise estatística.

Foram testadas concentrações seriadas de ES, variando de 64; 32; 16; 8; 4; 2; 1; 0,5; 0,25 e 0,125 µg/ml. Essas concentrações não apresentaram diferença significativa na viabilidade celular quando comparadas ao controle, como observado na Figura 1, indicando que o extrato salino não foi tóxico para as células BeWo. Devido a esse resultado, optou-se por utilizar as concentrações de 32, 8, 2, 0,5 e 0,125 µg/ml para os experimentos de proliferação.

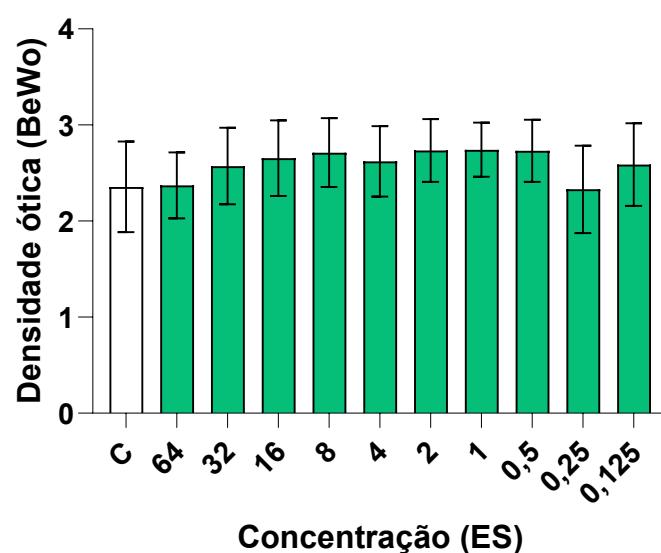


Figura 1 – Viabilidade celular. Efeito de diferentes concentrações do extrato salino (ES) de *Taenia crassiceps* sobre a célula BeWo – dados dos dois primeiros experimentos.

Valores representam a média \pm desvio padrão do ensaio MTT. C = controle sem tratamento; os números no eixo x indicam as concentrações do extrato em $\mu\text{g/mL}$.

4.2 Extrato salino de *Taenia crassiceps* em concentrações específicas reduz a proliferação de *Toxoplasma gondii* em células BeWo

O ensaio de proliferação foi realizado para avaliar o efeito do extrato salino de *Taenia crassiceps* na proliferação de *Toxoplasma gondii*. A análise da proliferação foi feita utilizando o ensaio colorimétrico de β -galactosidase, seguido por espectrofotometria e análise estatística. Para fins de visualização qualitativa, também foi realizado o ensaio em lamínula.

As análises estatísticas do ensaio de proliferação demonstraram uma redução na proliferação de *T. gondii* quando as células BeWo foram tratadas com as concentrações de 32 e 8 $\mu\text{g/mL}$ do extrato salino (Figura 2). Esse efeito foi similar ao observado com o tratamento padrão de sulfadiazina e pirimetamina (SP), utilizado como controle positivo. Imagens representativas do ensaio (Figura 3 A–D) mostram a redução nas marcações dos vacúolos parasitóforos no controle positivo (SP) e nas células tratadas com ES (32 e 8 $\mu\text{g/mL}$).

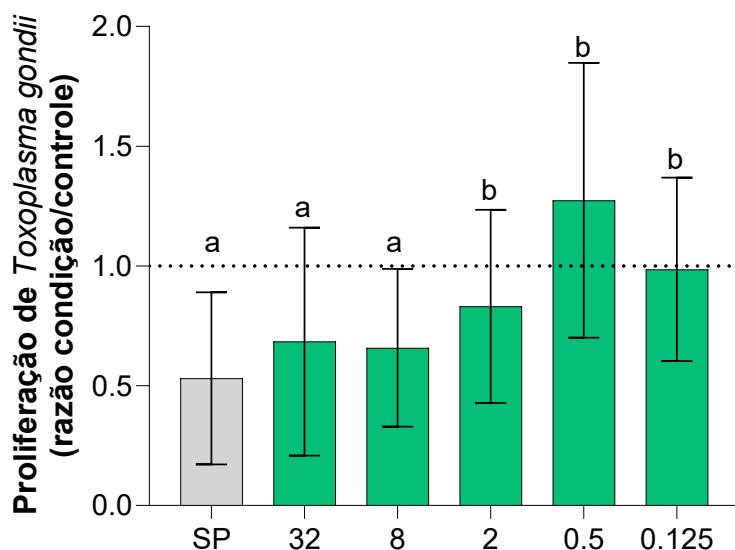


Figura 2. Proliferação de *Toxoplasma gondii*. Quantificação de taquizoítos intracelulares usando um ensaio de β -galactosidase. Células BeWo infectadas com *T. gondii* foram tratadas por 24 horas com um extrato salino de cisticercos de *Taenia crassiceps* (32, 8, 2, 0,5 e 0,125 $\mu\text{g/ml}$). Controles: negativo (C) – células BeWo infectadas apenas com meio, e positivo (SP) – tratamento com sulfadiazina + pirimetamina. Os dados são apresentados como a razão de cada condição para a média do controle negativo (C).

Diferenças significativas foram determinadas por ANOVA unidirecional seguida por pós-testes de comparação múltipla. Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ($P < 0,05$).

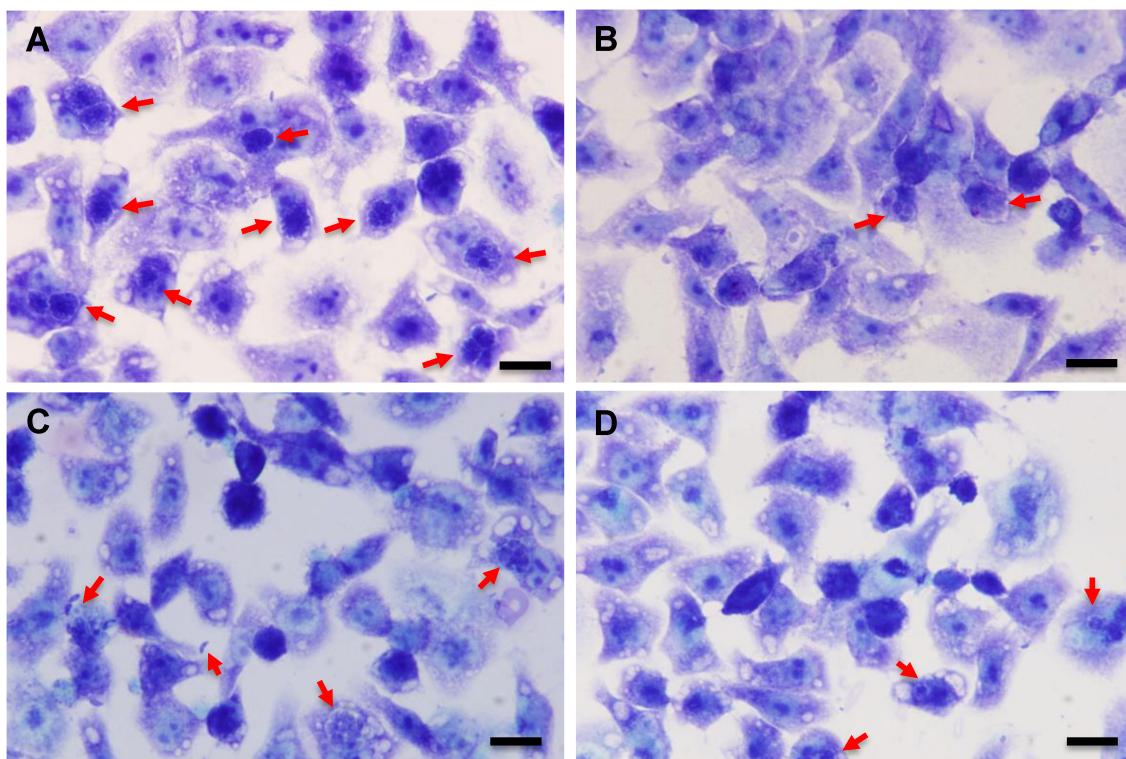


Figura 3. A-D. Fotomicrografias representativas do ensaio de proliferação de *Toxoplasma gondii*: células tratadas com C (A), SP (B) e extrato salino de cisticercos de *Taenia crassiceps* (C - 32 µg/ml, D - 8 µg/ml). Coradas com azul de toluidina; barra de escala – 20 µm. A seta indica o vacúolo parasitóforo.

4.3 O estímulo com o extrato salino de *Taenia crassiceps* aumenta a produção de IL-10 em células infectadas

A dosagem de citocinas foi avaliada em três experimentos independentes utilizando o ensaio imunoenzimático quantitativo (ELISA). As concentrações de IL-10 e outras citocinas avaliadas foram quantificadas a partir de curvas padrão.

Foi observado que a produção de IL-10 não apresentou resultados significativos em células BeWo não infectadas por *T. gondii*. No entanto, nas células infectadas, constatou-se um aumento significativo na produção de IL-10 nas concentrações de 32 e 8 µg/mL do extrato salino (Figura 4 C).

4.4 Razão das outras citocinas (MIF, IL-6 e IL-8)

Para as demais citocinas avaliadas (IL-6, IL-8 e MIF), não foram observadas diferenças significativas nas concentrações de ES testadas. Exceção feita à MIF, cuja produção foi maior em células não infectadas por *T. gondii* quando comparada às células infectadas e tratadas com SP.

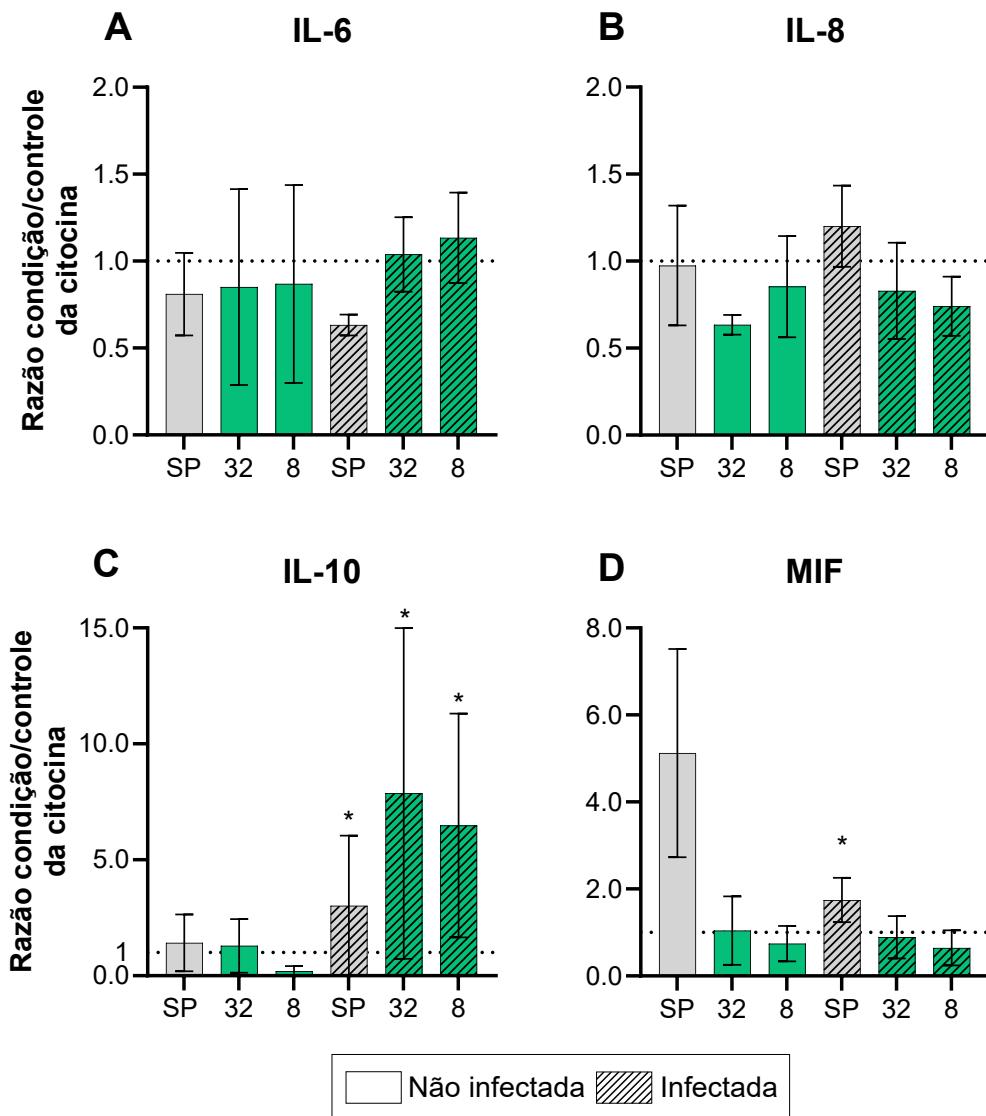


Figura 4. Análise das citocinas IL-6 (A), IL-8 (B), IL-10 (C) e MIF (D) nos sobrenadantes de células BeWo, não infectadas ou infectadas com *Toxoplasma gondii*, nas seguintes condições: controle negativo (C); controle positivo (SP; sulfadiazina + pirimetamina); tratadas com o extrato salino de cisticercos de *Taenia crassiceps* (ES; 32 e 8 µg/ml). A análise foi realizada por meio de ELISA. Os resultados foram expressos como a razão de cada condição em relação à média do controle negativo (C). As condições infectadas e não infectadas foram comparadas utilizando o teste t de Student; *P < 0,05.

5 DISCUSSÃO

A interação entre infecções helmínticas e outras doenças infecciosas é complexa, e há uma necessidade crescente de estudos para compreender como as coinfecções podem influenciar a evolução das doenças (LEBU et al., 2023). Este estudo investigou o efeito do extrato salino (ES) de cisticercos de *Taenia crassiceps* na infecção por *Toxoplasma gondii* em células trofoblásticas humanas da linhagem BeWo, um modelo valioso da interface materno-fetal. A imunomodulação causada por *T. crassiceps* pode impactar infecções subsequentes.

Em nossos achados, a produção de MIF foi maior em células não infectadas por *T. gondii* quando comparada àquelas que foram infectadas e tratadas com sulfadiazina e pirimetamina (SP). Para as demais citocinas pró-inflamatórias avaliadas, como IL-6 e IL-8, não houve diferenças significativas nas concentrações testadas do ES, tanto em culturas infectadas quanto em não infectadas com o extrato salino. A IL-8, especificamente, atua como uma quimiocina que atrai células imunes para a interface materno-fetal (McDONALD et al., 2013).

Um dos achados mais relevantes deste estudo foi o aumento significativo de IL-10 em células infectadas com *T. gondii* após estímulo com o extrato salino. A IL-10 é uma citocina regulatória, conhecida por sua função na polarização imunológica e no controle da inflamação desencadeada durante infecções por helmintos (FIGUEIREDO et al., 2010; CHETTY et al., 2020). Esses dados são corroborados por estudos que relatam altos níveis de IL-10 em coinfecções, como *Plasmodium-Schistosoma* e *Plasmodium-Ancylostoma* em humanos (BUSTINDUY et al., 2015). O "efeito duplo" observado neste estudo — controle do parasita e aumento da IL-10 — sugere um mecanismo imunomodulatório complexo.

Aprofundando nos mecanismos, foi demonstrado que抗ígenos excretados/secretados (E/S) de *Taenia crassiceps* podem comprometer a produção de citocinas pró-inflamatórias (como IL-12 e TNF- α) em células dendríticas expostas a抗ígenos solúveis de *Toxoplasma gondii*, enquanto mantêm a secreção de IL-10 (TERRAZAS et al., 2010). Em um contexto similar, na coinfecção crônica com *Plasmodium*,抗ígenos de *T. crassiceps* aumentaram

os níveis de IL-10 e IL-4 em macrófagos e esplenócitos. Isso resultou em uma resposta imune mista que reduziu a replicação do parasito e prolongou a sobrevida em camundongos coinfetados (SALAZAR-CASTAÑÓN et al., 2018). A resposta imune clássica desencadeada por helmintos é caracterizada por uma modulação Th2 e/ou respostas imunes regulatórias, envolvendo citocinas como IL-4, IL-5, IL-9, IL-10 e IL-13 (ANTHONY et al., 2007; PEÓN; ESPINOZA-JIMÉNEZ; TERRAZAS, 2013). A infecção por *T. crassiceps* induz uma resposta Th1 inicial e transitória, que posteriormente se desloca para uma resposta Th2 (TERRAZAS; BOJALIL; GOVEZENSKY, 1998).

Contudo, ainda há considerável controvérsia sobre os efeitos de helmintos na suscetibilidade ou resistência a *T. gondii*. Modelos murinos experimentais de coinfecções fornecem exemplos variados: a coinfecção com *Trypanosoma cruzi* pôde atrasar a parasitemia em estágios iniciais, mas infecções crônicas por *T. crassiceps* aumentaram significativamente a suscetibilidade (RODRÍGUEZ; TERRAZAS; MÁRQUEZ, 1999). Infecções prévias de camundongos com *T. crassiceps* exacerbaram a carga parasitária de *Leishmania spp.* e induziram lesões cutâneas maiores durante as coinfecções (RODRÍGUEZ-SOSA et al., 2006). Por outro lado, a coinfecção com *Trichinella spiralis* e *T. gondii* resultou em uma infecção protozoária mais branda e menores níveis de anticorpos anti-*Toxoplasma* (AFIFI et al., 1999), com *T. gondii* suprimindo a resposta Th2 induzida por *Trichinella* e sem alteração significativa na carga de cistos cerebrais (HAMED et al., 2023). Em contraste, a infecção concorrente com *Heligmosomoides bakeri* em camundongos falhou em estabelecer imunidade de células T CD8+ contra *T. gondii*, e a parasitemia permaneceu inalterada ou até aumentou, associada a maiores taxas de mortalidade e alterações no perfil de citocinas (AHMED et al., 2017; SZABO et al., 2024). Nossos resultados, por sua vez, demonstraram uma menor proliferação de *T. gondii* nas células BeWo, um modelo da interface materno-fetal, após a exposição ao extrato salino de *T. crassiceps*.

O aumento de IL-10 induzido por helmintos levanta a importante questão de como isso altera o curso das infecções por protozoários. Embora o aumento de IL-10 e outras citocinas regulatórias seja essencial para o sucesso gestacional e frequentemente induzido por helmintos, ele pode desequilibrar as respostas imunes necessárias em cenários de coinfecção. Protozoários parasitos, como *T.*

gondii, tipicamente dependem de uma resposta pró-inflamatória robusta para seu controle e eliminação. Portanto, a super-regulação da IL-10 poderia potencialmente dificultar a capacidade do hospedeiro de combater infecções protozoárias de forma eficaz. No entanto, neste estudo, observamos uma redução na carga parasitária de *T. gondii*, apesar do aumento nos níveis de IL-10 induzido pelo extrato salino de *T. crassiceps*. Isso sugere que os efeitos imunomoduladores do extrato salino podem envolver mecanismos além de simplesmente alterar o balanço de citocinas. Por exemplo, o extrato salino pode potencializar a atividade fagocitária ou a produção de anticorpos específicos, o que poderia compensar a resposta pró-inflamatória atenuada. Alternativamente, o extrato salino pode interferir diretamente na sobrevivência ou replicação do parasito através de vias ainda a serem descobertas.

Este estudo apresenta algumas limitações, como o uso de um modelo *in vitro* e a potencial variabilidade no extrato antigênico. No entanto, os resultados obtidos contribuem significativamente para a compreensão das coinfecções com *Taenia crassiceps* e *T. gondii*, particularmente na interface materno-fetal. As coinfecções entre helmintos e outras doenças infecciosas representam desafios substanciais para as estratégias de tratamento e controle, visto que o viés imunológico induzido por helmintos pode aumentar a suscetibilidade a outras infecções e tornar a eliminação dos parasitos muito mais difícil (LEBU et al., 2023). Essas implicações se estendem ao desempenho de testes diagnósticos, à eficácia de medicamentos e às interações medicamentosas durante o tratamento (GRAHAM et al., 2007). Por exemplo, o tratamento padrão da toxoplasmose com sulfadiazina e pirimetamina atua na via de síntese de ácido fólico e na di-hidrofolato redutase, respectivamente, processos decisivos para o metabolismo do *T. gondii*. Compreender como os抗ígenos derivados de helmintos interagem com esses medicamentos é essencial para otimizar os protocolos de tratamento. Pesquisas futuras devem explorar aspectos como a duração da infecção, as cepas dos parasitos, a fonte antigênica e o uso de diferentes modelos (por exemplo, vilosidades placentárias ou outras linhagens celulares) para uma compreensão mais aprofundada das interações envolvidas. Estudos *in vivo* são decisivos para explorar o potencial terapêutico dos抗ígenos de *T. crassiceps*, especialmente no contexto das interações medicamentosas e da transmissão vertical da toxoplasmose. Essa abordagem se alinha com a

necessidade de estratégias de controle parasitário novas e eficazes que gerenciem coinfecções sem comprometer o sucesso gestacional.

O MIF (fator inibidor da migração de macrófagos) é uma citocina pró-inflamatória essencial tanto para a imunidade inata quanto adaptativa, produzida por várias células, incluindo as células BeWo. Essa citocina desempenha um papel fundamental no controle de infecções por protozoários (TERRAZAS et al., 2017). Em nosso estudo, o resultado aponta que a produção de MIF foi maior em células não infectadas por *T. gondii* comparado às infectadas e tratadas com SP, e que não houve diferenças com as concentrações de ES testadas. Por outro lado, as citocinas IL-6 e IL-8, também pró-inflamatórias, não apresentaram alterações significativas em relação à infecção por *T. gondii*. A IL-8, em particular, atua como uma quimiocina, atraindo células imunológicas para a interface materno-fetal (McDONALD et al., 2013).

Estudos sobre coinfecções fornecem uma perspectiva mais próxima das condições *in vivo*, ao contrário dos resultados obtidos em estudos controlados com patógenos únicos (SZABO, 2024). Pesquisas adicionais são necessárias para explorar os mecanismos que resultaram na redução da proliferação de *T. gondii* em células BeWo após o estímulo com o extrato salino de *T. crassiceps*, bem como os níveis elevados de IL-10. Aspectos como a duração da infecção, as cepas dos parasitos, a fonte antigênica e o uso de diferentes modelos – como vilosidades placentárias ou outras linhagens celulares – podem ajudar a esclarecer melhor essas interações.

6 CONCLUSÃO

- O extrato antigênico de *Taenia crassiceps* foi capaz de reduzir a proliferação de *Toxoplasma gondii* em células trofoblásticas humanas e aumentou a produção de IL-10;
- Esses achados contribuem para o entendimento da coinfecção de *Taenia* sp. e *T. gondii*, particularmente na interface materno-fetal;
- Estudos *in vivo* podem permitir explorar o potencial terapêutico dos抗ígenos de *T. crassiceps*, especialmente no contexto das interações medicamentosas e da transmissão vertical da toxoplasmose;
- É importante ressaltar que essa abordagem está alinhada com a necessidade de desenvolver estratégias de controle parasitário novas e eficazes estratégias para gerenciar coinfecções que não comprometam o sucesso gestacional;
- Houve a redução de proliferação de *Toxoplasma gondii* nas concentrações 32 e 8 podendo abrir margem para o estudo de concentrações maiores
- Pode ser relevante testar com *Taenias* que de fato parasitam seres humanos, afim de tentar replicar resultados parecidos.

REFERÊNCIAS

- ACEVEDO-NIETO, E. C. et al. Prevalência e fatores de risco para cisticercose suína em comunidades rurais do leste de Minas Gerais. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 37, n. 9, p. 905–910, 2017.
- AFIFI, M. A. et al. Reciprocal heterologous protection between *Trichinella spiralis* and *Toxoplasma gondii* concurrently present in experimental murine models. **Journal of the Egyptian Society of Parasitology**, v. 29, n. 3, p. 963–978, 1999.
- AHMED, N. et al. *Toxoplasma* co-infection prevents Th2 differentiation and leads to a helminth specific Th1 response. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 7, p. 341, 2017.
- ALVES, G. G.; NEVES, J. T.; FERREIRA, C. S. Toxoplasmose: uma abordagem dos aspectos clínicos e biológicos. **Revista de Trabalhos Acadêmicos – Universo Belo Horizonte**, v. 1, n. 5, 2021.
- ANTHONY, R. M. et al. Protective immune mechanisms in helminth infections. **Nature Reviews Immunology**, v. 7, n. 12, p. 975–987, 2007.
- BASTOS, E. F. Comunicação de risco em cisticercose suína: revisão de literatura. **Revista Científica Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento**, v. 4, n. 4, p. 97-119, 2019.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 204, de 17 de fevereiro de 2016. Dispõe sobre a notificação compulsória de casos de toxoplasmose gestacional e congênita no Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN). *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 2016. Disponível em: https://portalsinan.saude.gov.br/images/documentos/Portarias/Portaria_204.pdf.
- BUSTINDUY, A. L. et al. Age-stratified profiles of serum IL-6, IL-10, and TNF- α cytokines among Kenyan children with *Schistosoma haematobium*, *Plasmodium falciparum*, and other chronic parasitic co-infections. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 9, n. 8, e0003963, 2015.

BUSCHMANN, L. C. **Revisão bibliográfica acerca da cisticercose humana com ênfase para neurocisticercose.** 2011. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2011.

CARPIO, A.; ROMO, M. L.; DEL BRUTTO, O. H. Update on the diagnosis and management of neurocysticercosis. **Therapeutic Advances in Neurological Disorders**, v. 16, p. 1-21, 2023.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. DPDx – Parasites A–Z Index: *Taenia solium* (Cysticercosis). 2019. Disponível em: <https://www.cdc.gov/dpdx/cysticercosis/index.html>.

CHETTY, A. et al. Impact of helminth infections on female reproductive health and associated diseases. **Frontiers in Immunology**, v. 11, p. 577516, 2020.

CHIEFFI, P. P.; SANTOS, S. V. Teníase–cisticercose: uma zoonose negligenciada. **Arquivos Médicos dos Hospitais e da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo**, p. 1–8, 2020.

CORREA-ACOSTA, A.; MUÑOZ-CARDONA, M. L. Fotopsias como manifestación inicial de Sida secundario a toxoplasmosis cerebral: reporte de caso. **Iatreia**, v. 31, n. 4, p. 407–411, 2018.

DA SILVA, L. R. et al. Complexo teníase cisticercose: uma breve abordagem sobre a doença. **Anais de Medicina Veterinária**, v. 2, n. 1, p. 17–20, 2022.

DA SILVA, R. J. et al. Enrofloxacin and toltrazuril are able to reduce *Toxoplasma gondii* growth in human BeWo trophoblastic cells and villous explants from human third trimester pregnancy. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 7, p. 340, 2017.

DE MORAES, C. F. G. Toxoplasmose congênita. **Atas de Ciências da Saúde**, v. 10, n. 4, 2022.

DINIZ, E. M. A.; VARGAS, N. S. O.; VAZ, F. A. C. **Toxoplasmose congênita.** 2022. São Paulo: Atheneu; 2022.

SANTOS, B. M.; RIBEIRO, E. L. S.; LIMA, M. S. Toxoplasmose gestacional: um estudo epidemiológico. **Revista JRG de Estudos Acadêmicos**, Brasil, São Paulo, v. 6, n. 13, p. 674–687, 2023.

FIGUEIREDO, F. G. et al. IL-10 serum levels in BALB/c mice with acute *Toxoplasma gondii* infection. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v. 16, n. 3, p. 423–430, 2010.

FIOCRUZ. Doenças tropicais negligenciadas afetam 1 bilhão. Portal Fiocruz. Disponível em: <https://agencia.fiocruz.br/doencas-tropicais-negligenciadas-afetam-asilenciosamente-a-1-bilhao-de-pessoas>.

FITZGERALD, D.; SCHULTZ, A.; SMITH, J. Governing the invasive trophoblast: current aspects on intra- and extracellular regulation. **American Journal of Reproductive Immunology**, v. 60, n. 5, p. 363–375, 2010.

FUJISAWA, K. et al. Production of interleukin (IL)-6 and IL-8 by a choriocarcinoma cell line, BeWo. **Placenta**, v. 21, n. 4, p. 354–360, 2000.

GRAHAM, A. L. et al. Transmission consequences of coinfection: cytokines write large? **Trends in Parasitology**, v. 23, n. 6, p. 284–291, 2007.

GUIMARÃES, R. R. et al. Neurocisticercose: atualização sobre uma antiga doença. **Revista Neurociências**, v. 18, n. 4, p. 581–594, 2010.

HAMED, E. F. A. et al. *Toxoplasma gondii* suppresses Th2 induced by *Trichinella spiralis* infection and downregulates serine protease genes expression: a critical role in vaccine development. **Iranian Journal of Parasitology**, v. 18, n. 2, p. 172–181, 2023.

LEBU, S.; KIBONE, W.; MUOGHALU, C. C.; OCHAYA, S.; SALZBERG, A.; BONGOMIN, F.; MANGA, M. Soil-transmitted helminths: a critical review of the impact of co-infections and implications for control and elimination. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 17, n. 8, e0011496, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0011496>

- LOOS-FRANK, B. An up-date of Verster's (1969) Taxonomic revision of the genus *Taenia* Linnaeus' (Cestoda) in table format. **Systematic Parasitology**, v. 45, n. 3, p. 155-184, 2000.
- LOWRY, O. H. et al. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**, v. 193, p. 265–275, 1951.
- MCDONALD, E. A. et al. Schistosome egg antigens elicit a proinflammatory response by trophoblast cells of the human placenta. **Infection and Immunity**, v. 81, n. 3, p. 704–712, 2013.
- MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunological Methods**, v. 65, n. 1–2, p. 55–63, 1983.
- NEVES, D. P. **Parasitologia Humana**. 14. ed. São Paulo: Atheneu, 2022.
- PEÓN, A. N.; ESPINOZA-JIMÉNEZ, A.; TERRAZAS, L. I. Immunoregulation by *Taenia crassiceps* and its antigens. **BioMed Research International**, v. 2013, p. 498583, 2013.
- PRODJINOTHO, U. F.; LEMA, J.; LACORCIA, M.; SCHMIDT, V.; VEJZAGIC, N.; SIKASUNGE, C.; NGOWI, B.; WINKLER, A. S.; PRAZERES DA COSTA, C. Host immune responses during *Taenia solium* Neurocysticercosis infection and treatment. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 14, n. 4, e0008005, 2020.
DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008005>.
- RODRÍGUEZ, F.; TERRAZAS, L. A.; MÁRQUEZ, G. Susceptibility to *Trypanosoma cruzi* is modified by a previous non-related infection. **Parasitology Research**, v. 85, n. 3, p. 194–200, 1999.
- RODRÍGUEZ-SOSA, M. et al. Acute cysticercosis favours rapid and more severe lesions caused by *Leishmania major* and *Leishmania mexicana* infection, a role for alternatively activated macrophages. **Parasite Immunology**, v. 28, n. 1, p. 1–10, 2006.
- ROBERTS, L. S.; JANOVY JR, J.; NADLER, S. **Foundations of Parasitology**. New York: McGraw-Hill Education, 2012.

SALAZAR-CASTAÑÓN, J. et al. Co-infection: the outcome of *Plasmodium* infection differs according to the time of pre-existing helminth infection.

Parasitology International, v. 67, n. 5, p. 501–508, 2018.

SZABO, E. K. et al. *Heligmosomoides bakeri* and *Toxoplasma gondii* co-infection leads to increased mortality associated with changes in immune resistance in the lymphoid compartment and disease pathology. **PLoS One**, v. 19, n. 7, e0292408, 2024.

TERRAZAS, C.; STOCK, J. C.; KIMBLE, J.; MORETTI, E.; VARIKUTI, S.; SATOSKAR, A. R. The role of MIF in parasitic infections. In: BUCALA, R.; BERNHAGEN, J. (org.). MIF Family Cytokines in Innate Immunity and Homeostasis. **Cham: Springer International Publishing**, 2017. p. 203–219.

TERRAZAS, L. A.; BOJALIL, R.; GOVEZENSKY, T. Shift from an early protective Th1-type immune response to a late permissive Th2-type response in murine cysticercosis (*Taenia crassiceps*). **Infection and Immunity**, v. 66, n. 6, p. 2731–2739, 1998.

TERRAZAS, L. A. et al. Impaired pro-inflammatory cytokine production and increased Th2-biasing ability of dendritic cells exposed to *Taenia* excreted/secreted antigens: a critical role for carbohydrates but not for STAT6 signaling. **Immunology**, v. 130, n. 4, p. 482–491, 2010.

TOLEDO, R. C. C. et al. Complexo teníase/cisticercose: uma revisão. **Higiene Alimentar**, v. 32, n. 282, p. 30–34, 2018.

TONINI, M. L., STEINDEL, M. **Desenvolvimento de um teste colorimétrico para triagem da atividade de compostos utilizando Leishmania amazonensis expressando a enzima betagalactosidase**. Tese de Mestrado - Universidade Federal de Santa Catarina. Santa Catarina. 2013.

WEBB, C. et al. Neurocysticercosis in pregnancy. **American Journal of Perinatology Reports**, v. 8, n. 2, p. e51–e56, 2018.

WEGMANN, T. G. et al. Release of tumour necrosis factor- α from cytotrophoblastic BeWo cells in response to interleukin-1 β . **FEBS Letters**, v. 318, n. 2, p. 169–172, 1993.

WHITE, A. C. Jr. et al. Diagnosis and treatment of neurocysticercosis: 2017 clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society of Tropical Medicine and Hygiene (ASTMH). **Clinical Infectious Diseases**, v. 66, n. 8, p. e49–e75, 2018.

WILLMS, K.; ZURABIAN, R. *Taenia crassiceps*: *in vivo* and *in vitro* models. **Parasitology**, v. 137, n. 3, p. 335–346, 2010.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Taeniasis and cysticercosis** (Fact sheet no. 376). 2022. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/taeniasis-cysticercosis>.