

## PERFIL DE CITOCINAS EM GESTANTES COM SUSPEITA DE TOXOPLASMOSE AGUDA E EM INDIVÍDUOS ACOMETIDOS POR TOXOPLASMOSE OCULAR, NOROESTE DO PARANÁ

Amanda Hinobu de Souza (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Bruna Tiaki Tiyo (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Ana Lúcia Falavigna Guilherme (Orientador), e-mail: [alfalavignauem@gmail.com](mailto:alfalavignauem@gmail.com)

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas e da Saúde/Maringá, PR.

Área e subárea do conhecimento conforme tabela do [CNPq/CAPES](#):  
Ciências Biológicas - Parasitologia

**Palavras-chave:** *Toxoplasma gondii*, toxoplasmose congênita, coriorretinite.

### Resumo

A toxoplasmose é uma das zoonoses mais difundidas mundialmente, as formas mais graves podem ser observadas em indivíduos imunocomprometidos e em casos de infecção congênita. O *Toxoplasma gondii*, apresenta genótipos altamente diversos na América do Sul e os casos mais graves de coriorretinite por toxoplasmose. As citocinas estimulam a divisão celular e expansão clonal dos subconjuntos de células T e B, levando ao aumento da produção de anticorpos e/ou células T citotóxicas. Considerando que a imunomodulação da doença permite o escape do parasito e que este, contribui na modulação relacionada à síntese de citocinas, o objetivo deste trabalho foi avaliar o perfil de citocinas de gestantes com suspeita de toxoplasmose aguda e de indivíduos acometidos por toxoplasmose ocular, atendidos na 15ª Regional de Saúde do Paraná, Brasil. Após concordância do Termo de Consentimento foi coletado o sangue dos pacientes para as devidas análises. Foram determinadas no soro, as citocinas TGF- $\beta$ , TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  utilizando kit comercial ELISA. Foi realizado exame oftalmológico por médico oftalmologista especializado. As dosagens revelaram que os níveis de TGF- $\beta$  foram superiores em gestantes com baixa avidéz. Os níveis de TNF- $\alpha$  também foram elevados em gestantes em quadros agudos. Em relação ao IFN- $\gamma$ , os indivíduos com toxoplasmose ocular e gestantes crônicas apresentaram níveis semelhantes. Dentre os indivíduos em reagudização ocular, 75% (9/12) apresentaram lesão unilateral e 25 % (3/12) lesão bilateral. Fatores como a cepa do parasito, período gestacional, estado nutricional influenciam a resposta imune do hospedeiro, resultando em diferentes perfis de citocinas, como observado neste estudo.

### Introdução

A toxoplasmose é transmitida através da ingestão de oocistos esporulados presentes em água, frutas e verduras (estruturas eliminadas nas fezes de felídeos, hospedeiros definitivos), ingestão de cistos presentes em produtos de origem animal, crus ou mal passados e transmissão vertical pela passagem de taquizoítas, via transplacentária, em gestantes sob infecção aguda. As formas graves podem ser observadas em indivíduos imunocomprometidos e em casos de recém-nascidos com infecção congênita (MONTROYA; LIESENFELD, 2004). Os taquizoítas podem atingir o feto, via transplacentária, e, ao se encistar, causar lesões subclínicas ou morbidades como retinocoroidite, calcificação cerebral, hidrocefalia, retardamento mental, que são danos irreversíveis ao sistema nervoso central, e possibilidade de morte intrauterina. A primoinfecção é assintomática em 80 a 90% dos indivíduos imunocompetentes que adquirem a infecção no pós-natal. Todavia, o protozoário *Toxoplasma gondii* apresenta genótipos altamente diversificados na América do Sul, e os casos mais graves de coriorretinite, podendo evoluir mesmo para a perda total da visão (KHAN et al., 2001).

As citocinas podem estimular a divisão celular e, portanto, a expansão clonal dos subconjuntos de células T e B, podendo levar ao aumento da produção de anticorpos e/ou células T citotóxicas. As células T efetoras CD8<sup>+</sup> são essenciais para o controle de infecção por *T. gondii*, quando ativadas por antígeno específico, exercem várias funções como citotoxicidade e secreção de citocinas, interferon  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) e fator de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ ), servindo para promover o desenvolvimento da imunidade adaptativa e o controle de patógenos. A infecção primária por *T. gondii* estimula a produção de altos níveis de IL-12 e IFN- $\gamma$ , citocinas fundamentais para a resistência do hospedeiro contra o *T. gondii*, sendo que o IFN- $\gamma$  é o principal mediador de resistência contra o *T. gondii* na inibição da replicação intracelular (REZENDE-OLIVEIRA et al., 2012). Quando as células T CD8<sup>+</sup> são ativadas, estas sofrem diferenciação em células precursoras, efetoras, de vida curta, e de memória, podendo exercer pressão imune sobre o parasita, através da produção de citocinas inflamatórias e da sua atividade citolítica. A importância das citocinas no controle desta doença, é de grande relevância para compreender o seu perfil em gestantes sob suspeita aguda de toxoplasmose e nos casos de toxoplasmose ocular, pertencentes à região noroeste do Paraná, onde circulam diferentes genótipos de *T. gondii*. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi verificar o perfil de citocinas nestes indivíduos acometidos por toxoplasmose, atendidos na 15ª Regional de Saúde do Paraná, Brasil e encaminhados ao Laboratório de Parasitologia DBS/UEM.

## Materiais e métodos

Os pacientes investigados foram gestantes com suspeita de toxoplasmose aguda procedentes do Ambulatório de Gestação de Alto Risco do HURM/UEM e indivíduos com suspeita de toxoplasmose ocular, que não tinham iniciado tratamento quimioterápico específico, atendidos em clínicas

de oftalmologia do município de Maringá, Paraná. Todos os pacientes que concordaram em participar do projeto foram informados sobre os objetivos do trabalho e assinaram o Termo de Consentimento de forma livre e esclarecida (Comitê Permanente de Ética em Pesquisas Envolvendo Seres Humanos da Faculdade Ingá, Maringá, Paraná – CAAE 11911612000005220).

Os níveis de citocinas, TGF- $\beta$ , TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$ , foram determinados no soro e no líquido amniótico, por meio de kit comercial ELISA (Human/Mouse ELISA Ready-Set Go, Bioscience – EUA) seguindo as recomendações do fabricante.

O exame oftalmológico foi realizado por médico oftalmologista especializado e consistiu da avaliação do fundo de olho através de mapeamento de retina e biomicroscopia de fundo, com auxílio de oftalmoscópio indireto Eyetec e lente de 20 dioptria Volk e retinografia com auxílio do aparelho Visucam NM/FA (marca Zeiss). Ambos os exames foram realizados sob midríase, utilizando os colírios tropicamida 1% e fenilefrina 10%.

## Resultados e Discussão

Foram investigadas 25 gestantes, sendo que 17 apresentavam baixa avidez e oito alta avidez, procedentes do Ambulatório de Gestação de Alto Risco do HURM/UEM e doze indivíduos com suspeita de toxoplasmose ocular, que não tinham iniciado tratamento quimioterápico específico.

A citocina TGF- $\beta$  que possui função de regular a resposta imunológica estimulando células T reguladoras a reduzirem a inflamação (AKDIS et al., 2011), foram mais elevadas no sangue periférico de gestantes que apresentaram baixa avidez, quando comparados às de alta avidez e indivíduos com reagudização ocular. Da mesma forma, os níveis de citocina TNF- $\alpha$  foram superiores em gestantes em quadros agudos quando comparadas com gestantes crônicas e ao grupo de indivíduos com toxoplasmose ocular, vale ressaltar que esta citocina é importante imunomoduladora na fase inicial da infecção (BLISS et al., 2001).

Em relação ao IFN- $\gamma$ , os indivíduos com toxoplasmose ocular e gestantes crônicas apresentaram níveis semelhantes e ambos inferiores ao grupo de gestantes em fase aguda, pois a citocina IFN- $\gamma$  apresentou-se elevada nessas pacientes. O IFN- $\gamma$  é considerado o principal mediador de resistência contra *T. gondii*, principalmente na fase inicial da infecção como observada em quadros agudos das gestantes (REZENDE-OLIVEIRA et al., 2012).

Dentre os indivíduos em reagudização ocular, 75% (9/12) apresentaram lesão unilateral, sendo um deles localizada na região macular e 25 % (3/12) lesão bilateral. Em um caso com lesão bilateral, o indivíduo apresentou perda total de visão.

## Conclusões

O conhecimento sobre a resposta imunitária do hospedeiro frente ao *T. gondii* é uma importante ferramenta clínica que pode auxiliar na

compreensão dos mecanismos de controle do sistema imune contra esta infecção, principalmente em casos de toxoplasmose ocular, pois não ocorre o aumento das imunoglobulinas. Entretanto, outros fatores como a cepa do parasito, período gestacional, estado nutricional influenciam a resposta imune do hospedeiro, podendo resultar em diferentes perfis de citocinas, como observado neste estudo.

### Agradecimentos

Primeiramente gostaria de agradecer ao CNPq pela condição de bolsista de iniciação científica que serviu como um auxílio no encaminhamento deste projeto. Agradeço imensamente à professora Ana Lúcia Falavigna Guilherme e toda a equipe do laboratório de Toxoplasmose UEM pelo apoio em todos os momentos durante a pesquisa. Também agradeço todos os técnicos, docentes e amigos que estiveram direta ou indiretamente envolvidos na realização deste trabalho.

### Referências

AKDIS, M. et al. **Interleukins (from IL-1 to IL-38), interferons, transforming growth factor b, and TNF-  $\alpha$ : Receptors, functions, and roles in diseases**, The Journal of Allergy and Clinical Immunology, v. 127, n. 4, p. 701-721, 2011.

BLISS, S. K. et al. **Neutrophil depletion during *Toxoplasma gondii* infection leads to impaired immunity and lethal systemic Pathology**. Infection and Immunity, v. 69, n. 1, p. 4898-4905, 2001.

JONES, J. L.; DUBEY, J. P. **Waterborne toxoplasmosis - Recent developments**. Experimental Parasitology, v. 124, n. 1, p. 10–25, 2010.

KHAN, A. et al. **Genetic analyses of atypical *Toxoplasma gondii* strains reveal a fourth clonal lineage in North America**. International Journal for Parasitology, v. 41, n. 6, p. 645-655, 2001.

MONTOYA, J. G.; LIESENFELD, P. O. **Toxoplasmosis**. The Lancet, v. 363, n. 9425, p. 1965-1976, 2004.

REZENDE-OLIVEIRA, K. et al. **Cytokines and chemokines production by mononuclear cells from parturient women after stimulation with live *Toxoplasma gondii***. Placenta, v. 33, n. 9, p. 682-687, 2012.