

SAÚDE E AMBIENTE

V.8 • N.2 • 2020 - Fluxo Contínuo

ISSN Digital: 2316-3798

ISSN Impresso: 2316-3313

DOI: 10.17564/2316-3798.2020v8n2



PEÇONHA DE *TITYUS BAHIENSIS* REDUZ PROLIFERAÇÃO DE *TOXOPLASMA GONDII* (CEPA RH) E PRODUÇÃO DE IL-8 NAS CÉLULAS HELA

TITYUS BAHIENSIS VENOM REDUCES PROLIFERATION OF *TOXOPLASMA GONDII* (CEPA RH) AND IL-8 PRODUCTION IN HELA CELLS

EL VENENO DE *TITYUS BAHIENSIS* REDUCE LA PROLIFERACIÓN DE *TOXOPLASMA GONDII* (CEPA RH) Y PRODUCCIÓN DE IL-8 EN LAS CÉLULAS HELA

Gabriela Alcântara Dalevedo¹

Raquel Arruda Sanfelice²

Larissa Rodrigues Bosqui³

Laís Fernanda Machado⁴

João Paulo Assolini⁵

Allan Henrique Depieri Cataneo⁶

Italmar Teodorico Navarro⁷

Juliano Bordignon⁸

Denise M. Cândido⁹

Ivete Conchon-Costa¹⁰

Wander Rogerio Pavanelli¹¹

Fábio H. Kwasniewski¹²

Idessania Nazareth Costa¹³

RESUMO

Toxoplasma gondii é o protozoário causador da toxoplasmose, infecção que apresenta caráter grave em imunocomprometidos. Os fármacos convencionais para o tratamento desta infecção apresentam alta toxicidade. Peçonhas de escorpião são investigadas uma vez que apresentam efeito direto sobre micro-organismos. Objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial toxoplasmicida e imunomodulador da peçonha do escorpião *Tityus bahiensis* (pTb) sobre taquizoítas da cepa RH de *T. gondii* em células HeLa. Para averiguar índices de infecção e proliferação celular de formas taquizoítas de *T. gondii* (5×10^5) em células HeLa (1×10^5). Foi avaliada, também, a produção de citocinas nas células HeLa infectadas e tratados com pTb (15 $\mu\text{g}/\text{mL}$). Os resultados demonstram que, após 24 horas de tratamento, nenhuma das concentrações apresentou citotoxicidade. A pTb não alterou os níveis de infecção das células. Na proliferação intracelular a pTb induziu redução de 17,92% na concentração 4 mg/mL, 10,18%, utilizando 7,5 mg/mL e 16,82% com 15 mg/mL. A pTb modulou apenas a produção de IL-8, reduzindo sua produção em 87,32%. Concluímos que a pTb exerce ação imunomoduladora e anti-proliferativa sobre células HeLa infectadas com *Toxoplasma gondii* (cepa RH).

PALAVRAS-CHAVE

Toxoplasmose. Peçonha de *Tityus bahiensis*. Células HeLa.

ABSTRACT

Toxoplasma gondii is the protozoan that causes toxoplasmosis, an infection that is severe in immunocompromised individuals. Conventional drugs for the treatment of this infection have high toxicity. Scorpion venoms are investigated as they have a direct effect on microorganisms. The objective of this work was to evaluate the toxoplasmicidal and immunomodulatory potential of the venom of *Tityus bahiensis* (Tbv) scorpion on tachyzoites of the RH strain of *T. gondii* in HeLa cells. To investigate infection rates and cell proliferation of tachyzoite forms of *T. gondii* (5×10^5) in HeLa cells (1×10^5). Cytokine production in infected HeLa cells and treated with Tbv ($15 \mu\text{g/mL}$) was also evaluated. The results demonstrate that, after 24 hours of treatment, none of the concentrations showed cytotoxicity. Tbv did not change the infection levels of the cells. In intracellular proliferation, pTb induced a reduction of 17.92% in the concentration $4 \mu\text{g/mL}$, 10.18% using $7.5 \mu\text{g/mL}$ and 16.82% with $15 \mu\text{g/mL}$. Tbv modulated only the production of IL-8, reducing its production by 87.32%. We conclude that Tbv exerts an immunomodulatory and anti-proliferative action on HeLa cells infected with *Toxoplasma gondii* (RH strain).

KEYWORDS

Toxoplasmosis. *Tityus Bahiensis* Venom. HeLa Cells.

RESUMEN

Toxoplasma gondii es el protozoo que causa toxoplasmosis, una infección grave en personas inmunocomprometidas. Los medicamentos convencionales para el tratamiento de esta infección tienen una alta toxicidad. Se investigan los venenos de escorpión ya que tienen un efecto directo sobre los microorganismos. El objetivo de este trabajo fue evaluar el potencial toxoplasmicida e inmunomodulador del veneno del escorpión *Tityus bahiensis* (vTb) en los taquizoitos de la cepa RH de *T. gondii* en células HeLa. Para la viabilidad celular y la caracterización de vTb, se realizó MTT (3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolio; azul de tiazolilo), las células HeLa se infectaron con taquizoitos *T. gondii*, que fueron tratados en diferentes concentraciones con vTb ($4 \mu\text{g/mL}$, $7,5 \mu\text{g/mL}$ y $15 \mu\text{g/mL}$) o medicamentos convencionales durante 24 horas, para investigar las tasas de infección y la proliferación celular de formas taquizoicas de *T. gondii* (5×10^5) en células HeLa (1×10^5). También se evaluó la producción de citocinas en células HeLa infectadas y tratadas con vTb ($15 \mu\text{g/mL}$). Los resultados demuestran que, después de 24 horas de tratamiento, ninguna de las concentraciones mostró citotoxicidad. vTb no cambió los niveles de infección de las células. En la proliferación intracelular, vTb indujo una reducción del 17,92% en la concentración de $4 \mu\text{g/mL}$, 10,18% con $7,5 \mu\text{g/mL}$ y 16,82% con $15 \mu\text{g/mL}$. vTb moduló solo la producción de IL-8, reduciendo su producción en un 87.32%. Llega-

mos a la conclusión de que vTb ejerce una acción inmunomoduladora y antiproliferativa en las células HeLa infectadas con *Toxoplasma gondii* (cepa RH).

PALABRAS CLAVE

Toxoplasmosis. Veneno de *Tityus bahiensis*. Células HeLa.

1 INTRODUÇÃO

A toxoplasmose é uma infecção com ampla distribuição mundial, causada pelo protozoário *Toxoplasma gondii* e constitui um sério problema de saúde pública. Apresenta baixa prevalência em populações da América do Norte, sudeste da Ásia, Europa setentrional e alguns países africanos, porém pode acometer cerca de 50% da população em países da Europa central e obter soroprevalência ainda mais importante em países da América Latina (ROBERT-GANGNEUX; DARDÉ, 2012).

A infecção geralmente é assintomática, no entanto, em indivíduos imunocomprometidos ou durante infecção congênita (CAPOBIANGO *et al.*, 2014), pode levar a quadros sintomáticos severos como retinocoroidite e lesões no sistema nervoso central (SILVEIRA *et al.*, 2015). A gravidade das manifestações clínicas da toxoplasmose depende de diversos fatores, entre eles o tipo da cepa infectante de *T. gondii* e a resposta imune do hospedeiro (MONTROYA; REMINGTON, 2008).

A resposta imune à infecção por *T. gondii* ocorre principalmente pela imunidade celular, permitindo o controle da replicação do parasito. Dessa forma, o processo inflamatório desencadeado pela infecção por *T. gondii* envolve a expressão de citocinas e mediadores inflamatórios cuja expressão gênica de muitos destes elementos é controlada pelo fator nuclear kappa B (NF-kB) (BLANCO *et al.*, 2003).

Diante da gravidade da toxoplasmose, muitos estudos *in vitro* e *in vivo* com *T. gondii* são realizados com intuito de avaliar aspectos comportamentais, imunopatológicos e parasitológicos do parasito, a partir dessas investigações possibilitar avanços no diagnóstico e tratamento desta infecção (SANFELICE *et al.*, 2019).

O tratamento consiste na combinação da sulfadiazina e pirimetamina que agem sinergicamente no bloqueio da via de síntese do folato, inibindo as enzimas dihidropteroato sintase (DHPS) e dihidrofolato redutase (DHFR), que são essenciais para a sobrevivência e replicação do parasito (ANDERSON, 2005). No entanto, esses medicamentos apresentam diversos efeitos colaterais e tóxicos ao humano, podendo ocasionar anemia megaloblástica, leucopenia e granulocitopenia (GOBEL *et al.*, 2007).

Assim sendo, é necessária a busca por fármacos alternativos eficazes contra o parasito cujos efeitos danosos ao hospedeiro sejam os menores possíveis. Pesquisas recentes têm demonstrado que derivados de peçonhas animais podem atuar sobre protozoários, como é o caso de peçonhas de serpentes como *Naja haje*, *Vipera lebetina* e *Cerastes cerastes* que inibiram o crescimento dos protozoários

Trypanosoma cruzi e *Leishmania donovani infantum*, *in vitro* (FERNANDEZ-GOMEZ *et al.*, 1994). Além disso, foi observado potencial antiparasitário de lecitinas isoladas do veneno da serpente *Bothrops pauloensis* em taquizoítas de *T. gondii* (CASTANHEIRA *et al.*, 2015).

Diante disso, nosso objetivo foi investigar o potencial antiparasitário da peçonha de *Tityus bahiensis*, visto que, não há estudos dessa ação, sobre a infecção e proliferação de taquizoítas de *T. gondii* (cepa RH) em células HeLa, bem como a produção de citocinas pelas células infectadas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 CULTIVO DE CÉLULAS HELA E MANUTENÇÃO DE *TOXOPLASMA GONDII*

O cultivo foi realizado em frascos de cultura de 75cm² (Ciencor Scientific, Brasil) com meio de cultura DMEM (Gibco by Life Technologies) suplementado com 10% de soro bovino fetal inativado (SBF) (Sigma- Aldrich), 1% de antibiótico (10,000U/mL penicilina e 10mg/mL estreptomicina) (Cultilab, Brasil), L-glutamina, piruvato de sódio e 2-mercaptoetanol (meio completo para HeLa – MCH). As células foram mantidas em estufa a 5% de CO₂, 37°C, utilizadas em ensaios de infecção experimental *in vitro* de acordo com Sanfelice e colaboradores (2017), ainda mantidas no Laboratório de Imunoparasitologia das Doenças Negligenciadas e Câncer da Universidade Estadual de Londrina.

2.2 MANUTENÇÃO DA CEPA RH DE *T. GONDII*

Taquizoítas da cepa RH de *T. gondii* foram cedidos pelo Laboratório de Zoonose Medicina Veterinária, Universidade Estadual de Londrina e mantida na cavidade peritoneal de camundongos Swiss com 60 dias de idade em intervalos de 48 a 72 horas. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Estadual de Londrina 88/2017/CEUA.

2.3 PEÇONHA E FÁRMACOS UTILIZADOS

A peçonha liofilizada de *T. bahiensis* (pTb) foi fornecida pelo Laboratório de Artrópodes do Instituto Butantan de São Paulo. O material foi estocado à -20°C e no momento do uso foi diluído em meio DMEM suplementado com 2% de SBF e 1% de antibiótico. As concentrações de pTb (0,5-15 µg/mL) foram testadas no ensaio de viabilidade em células HeLa, para determinar as concentrações a serem prosseguidas nos próximos experimentos. A diluição para obtenção das concentrações de 50 e 25µg/mL de sulfadiazina e pirimetamina, respectivamente, foi realizada de acordo com as descrições de Sanfelice e colaboradores (2017).

Foram considerados controle positivo o grupo de células infectadas com taquizoítas e tratadas com sulfadiazina e pirimetamina; grupo negativo as células infectadas com taquizoítas e mantidas em DMEM e grupo basal apenas células mantidas em DMEM.

2.4 VIABILIDADE DA CÉLULA HELA

A viabilidade das células HeLa após o tratamento com pTb foi avaliada por meio do teste colorimétrico sal de tetrazólio MTT (3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio, Sigma Chemical CO., Brasil) (MOSMANN, 1983).

2.5 INFECÇÃO E PROLIFERAÇÃO DE *T. GONDII* EM CÉLULAS HELA

Para avaliar o efeito da pTb na invasão e proliferação de *T. gondii* em células HeLa, foi utilizado o modelo experimental de infecção com células posteriormente tratadas. Células HeLa (1×10^5) foram mantidas em placas de 24 poços, contendo lamínulas redondas de 13mm (Ciencor Scientific, Brasil) e infectadas com 5×10^5 taquizoítos da cepa RH de *T. gondii*. Após três horas de infecção as células foram lavadas e receberam o tratamento com a pTb por 24 horas nas concentrações 4,0 µg/mL, 7,5 µg/mL e 15,0 µg/mL ou tratamento com associação de pirimetamina e sulfadiazina (25,0 e 50,0 µg/mL, respectivamente).

Após 24 horas em DMEM, para ambos os grupos, as células foram fixadas com paraformaldeído a 4% e PBS durante 30 minutos, em seguida lavadas com PBS. As células então, foram coradas com azul de toluidina a 1% (Sigma Chemical Co.), durante um segundo e montadas em lâminas de vidro para análise em microscópio óptico (e100, Nikon) em aumento de 1000X para verificar os índices de infecção (número de células infectadas por 200 células examinadas) e proliferação intracelular do parasito (número total de parasitas por 200 células examinadas) (SANFELICE *et al.*, 2019).

2.6 DOSAGEM DE CITOCINAS

O nível das citocinas presente no sobrenadante das células HeLa infectadas com a cepa RH de *T. gondii* foram analisados por Cytometric Bead Array (CBA), de acordo com as instruções do kit (CBA Human Th1/Th2/Th17, BD), usando o aparelho FACSCanto II da Becton Dickinson. Os dados de citometria foram analisados no programa “FCAP Array, v1.0.1, da Soft Flow Hungary Ltd.”

2.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os dados representam a média e desvio padrão de três experimentos independentes que foram realizados em triplicata. As diferenças entre tratamentos e controles foram avaliadas por análise de variância (One way ANOVA) seguido por teste de comparações múltiplas de Tukey, utilizando o software GraphPad Prism 5.0 (GraphPad Software, Inc., San Diego, EUA). A significância estatística foi considerada quando $p < 0,05$.

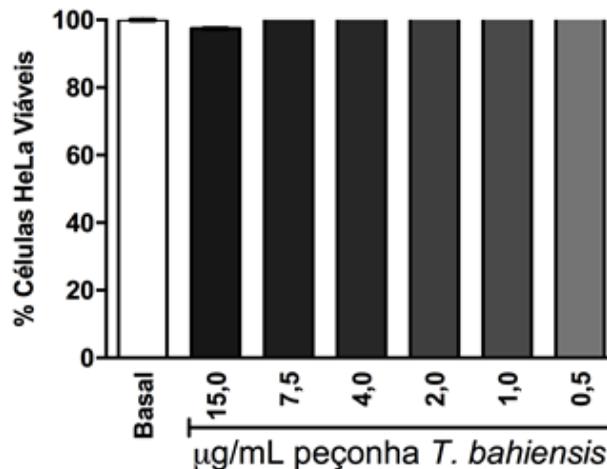
3 RESULTADOS

3.1 TRATAMENTO COM PEÇONHA DE *T. BAHIENSIS* NÃO APRESENTOU CITOTOXICIDADE EM CÉLULAS HELA

Para determinar a citotoxicidade do tratamento da pTb em células HeLa e determinar concentrações a serem utilizadas em experimentos de infecção e proliferação celular, foi realizado ensaio

de MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2yl)-2,5-difenil brometo de tetrazolina). Conforme demonstrado na Figura 1, nenhuma das concentrações da pTb foi tóxica para as células HeLa. A associação dos fármacos sulfadiazina e pirimetamina (50 e 25 µg/mL) nas células HeLa, não apresentou citotoxicidade para as células, este resultado estão descritos em trabalhos realizados anteriormente pelo nosso grupo (SANFELICE *et al.*, 2017).

Figura 1 – Efeito da pTb na viabilidade de células HeLa. O grupo basal representa células HeLa mantidas em DMEM; as barras seguintes representam células HeLa mantidas por 24 horas com diferentes concentrações da pTb. Os dados representam a porcentagem de células viáveis. Foram realizados três experimentos independentes em triplicata

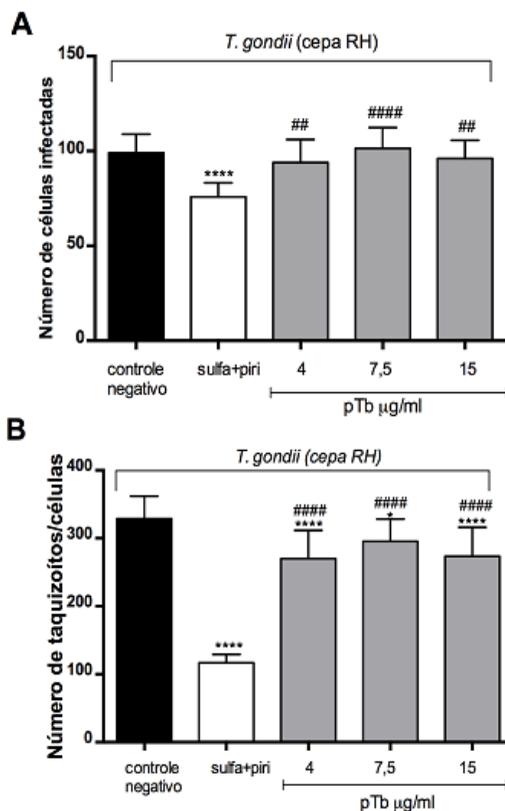


Fonte: Dados da pesquisa.

3.2 AVALIAÇÃO DOS ÍNDICES DE INFECÇÃO E PROLIFERAÇÃO INTRACELULAR DE TAQUIZOÍTAS DE *T. GONDII*

A infecção das células HeLa por *T. gondii* não foi alterada pelo tratamento com pTb em nenhuma das concentrações utilizadas; por outro lado, o tratamento com a associação de sulfadiazina e pirimetamina apresentou redução no número de células infectadas em relação ao grupo não tratado (FIGURA 2A). Na Figura 2B observa-se que os índices de proliferação intracelular de *T. gondii* foram alterados nos grupos tratados com a peçonha; com redução de 17,92%, 10,18% e 16,82% na presença de pTb (concentrações de 4,0; 7,5 e 15,0 mg/mL, respectivamente) e redução de 64,44% com o tratamento com sulfadiazina e pirimetamina em número de taquizoítos no citoplasma das HeLa infectadas.

Figura 2 – Efeito da pTb na infecção de células HeLa com taquizoítos de *T. gondii*



Em A, foi avaliado o número de células infectadas por *T. gondii*. Em B, foi avaliado o índice de proliferação intracelular do parasito. O grupo controle negativo representa células HeLa mantidas em DMEM; grupo sulfa+piri representa células tratadas com associação de sulfadiazina e pirimetamina (50 e 25 µg/mL); grupos pTb µg/mL representam células HeLa tratadas com diferentes concentrações de pTb. Os tratamentos foram mantidos por 24 horas. Os dados representam a média ± SEM de três experimentos independentes realizados em triplicata. * $p \leq 0,05$ e **** $p \leq 0,0001$ significativo em relação ao grupo controle negativo. ## $p \leq 0,01$ e #### $p \leq 0,0001$ significativo em relação ao grupo sulfa+piri.

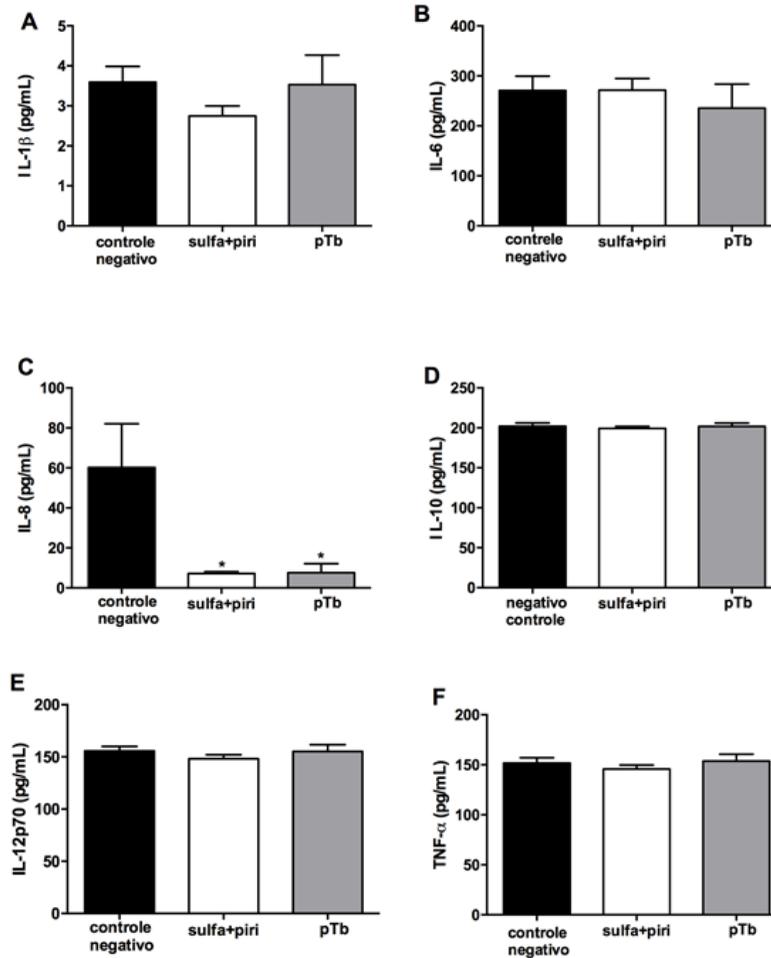
Fonte: Dados da pesquisa.

3.3 PRODUÇÃO DE CITOCINAS

Foi observada redução na produção de IL-8 nas células HeLa infectadas e tratadas por 24 horas com a pTb (15 µg/mL) ou com a associação de sulfadiazina e pirimetamina (50 µg/mL e 25 µg/mL, respectivamente) (FIGURA 3C). Não houve modulação na produção de IL-1, IL-6, IL-10, IL-12p70 e

TNF- por pelas células HeLa infectadas por *T. gondii*, tratadas com fármacos classicamente utilizados ou com a pTb (FIGURA 3).

Figura 3 – Produção de citocinas por células HeLa infectadas por *T. gondii*



Os níveis das citocinas foram determinados no sobrenadante de cultura das células HeLa decorridas 24 horas da infecção e tratamento. O grupo controle negativo representa células HeLa infectadas com taquizoítos de *T. gondii*; o grupo sulfa+piri representa células HeLa infectadas com *T. gondii* e tratadas com sulfadiazina e pirimetamina (50 e 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$) (controle positivo); e células HeLa infectadas e tratadas com a pTb (15 $\mu\text{g}/\text{mL}$). *Diferente do controle negativo ($p < 0,05$).

Fonte: Dados da pesquisa.

4 DISCUSSÃO

Diante da busca de fármacos alternativos para menos efeitos tóxicos no tratamento da toxoplasmose, pesquisam-se as peçonhas de escorpiões, pois estas possuem componentes descritos como potenciais candidatos ao desenvolvimento de medicamentos (ORTIZ *et al.*, 2015).

No presente estudo, a peçonha de *T. bahiensis* não induziu toxicidade em células HeLa nas concentrações testadas. Resultado similar foi obtido por Khaleghi Rostamkolaie e colaboradores (2019) que, utilizando a mesma linhagem RH de *T. gondii*, mas, avaliando ação da peçonha do escorpião *Hemiscorpius lepturus*, não verificaram redução da viabilidade de células Vero.

A escolha das concentrações de sulfadiazina e pirimetamina foi baseado em estudos anteriores realizados que utilizaram células HeLa, as quais não comprometeram a viabilidade destas células (SANFELICE *et al.*, 2017; SANFELICE *et al.*, 2019). Além disso, o veneno de escorpião apresenta baixa toxicidade nas células de carcinoma celular humano (BEL7404) e células de ovário de hamster (CHOC400) uma vantagem em relação ao tratamento convencional (WANG *et al.*, 2005).

Nossos resultados indicaram redução da proliferação intracelular do parasito. Acredita-se que os componentes da peçonha tenham atuado diretamente nas formas taquizoítas de *T. gondii*, inibindo a funcionalidade de organelas essenciais para sua replicação e sobrevivência, assim como foi observado no estudo de Borges e colaboradores (2006), que verificaram alterações na membrana plasmática, intensa vacuolização e inchaço da bolsa flagelar de *Leishmania discrepans* após tratamento com a peçonha de *T. discrepans*, escorpião pertencente ao mesmo gênero de *T. bahiensis*. De forma semelhante, o estudo realizado por Khaleghi Rostamkolaie e colaboradores (2019) demonstrou o efeito anti-*Toxoplasma* da peçonha do *H. lepturus* em células Vero, sem evidenciar quais organelas ou vias do parasito foram afetados mediante a peçonha utilizada.

Além da atuação das peçonhas em organelas dos parasitos, estudos de Guillaume e colaboradores (2006) realizados com *Plasmodium falciparum* – parasito pertencente ao filo Apicomplexa, assim como *Toxoplasma* – demonstraram que a secreção de fosfolipases A2 (PLA₂s) presentes na peçonha dos escorpiões tem a capacidade de inibir o desenvolvimento do parasito dentro dos eritrócitos.

Apesar desses registros citados, não temos relatos precisos das alterações e dos mecanismos morfológicos e fisiológicos dos parasitos diante das peçonhas das diferentes espécies de escorpião, nos cabendo apenas, inferir tais mecanismos e reforçando a necessidade de mais estudos com enfoque nessas vias.

Já foram descritos efeitos imunomoduladores perante a presença da peçonha de escorpiões (ORTIZ *et al.*, 2015), porém pouco se sabe sobre essas propriedades em escorpiões do gênero *Tityus*. Dessa forma, avaliamos a produção de citocinas pelas células HeLa infectadas com *T. gondii* e tratadas com peçonha de *T. bahiensis* (FIGURA 3).

Os resultados não demonstraram diferenças significativas com relação às citocinas IL-1, IL-6, IL-10, IL-12p70 e TNF-, sugerindo ausência de atividade imunomoduladora da peçonha nestes casos. Isso pode ser em parte justificado pelos resultados de Hazelbag e colaboradores (2001), nos quais foi observado – por meio da expressão de RNA mensageiro por PCR Real Time – que células de câncer cervical, como a HeLa, não são boas produtoras de determinadas citocinas, tais como TNF-, IL-10, alguns subtipos de IL-12, entre outras.

Foi observada, contrastando com as outras citocinas analisadas, redução significativa de IL-8 nas células tratadas tanto com a peçonha quanto com sulfadiazina e pirimetamina.

A IL-8 é uma citocina pró-inflamatória que auxilia no recrutamento de neutrófilos, contribuindo com o infiltrado inflamatório durante a fase aguda (DENNEY *et al.*, 1999), o aumento dessas citocinas é um importante mecanismo de defesa contra o parasitismo intracelular. Entretanto, o efeito direto do parasito e o efeito indireto da resposta inflamatória exacerbada podem levar a danos teciduais no hospedeiro, agravando a infecção. Assim, a redução de uma citocina pró-inflamatória, como a IL-8 é necessária para desencadear uma resposta equilibrada e limitar a patogenia da doença (MELBY *et al.*, 2019).

Denney e colaboradores (1999) citam que a liberação de IL-8 depende de fatores solúveis das células hospedeiras como a IL-1, por exemplo. Os autores relatam que as células que não expressam IL-1 ou outra atividade indutora de IL-8 podem não responder à infecção por *T. gondii*. Diante disso foi testado, um modelo de células epiteliais do intestino humano HT-29, que não expressa mRNA de IL-1 e nem outra atividade indutora de IL-8, as células foram infectadas com *T. gondii* por 24 e 72 horas, após a infecção os sobrenadantes foram analisados, embora tenham sido eficientes à infecção experimental, foi demonstrado uma redução na resposta pró-inflamatória da quimiocina IL-8.

Estes dados sugerem que a secreção pró-inflamatória de quimiocina é uma importante resposta da célula hospedeira que está intimamente relacionado não apenas à presença do parasito, mas ao tipo celular, em questão na produção adequada desses fatores solúveis indutores, o que de certa forma pode justificar, em partes, essa redução significativa de IL-8 mediante do efeito do tratamento em célula infectada.

Dessa forma, há fortes evidências experimentais de que as citocinas desempenham papel importante na patogênese de *T. gondii* e na modulação dessas citocinas pode produzir um efeito benéfico ou prejudicial ao hospedeiro (MELBY *et al.*, 2019). Além disso, sabemos que, *T. gondii* é um parasito altamente bem-sucedido, pois regula a ativação imunológica e os mecanismos efetores da célula hospedeira por meio da sua habilidade de amenizar ou incitar a resposta imune por proteínas efetoras (MELBY *et al.*, 2019).

Entretanto, embora tenha ocorrido avanços nas últimas décadas quanto à compreensão de como *T. gondii* modula a resposta imune, ainda são escassos os relatos sobre mecanismos exatos mediados pelas citocinas em resposta inicial à inflamação após infecção quando o parasito sofre ação de algum fármaco ou composto.

5 CONCLUSÃO

A peçonha de *Tityus bahiensis* apresentou atividade anti-*Toxoplasma gondii*, reduzindo a proliferação das formas taquizoítas em células humanas *in vitro*, sem desencadear citotoxicidade da linhagem celular utilizada. Além disso, teve efeito imunomodulador na concentração 15 µg/mL, reduzindo a produção de IL-8 pelas células infectadas. Estudos adicionais *in vitro* e *in vivo*, contemplando também o uso de toxinas isoladas, devem ser conduzidos no sentido aprofundar nossos achados e de investigar possível interesse biotecnológico da peçonha de *Tityus bahiensis* no tratamento da toxoplasmose.

REFERÊNCIAS

- ANDERSON, A. C. Targeting DHFR in parasitic protozoa. **Drug Discov. Today**, v. 15, n. 2, p. 121-128, 2005.
- BLANCO, M. L.; NETO, A. C. O fator nuclear Kappa B: uma nova perspectiva para o estudo de drogas antiinflamatórias. **Rev. Ciênc. Méd.**, v. 12, n. 4, p. 341-349, 2003.
- BORGES, A. *et al.* In vitro leishmanicidal activity of *Tityus discrepans* scorpion venom. **Parasitol. Res.**, v. 99, p. 167-173, 2006.
- CAPOBIANGO, J. D. *et al.* Congenital toxoplasmosis in a reference center of Paraná, Southern Brazil. **Braz. J. Infect. Dis.**, v. 18, n. 4, p. 364-371, 2014.
- CASTANHEIRA, L. E. *et al.* Insights into anti-parasitism induced by a C-type lectin from *Bothrops pauloensis* venom on *Toxoplasma gondii*. **Int. J. Biol. Macromol.**, v. 74, p. 568-574, 2015.
- DENNEY, K. F. *et al.* Chemokine secretion of human cells in response to *Toxoplasma gondii* infection. **Infect. Immun.**, v. 67, n. 4, p. 1547-1552, 1999.
- FERNANDEZ-GOMEZ, R. *et al.* Growth inhibition of *Trypanosoma cruzi* and *Leishmania donovani infantum* by different snake venoms: preliminary identification of proteins from *Cerastes cerastes* venom which interact with the parasites. **Toxicon.**, v. 32, p. 875-882, 1994.
- GOBEL, A. *et al.* Fate of sulfonamides, macrolides, and trimethoprim in different wastewater treatment technologies. **Sci. Total Environ.**, v. 372, n. 2-3, p. 361-371, 2007.
- GUILLAUME, C. *et al.* Interplay between lipoproteins and venom phospholipase A2 in relation to their anti-plasmodium toxicity. **J. Lipid Res.**, v. 47, n. 7, p. 1493-1506, 2006.
- HAZELBAG, S. *et al.* Cytokine profile of cervical cancer cells. **Gynecol. Oncol.**, v. 83, p. 235-243, 2001.
- KHALEGHI ROSTAMKOLAIE, L. *et al.* In vitro therapeutic effect of *Hemiscorpius lepturus* venom on tachyzoites of *Toxoplasma gondii*. **J. Parasit. Dis.**, v. 43, n. 3, p. 472-478, 2019.
- MELBY, P. C. *et al.* Host defenses to protozoa. In: Rich, R. R. *et al.* (Ed.) **Clinical Immunology: principles and practice**. 5th ed. Amsterdã: Elsevier, 2019.
- MONTOYA, J. G.; REMINGTON, J. S. Management of *Toxoplasma gondii* infection during pregnancy. **Cl. Infect. Dis.**, v. 15, n. 47(4), p. 554-566, 2008.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **J. Immunol. Methods**, v. 65, n.1-2, p. 55-63, 1983.

ORTIZ, E. *et al.* Scorpion venom components as potential candidates for drug development. **Toxicon.**, v. 93, p. 125-135, 2015.

ROBERT-GANGNEUX, F.; DARDÉ, L. M. Epidemiology of and diagnostic strategies for Toxoplasmosis. **Cl. Microbiol. Rev.**, v. 25, n. 2, p. 264-296, 2012.

SANFELICE, R. A. *et al.* Pravastatin and simvastatin inhibit the adhesion: replication and proliferation of *Toxoplasma gondii* (RH strain) in HeLa cells. **Acta Trop.**, v. 167, p. 208-215, 2017.

SANFELICE, R. A. *et al.* Pravastatin and simvastatin pretreatment in combination with pyrimethamine and sulfadiazine reduces infection process of *Toxoplasma gondii* (RH strain) in HeLa cells. **Acta Parasitol.**, v. 64, n. 3, p. 612-616, 2019.

SILVEIRA, C. *et al.* Ocular involvement following an epidemic of *Toxoplasma gondii* infection in Santa Isabel do Ivaí, Brazil. **Am. J. Ophthalmol.**, v. 159, n. 6, p. 1013-1021, 2015.

WANG, W. X.; JI, Y. H. Scorpion venom induces glioma cell apoptosis *in vivo* and inhibits glioma tumor growth *in vitro*. **J. Neuro-Oncol.**, v. 73, n. 1, p. 1-7, 2005.

1 Departamento de Patologia Experimental – Laboratório de Imunoparasitologia das Doenças Negligenciadas e Câncer, Universidade Estadual de Londrina. Email: alcantaragabbi@gmail.com

2 Departamento de Patologia Experimental – Laboratório de Imunoparasitologia das Doenças Negligenciadas e Câncer, Universidade Estadual de Londrina. Email: raquel_bio_@hotmail.com

3 Departamento de Patologia Experimental – Laboratório de Imunoparasitologia das Doenças Negligenciadas e Câncer, Universidade Estadual de Londrina. Email: larissabosqui@hotmail.com

4 Departamento de Patologia Experimental – Laboratório de Imunoparasitologia das Doenças Negligenciadas e Câncer, Universidade Estadual de Londrina. Email: machado1904@hotmail.com

5 Departamento de Patologia Experimental – Laboratório de Imunoparasitologia das Doenças Negligenciadas e Câncer, Universidade Estadual de Londrina. Email: jp_assolini22@hotmail.com

6 Laboratório de Virologia Molecular, Instituto Carlos Chagas, ICC/ Fiocruz, Curitiba. Email: allan-cataneo@hotmail.com

7 Departamento de Medicina Veterinária Preventiva – Laboratório de Zoonoses e Saúde Pública, Universidade Estadual de Londrina. Email: italmar@uel.br

8 Laboratório de Virologia Molecular, Instituto Carlos Chagas, ICC/ Fiocruz, Curitiba. Email: juliano.bordignon@fiocruz.br

9 Laboratório de Artrópodes, Instituto Butantan, São Paulo. Email: denisecandido@butantan.gov.br

10 Departamento de Patologia Experimental – Laboratório de Imunoparasitologia das Doenças Negligenciadas e Câncer, Universidade Estadual de Londrina. Email: icconchon@gmail.com

11 Departamento de Patologia Experimental – Laboratório de Imunoparasitologia das Doenças Negligenciadas e Câncer, Universidade Estadual de Londrina. Email: wanderpavanelli@yahoo.com.br

12 Departamento de Patologia Experimental, Laboratório de Imunotoxicologia, Universidade Estadual de Londrina. Email: fhkwas@uel.br

13 Departamento de Patologia Experimental – Laboratório de Imunoparasitologia das Doenças Negligenciadas e Câncer, Universidade Estadual de Londrina. Email: idessania@hotmail.com

Recebido em: 15 de Outubro de 2019

Avaliado em: 3 de Março de 2019

Aceito em: 3 de Março de 2020



A autenticidade desse artigo pode ser conferida no site <https://periodicos.set.edu.br>



Este artigo é licenciado na modalidade acesso abertosob a Atribuição-Compartilha Igual CC BY-SA



