

# BIOTRANS

Programa de Pós-Graduação em  
Biomedicina Translacional

Mestrado e Doutorado



THAMYRES VIANNA DE MACEDO

Quimioterapia anti *Toxoplasma gondii* com Melatonina e  
Metalocomplexos

Duque de Caxias, RJ

2023

Thamyres Vianna de Macedo

Quimioterapia anti *Toxoplasma gondii* com Melatonina e  
Metalocomplexos

Dissertação de mestrado apresentada ao  
Programa de Pós-Graduação em Biomedicina  
Translacional (BIOTRANS), como requisito para  
obtenção do título de Mestre

Orientador: Dr. Sergio Henrique Seabra

Duque de Caxias

2023

**CATALOGAÇÃO NA FONTE**  
**UNIGRANRIO – NÚCLEO DE COORDENAÇÃO DE**  
**BIBLIOTECAS**

M141q Macedo, Thamyres Vianna de.

Quimioterapia anti *Toxoplasma gondii* com melatonina e metalocomplexos  
/ Thamyres Vianna de Macedo. – Duque de Caxias, Rio de Janeiro, 2023.  
66 f.

Orientador: Dr. Sergio Henrique Seabra.

Dissertação (mestrado) – UNIGRANRIO, Escola de Ciência da Saúde,  
Programa de Pós-Graduação em Biomedicina Translacional, Rio de Janeiro,  
2023.

1. Metalocomplexos. 2. Melatonina. 3. Sinergismo. 4. *Toxoplasma gondii*. I.  
Seabra, Sergio Henrique. II. Título. III. UNIGRANRIO.

CDD: 610

# QUIMIOTERAPIA ANTI *TOXOPLASMA GONDII* COM MELATONINA E METALOCOMPLEXOS

**Thamyres Vianna de Macedo**

Dissertação aprovada em: 25 / 08 / 2023

## Banca examinadora



---

Prof. Dr. Sergio Henrique Seabra – Orientador  
Universidade do Estado do Rio de Janeiro – ZO (UERJ-ZO)

Documento assinado digitalmente  
 LEONARDO DA CUNHA BOLDRINI PEREIRA  
Data: 01/09/2023 11:47:28-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Prof. Dr. Leonardo, da Cunha Boldrini Pereira  
Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia – INMETRO

Documento assinado digitalmente  
 CELSO BARBOSA DE SANT ANNA FILHO  
Data: 01/09/2023 09:03:44-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Dr. Celso Sant'Anna de Barbosa Filho  
Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia – INMETRO



---

Dra. Nayara Inocencio Machado  
Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro - UENF

Duque de Caxias

2023

Dedico esse trabalho a toda a minha família, em especial à minha mãe (*in memoriam*), sem eles, tudo o que conquisei até aqui seria em vão.

## AGRADECIMENTOS

Sem dúvidas escrever os agradecimentos é a parte mais difícil... não que seja difícil agradecer, mas é o momento que se passa um filme na cabeça de tudo que você passou até chegar aqui, as pessoas que ficaram no caminho, as que chegaram... Primeiramente agradecer a Deus, que foi suporte, força e até alvo de minhas dúvidas e incertezas, mas estava tudo escrito e aconteceu do jeitinho que Ele planejou. Agradecer a minha mãe que mesmo de longe tenho certeza de que olhou por mim e mandou energias positivas nos meus piores momentos. Mãe, mais uma conquista que você não pode ver, mas sempre é e será para você. Agradecer a minha família, que sempre fez de tudo para que eu não desistisse, sem vocês nada que eu tenho e conquistei faria sentido. Terminar esse mestrado foi desafiador demais, teve pandemia, tragédia familiar, alguns desestímulos docentes, crises de ansiedade, mas estou muito feliz por estar conseguindo encerrar essa etapa da minha vida. Gostaria de expressar minha gratidão pelos amigos antigos, os amigos recém-chegados, que me ajudaram a terminar esse ciclo, principalmente por terem me dado muitas vezes palavras de conforto e ânimo para que eu conseguisse chegar ao final. Ao meu professor, orientador, Sergio Seabra, por todos esses 10 anos de trabalho em conjunto. Parece que foi ontem que eu estava indo pedir IC depois de uma aula de parasitologia kkk. Obrigada também a todos os amigos que fiz no laboratório durante toda essa trajetória, seja na bancada, seja no estresse ou até mesmo no bar. Agradeço também a minha querida UEZO (hoje UERJ-ZO), a UNIGRANRIO e ao INMETRO que juntas fizeram esse programa de mestrado funcionar com êxito.

Antes tarde, do que mais tarde ainda!! Acabou :D

*“(...) Olhar pra trás só pra ver o que se fez  
Bola pra frente, sem medo de errar (...)”*

*(Scracho – Fértil)*

## RESUMO

A toxoplasmose é uma zoonose relacionada à saúde humana e veterinária, que afeta aproximadamente um terço da população mundial e é causada pelo *Toxoplasma gondii*, um protozoário intracelular obrigatório encontrado nas fezes de gatos e outros felinos, que pode se hospedar em humanos e outros animais por possuir um ciclo de vida completo. São três os estágios principais de desenvolvimento do *Toxoplasma gondii*: taquizoítos, bradizoítos e esporozoítos. A toxoplasmose afeta principalmente o sistema nervoso central e ocasionalmente o sistema reprodutivo, músculos e órgãos viscerais, sendo uma doença oportunista que, na maioria dos casos, apresenta-se de forma assintomática em indivíduos imunocompetentes e pode apresentar sintomas clínicos em pacientes imunocomprometidos. Os tratamentos atuais à base de sulfadiazina e pirimetamina são altamente tóxicos para o hospedeiro e sua ação está associada à eliminação de manifestações sintomáticas ou recuperação imunológica no paciente, em vez da eliminação do parasita do organismo hospedeiro, além de causar diversos efeitos colaterais e possibilitando tornar os parasitas resistentes a esses fármacos. A melatonina, hormônio endógeno envolvido no ciclo circadiano em vertebrados, possui funções antioxidantes, imunomoduladoras e antitumorais, além de ser altamente conservada e presente em quase todas as espécies. Estudos mostraram que a melatonina é capaz de modular a resposta imune e o desenvolvimento parasitário durante infecção por *T. gondii*, *Trypanosoma cruzi* e *Leishmania infantum*. Atualmente, os efeitos biológicos de novos complexos metálicos e compostos inorgânicos com atividades biológicas como fungicida, bactericida e antiviral têm sido estudados. Os metalocomplexos, os compostos férricos dinuclear N0414 (Fe alfa-naftol BMPA) e N5814 (Fe beta-naftol BMPA) apresentaram atividade contra o *T. gondii in vitro* e não foram tóxicos às células hospedeiras LLC-MK2, sendo capazes de reduzir a atividade de enzimas antioxidantes cruciais para a defesa e sobrevivência intracelular do parasita. A partir do exposto, o presente trabalho teve como objetivo geral realizar um levantamento bibliográfico da ação anti-Toxoplasma da melatonina em sinergismo com a sulfadiazina, assim como a atividade de compostos da família dos metalocomplexos como os compostos coordenados à sulfadiazina, durante a infecção por *T. gondii* através de uma revisão integrativa. Para isso, necessitou-se analisar artigos dos últimos 22 anos. Esses artigos foram coletados pelos bancos de dados da PubMed, Scielo e Science Direct, usando descritores de língua inglesa e portuguesa.

**Palavras-chaves:** Melatonina; Metalocomplexos; Sinergismo; *Toxoplasma gondii*.

## ABSTRACT

Toxoplasmosis is a zoonosis relevant to both human and veterinary health, affecting approximately one-third of the global population. It is caused by *Toxoplasma gondii*, an obligate intracellular protozoan found in the feces of cats and other felines, which can infect humans and other animals due to its complete life cycle. *Toxoplasma gondii* has three main stages of development: tachyzoites, bradyzoites, and sporozoites. It primarily affects the central nervous system and occasionally the reproductive system, muscles, and visceral organs. It is an opportunistic disease that, in most cases, presents asymptotically in immunocompetent individuals but may cause clinical symptoms in immunocompromised patients. Current treatments based on sulfadiazine and pyrimethamine are highly toxic to the host and their action is associated with the elimination of symptomatic manifestations or immune recovery in the patient, rather than the complete eradication of the parasite from the host organism. Additionally, they can lead to various side effects and potentially promote parasite resistance to these drugs. Melatonin, an endogenous hormone involved in the circadian rhythm in vertebrates, possesses antioxidant, immunomodulatory, and antitumor functions. It is highly conserved and present in nearly all species. Studies have shown that melatonin can modulate the immune response and parasite development during infections caused by *T. gondii*, *Trypanosoma cruzi*, and *Leishmania infantum*. Currently, the biological effects of new metal complexes and inorganic compounds with various biological activities such as antifungal, antibacterial, and antiviral properties are being studied. Metal complexes, specifically the dinuclear iron complexes N0414 (Fe alpha-naphthol BMPA) and N5814 (Fe beta-naphthol BMPA), have demonstrated in vitro activity against *T. gondii* without being toxic to host cells (LLC-MK2). They are capable of reducing the activity of crucial antioxidant enzymes for the defense and intracellular survival of the parasite. With this background, the primary objective of this work was to conduct a literature review on the anti-*Toxoplasma* action of melatonin in synergy with sulfadiazine, as well as the activity of metal complex family compounds coordinated with sulfadiazine, during *T. gondii* infection through an integrative review. To achieve this, we analyzed articles from the last 22 years, collected from PubMed, Scielo, and Science Direct databases, using English and Portuguese language descriptors.

**Keywords:** Melatonin; Metallocomplexes; Synergism; *Toxoplasma gondii*.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES E QUADROS

**Figura 1.** Esquema das etapas realizadas durante a busca dos artigos para a revisão sistemática.

**Figura 2** - Ciclo de vida do *Toxoplasma gondii*

**Figura 3** – Distribuição geográfica da prevalência de anticorpos para *Toxoplasma gondii* pelo mundo

**Figura 4** – Estrutura química da Sulfadiazina

**Figura 5** -. Estrutura química da Pirimetamina

**Figura 6** - Estrutura química da Espiramicina

**Figura 7** - Estrutura química da Clindamicina

**Figura 8** - Estrutura química do Ácido Folínico

**Figura 9** - Estrutura química da Melatonina

**Figura 10** – Biossíntese da Melatonina

**Figura 11** - Índice de infecção de *Toxoplasma gondii* em células LLC-MK2

**Figura 12** – Imagens de microscopia eletrônica de transmissão de células LLC-MK2 infectadas com *Toxoplasma gondii*, com ou sem melatonina (3mM)

**Figura 13** - Atividade *anti-Toxoplasma* dos complexos (1) e (2)

**Figura 14** – Microscopia de luz em células tratadas ou não com os complexos de cobre (II) (1) e (2)

**Figura 15** – Crescimento de *T. gondii* em células LLC MK2 após tratamento com complexos 1 e 2 ou sulfadiazina (SDZ).

**Figura 16** – Imagens de microscopia eletrônica de varredura de células LLC-MK2 infectadas com *T. gondii* que não foram tratadas ou tratadas por 48 h com 12,5 µmol/L de complexo 2.

**Quadro 1** – Especificação taxonômica clássica do *Toxoplasma gondii*

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

**AIDS** – Síndrome da imunodeficiência adquirida, do inglês: acquired immunodeficiency

syndrome

**DHFR:** Di-hidrofolato redutase

**DHPS:** Di-hidropteroato sintase

**ELISA** – Ensaio Imunoenzimático

**DNA** – Ácido desoxirribonucleico

**HIV** - Vírus da imunodeficiência humana

**IgG** – Imunoglobina G

**IgM** – Imunoglobina M

**IC50** – Concentração inibitória do crescimento celular em 50%

**LLC-MK2** – Células epiteliais de rim de macaco Rhesus (*Macaca mulatta*)

**RNA-** Ácido ribonucleico

**ROS** – Espécies reativas de oxigênio

**SDZ** – Sulfadiazina

**SNC** – Sistema Nervoso Central

**µm** - micrometro

**µM** – micromolar

**5-HT** - 5-hidroxitriptamina

## SUMÁRIO

### RESUMO

### ABSTRACT

### LISTA DE ILUSTRAÇÕES E QUADROS

### LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>12</b>
1.1. <i>Toxoplasma gondii</i> .....	12
1.2. Melatonina.....	13
1.3. Metalocomplexos .....	14
<b>2. JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>15</b>
<b>3. OBJETIVO.....</b>	<b>16</b>
3.1. Objetivo Geral.....	16
<b>4. METODOLOGIA .....</b>	<b>17</b>
4.1. Tipo de Estudo	
4.1.1. – Primeira Etapa – Fontes .....	17
4.1.2. Segunda Etapa – Coleta de Dados.....	17
4.1.3. Interpretação de Dados e Discussão.....	18
<b>5. REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>19</b>
5.1. <i>Toxoplasma gondii</i> .....	19
5.1.1. Taxonomia.....	19
5.1.2. Ciclo de Vida do <i>Toxoplasma gondii</i> .....	20
5.1.2.1. Taquizoítos .....	22
5.1.2.2. Cistos Teciduais.....	22
5.1.2.3. Oocistos .....	23
5.2. Toxoplasmose .....	25
5.2.1. Toxoplasmose congênita .....	25
5.2.2. Toxoplasmose ocular .....	26
5.2.3. Toxoplasmose em pacientes imunocompetentes .....	27
5.2.4. Toxoplasmose em pacientes imunocomprometidos .....	28
5.2.5. Diagnóstico.....	29
5.2.6. Tratamento .....	30
5.2.6.1. Sulfadiazina .....	31
5.2.6.2. Pirimetamina.....	32

5.2.6.3. Esparamicina .....	33
5.2.6.4. Clindamicina.....	34
5.2.6.5. Ácido Folinico .....	35
5.2.6.6. Efeitos colaterais e mecanismos de resistência.....	35
5.3. Melatonina.....	36
5.3.1 Biossíntese de Melatonina.....	38
5.3.2 Quimioterapia com Melatonina.....	39
5.3.2.1 Toxoplasmose e Melatonina.....	40
5.4. Metalocomplexos .....	43
5.4.1 Quimioterapia com Metalocomplexos.....	43
5.4.1.1 Toxoplasmose e Metalocomplexos.....	43
<b>6. DISCUSSÃO.....</b>	<b>48</b>
<b>7. CONCLUSÃO .....</b>	<b>50</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>51</b>

# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1. *Toxoplasma gondii*

*Toxoplasma (T.) gondii*, é um parasita intracelular obrigatório, agente etiológico causador da toxoplasmose, uma zoonose prevalente mundialmente, sendo considerada como a mais cosmopolita de todas as zoonoses e tal êxito está acoplado a ampla variedade de hospedeiros que esse parasita possui. (Tenter *et al.*, 2000; Carruthers, 2002; Silva *et al.*, 2003). Possui importância veterinária e médica por ser causa de abortos espontâneos e doença congênita em várias espécies de hospedeiros intermediários.

Os felinos, especialmente os gatos, desempenham importante papel na transmissão do *T. gondii* para humanos e outros animais (Langoni *et al.*, 2001), tendo eles um papel central na epidemiologia da toxoplasmose, pois são os únicos hospedeiros definitivos do parasita e sexualmente transmissíveis. Ao eliminar os oocistos do parasita nas fezes, eles são a única fonte de infecção para os outros animais, já que os oocistos são produzidos pela fase sexual do ciclo e estão restritos ao epitélio intestinal desses animais e são resistentes às condições ambientais, (Daguer *et al.*, 2004). A toxoplasmose também pode ser transmitida congenitamente quando a infecção aguda coincide com a gravidez do hospedeiro intermediário, como no caso de humanos, ou por meio de hábitos alimentares inadequados, como ingestão de alimentos ou água contaminados com cistos do parasita. (Miller *et al.*, 1972; Dubey, 1995; Canton *et al.*, 2015).

Durante o ciclo do *Toxoplasma gondii* pode-se observar três estágios infectantes: oocistos/esporozoíto, taquizoítos e bradizoítos. Os oocistos, que contém esporozoítos, são estágios formados durante o ciclo sexual do protozoário que ocorre no trato intestinal dos felídeos e são os responsáveis pela contaminação da água, alimentos e solo. O estágio taquizoíto ocorre na fase aguda da toxoplasmose, e o estágio bradizoíto que é normalmente encontrado na face interna de cistos teciduais e tem um tropismo pelo cérebro e músculo esquelético durante a fase de infecção crônica (Hill & Dubey, 2005).

Quando associada a indivíduos imunocompetentes, a toxoplasmose pode ser uma doença assintomática em 80% a 90% dos casos. Quando os sintomas estão presentes, são característicos, manifestando-se como febre, linfadenopatia, hepatoesplenomegalia e, eventualmente, manchas e lesões na pele. Em pessoas imunocomprometidas, pode ocorrer encefalite, coriorretinite, pneumonia e miocardite. Os sintomas são mais graves durante a gravidez porque podem levar a alterações do feto em desenvolvimento, além de frequentemente causar aborto espontâneo, malformações fetais, hidrocefalia, neuropatia e alterações neuromusculares. Santana *et al* (2003) relaciona o risco de toxoplasmose

durante a gravidez a três fatores: prevalência na comunidade, quantidade de vezes em que a gestante entra em contato com uma fonte de infecção, como solo contaminado, por exemplo, e o número de mulheres suscetíveis, ou seja, o número de mulheres que não foram vacinadas devido à infecção anterior, onde se supõem-se que essas mulheres estavam assintomáticas e em decorrência desse fato não sabiam que estavam infectadas. (Luder *et al.*, 1998; Santana *et al.*, 2003; Da Silva *et al.*, 2006; Kessl *et al.*, 2006; Brasil, 2010).

O diagnóstico precoce e o tratamento antiparasitário adequado da mãe demonstraram reduzir a taxa de transmissão para o feto, reduzindo assim o número de sequelas de infecção intrauterina (Igarashi, 2018). Atualmente, as drogas utilizadas no tratamento da toxoplasmose são a pirimetamina e a sulfadiazina, mas essa terapia pode trazer sequelas ao organismo do paciente, como a supressão da medula óssea, que pode ser minimizada com a administração concomitante de ácido fólico que desempenha um papel importante no processo de proliferação celular, ou seja, nas células-tronco hematopoiéticas da medula óssea. No entanto, os efeitos teratogênicos da pirimetamina impedem seu uso em gestantes infectadas por *T. gondii* que recebem uma alternativa de tratamento: o uso dos medicamentos clindamicina e espiramicina, suplementados com ácido fólico. O uso dessas drogas nesta terapia é específico para a forma taquizoíta do parasita, entretanto, nenhuma droga se mostrou eficaz contra a forma cística do parasita. (Katlama *et al.*, 1996; Castro *et al.*, 2001).

## **1.2. Melatonina**

A melatonina (MEL), ou N-acetil-5-metoxitriptamina, é o principal hormônio sintetizado pela glândula pineal dos vertebrados. Descoberto pelo dermatologista Aaron Lerner em 1958, recebeu o nome em decorrência a sua capacidade de contração dos melanóforos de melanócitos de sapos, iluminando assim a pele desses animais. É produzida em sua grande maioria na ausência de luz e é responsável pelo controle do ciclo circadiano, responsável por regular o sono, (Zhang & Zhang, 2014), e é dividido em fases claras e escuras com base em sua produção e atividade (Bagnaresi *et al.*, 2012).

Esse neurohormônio pode ser produzido em pequenas quantidades pela retina (Cardinali & Rosner, 1971; Tosini & Menaker, 1998), pele (Slominski *et al.*, 2005), medula óssea (Conti *et al.*, 2000) e trato gastrointestinal (Raikhlin & Kvetnoy, 1976; Bubenik, 2002). Sua síntese é baixa durante o dia e alta à noite em concentrações picomolares (Lynch *et al.*, 1975). Além de importantes funções metabólicas e

fisiológicas, a melatonina possui propriedades antioxidantes, antitumorais, antibacterianas e imunomoduladoras (Vielma *et al.*, 2014). A melatonina também tem a capacidade de proteger o corpo de infecções por vírus, bactérias e protozoários (Srinivasan *et al.*, 2010). Bagnaresi *et al.* (2012) descreveram que a melatonina pode regular a fisiologia dos parasitas e, portanto, seu desenvolvimento.

### 1.3. Metalocomplexos

Atualmente, os efeitos biológicos de novos compostos, que utilizam núcleos metálicos, os chamados metalocomplexos, compostos inorgânicos com boa atividade biológica, como fungicidas, bactericidas e antivirais, vêm sendo estudados (Singh *et al.*, 2000; Nath *et al.*, 2001). Os metais, especialmente os metais de transição, possuem uma variedade de atividades e vantagens em relação aos medicamentos mais comuns baseados em compostos orgânicos (Van Rijt & Sadler, 2009). A capacidade de troca de ligantes permite que os metais interajam e se coordenem com diferentes biomoléculas, aumentando assim a lipofilicidade do fármaco que, ao se coordenar com o metal, facilita a passagem do composto pelas membranas biológicas (Ahmad *et al.*, 2006; Bruijninx & Sadler, 2008). Estudos anteriores relataram complexos metálicos como uma alternativa à terapia anticâncer, devido a propriedades como inibição de enzimas, geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) e direcionamento seletivo a células cancerosas. Os complexos metálicos podem atacar o câncer de maneira diferenciada, superar resistência a medicamentos e reduzir danos às células saudáveis (Bruijninx & Sadler, 2008).

Complexos metálicos também podem servir como alternativas na busca de compostos com atividade antiparasitária. Estudos *in vitro* testaram a atividade de diferentes complexos metálicos contra *Plasmodium (P.) falciparum*, sendo os compostos de manganês (II), cobre (II) e ferro (II) os mais adequados para o desenvolvimento de possíveis drogas antimaláricas (Hubin *et al.*, 2014). ROS são moléculas reativas contendo oxigênio, com papéis essenciais em sinalização celular e defesa imunológica, contra patógenos e na regulação do metabolismo celular. Contudo, seu desequilíbrio pode causar estresse oxidativo e contribuir para doenças (Lodish *et al.*, 2000). Os compostos de ferro (III) mostraram aumento da produção de ROS em células hospedeiras infectadas, reduzindo as populações de *T. gondii* em 60% através da morte celular envolvendo apoptose e autofagia (Portes *et al.*, 2015). Estudos realizados usando compostos metalocomplexos de ferro concluíram que tais compostos são ativos contra o *T. cruzi*,

pois foram capazes de regular a evolução do parasita na forma epimastigota mantida *in vitro* e reduziu o potencial de membrana mitocondrial do parasita (Moreira, *et al.*, 2021)

## **2. JUSTIFICATIVA:**

As doenças infecciosas parasitárias afetam milhões de pessoas nas diferentes regiões geográficas mais pobres do planeta e representam uma crescente ameaça mundial. A toxoplasmose é uma doença causada pelo *T. gondii*, um parasita presente em todo o planeta e com elevada prevalência na população mundial, estimando-se que cerca de 1/3 da população mundial já tenha entrado em contato com este parasita. O tratamento convencional da toxoplasmose é feito pela combinação dos fármacos pirimetamina e sulfadiazina. Entretanto, essa combinação não é capaz de eliminar a forma latente do parasita do organismo (cistos de bradizoítas), causando severos efeitos colaterais em razão da alta dosagem deste fármaco administrada. Como trata-se de uma zoonose cosmopolita, a necessidade do desenvolvimento de novas terapias é urgente e essencial.

### **3. OBJETIVOS:**

#### **3.1 Objetivo Geral:**

Este projeto tem como objetivo fazer uma revisão sistemática que estabeleça uma relação entre o tratamento atual e o uso tanto da Melatonina quanto de metalocomplexos durante a infecção do *Toxoplasma gondii*, baseada em evidências atuais da literatura científica.

## **4. METODOLOGIA**

### **4.1. Tipo de estudo**

O trabalho desenvolvido segue os princípios da pesquisa exploratória, por meio de pesquisa bibliográfica que, segundo Gil (2008), “é desenvolvida a partir de material já elaborado, incluindo livros e artigos científicos”.

### **4.2. Base de Dados**

Este trabalho inclui um estudo de revisão sistemática sobre tratamento da toxoplasmose. Para a busca dos artigos foram utilizados como base de dados as plataformas Scientific Electronic Library Online (SciELO), Science Direct, Medical Analysis and Retrieval System Online (Medline) via PubMed e Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS) via Biblioteca Virtual em Saúde (BVS).

### **4.3. Descritores de Busca**

Para refinar a busca foram utilizadas palavras-chaves em inglês e português, como: toxoplasmose, toxoplasmosis, tratamento, tratament, melatonina, melatonin, metalocomplexos, metalocomplexes.

### **4.4. Critérios de inclusão e exclusão**

Foram incluídos artigos originais e relatos de casos descritos no período entre 2000 e 2022, embora algumas obras tenham sido referenciadas no século passado. Foram avaliados artigos que tivessem como principal abordagem o tratamento da toxoplasmose. Foram excluídos estudos publicados sob a forma de editoriais, entrevistas, documentos e notas clínicas. Foram também pesquisados livros, informes técnicos, teses, dissertações e consensos que abordassem sobre o assunto.

### **4.5. Análise de Dados**

Para análise dos dados foram utilizadas as etapas de leitura destacadas por Gill: exploratória, seletiva, analítica e interpretativa.

Na leitura exploratória, pode ser definida como uma leitura rápida de material que identifica o material de interesse para pesquisa. Material sem interesse é descartado. Na leitura seletiva, após identificar o material que realmente é interessante para o estudo, o

material selecionado na etapa anterior é lido com mais profundidade. A leitura analítica visa organizar e resumir as informações contidas nas fontes e é apoiada pela criação de tabelas de leitura. Por fim, na leitura interpretativa, o conteúdo do material de pesquisa está relacionado ao conhecimento adquirido, buscando dar significado mais amplo aos achados obtidos por meio da leitura analítica.

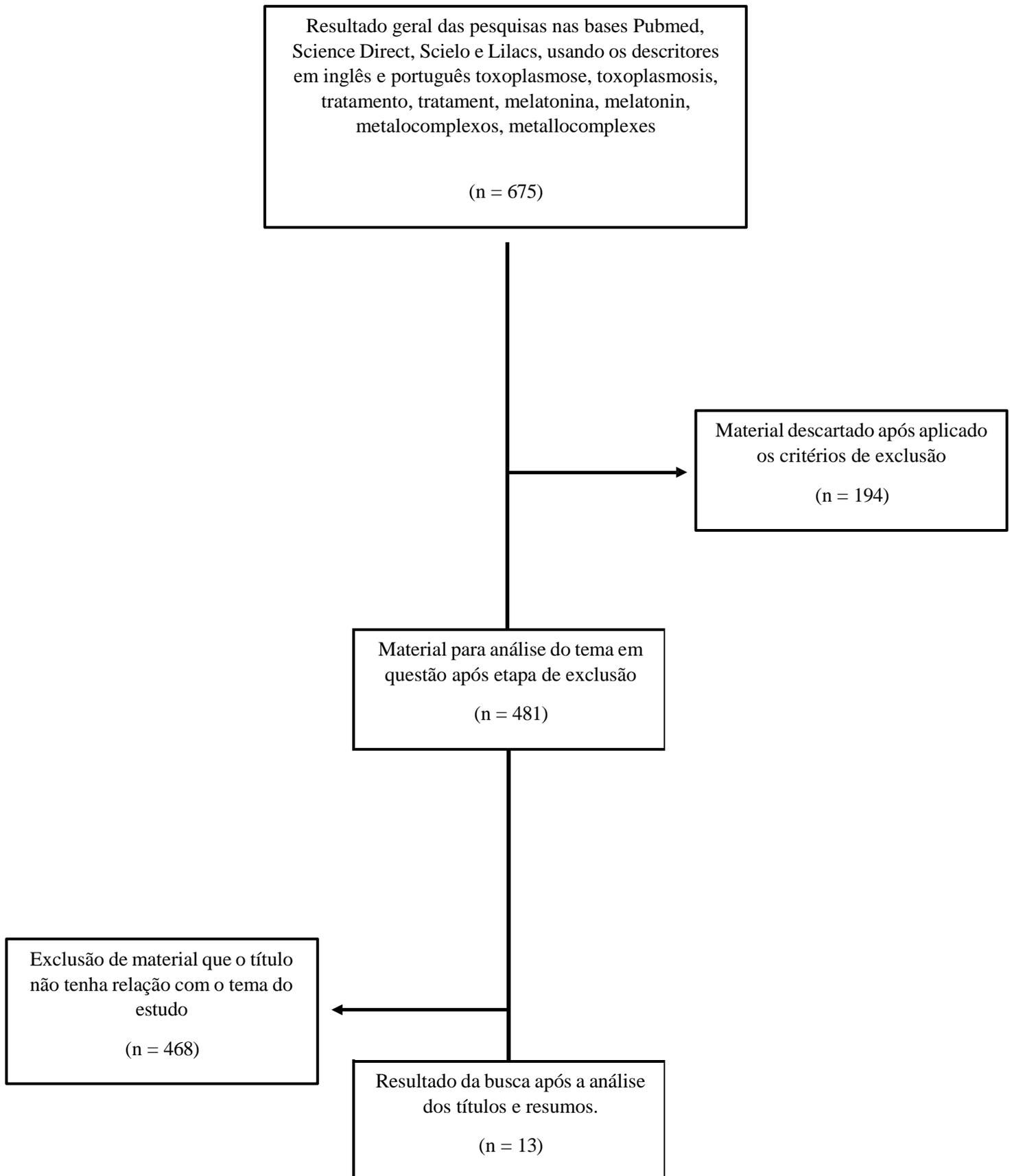
#### **4.6. Resultado da busca**

Os resultados completos obtidos dos artigos são mostrados na figura 1. Foram encontrados ao todo 675 artigos em todas as plataformas definidas para este estudo. Artigos repetidos nas plataformas, bem como na busca com diferentes descritores, foram desconsiderados na contagem.

Dentre os 675 artigos, 194 foram descartados por não estar dentro do período estipulado neste estudo e excluídos quanto ao idioma escolhido (português ou inglês) e tipo de investigação, na qual envolvia estudos publicados sob a forma de editoriais, entrevistas, documentos e notas clínicas.

Devido à grande quantidade de artigos explorados durante as pesquisas iniciais, o presente estudo evoluiu a partir de um processo de triagem e escolha das pesquisas que abordavam informações pertinentes ao objetivo da pesquisa. A amostra final consistiu em 13 artigos científicos, os quais foram selecionados com base na relevância e qualidade de seu conteúdo, em relação ao tema proposto, e foram contextualizados de acordo com a situação atual.

Figura 1. Esquema das etapas realizadas durante a busca dos artigos para a revisão sistemática.



## 5. REVISÃO DE LITERATURA

### 5.1. *Toxoplasma gondii*

*Toxoplasma gondii* foi descoberto em 1908 quase que simultaneamente. Primeiramente descrito na Tunísia, norte da África, por Nicolle e Manceaux que o isolaram de um roedor, e no mesmo ano no Brasil o parasita foi descrito por Splendore, em um coelho, sendo intitulado de *Toxoplasma cuniculi*. O nome *T. gondii* foi proposto por Nicolle e Manceaux em 1969 baseado na morfologia do taquizoíta (toxon= arco; plasma = forma) e *gondii* pelo fato do parasita ter sido encontrado em roedor da espécie *Ctenodactylus gundii* (Rodentia, Ctenodactylidae).

*Toxoplasma gondii* é um protozoário intracelular obrigatório capaz de infectar e se multiplicar em qualquer célula nucleada de mamíferos, aves e répteis. É o agente etiológico da toxoplasmose, uma zoonose cosmopolita, considerada uma das infecções parasitárias mais comuns ao homem e a outros animais de sangue quente (Nicolle & Manceaux, 1908; Splendore, 1908).

A genética do *Toxoplasma gondii* é impressionante e complexa, a realização da pesquisa genômica avançada nos últimos anos apresentou muitas informações importantes sobre seu genoma e variabilidade genética. O genoma do *Toxoplasma gondii* é relativamente pequeno quando comparado ao de outros organismos, sendo composto por cerca de 80 megabases e contendo aproximadamente 7.000 a 8.000 genes. O parasita exibe uma perceptível variabilidade genética. Existindo três principais linhagens genéticas do parasita: Tipo I, Tipo II e Tipo III. Essas linhagens diferem em termos de virulência e capacidade de infectar diferentes hospedeiros. A variabilidade genética é um dos motivos pelo qual o parasita pode causar uma ampla gama de sintomas em humanos e outros animais. O *Toxoplasma gondii* é capaz de recombinação genética, o que contribui para sua capacidade de adaptação a diferentes ambientes e hospedeiros. Isso pode explicar, em parte, a variabilidade genética observada nas diferentes linhagens.

### 5.1.1 Taxonomia

Sua especificação taxonômica clássica, pode ser vista no Quadro 1.

QUADRO 1 – Especificação taxonômica clássica do *Toxoplasma gondii*

TAXONOMIA	
Reino	Protista
Filo	Apicomplexa
Classe	Sporozoa
Subclasse	Coccidia
Ordem	Eimeriorina
Família	<i>Sarcocystidae</i>
Gênero	<i>Toxoplasma</i>
Espécie	<i>Toxoplasma gondii</i>

Fonte: (Nishi *et al.*, 2008)

### 5.1.2 Ciclo de vida do *Toxoplasma gondii*

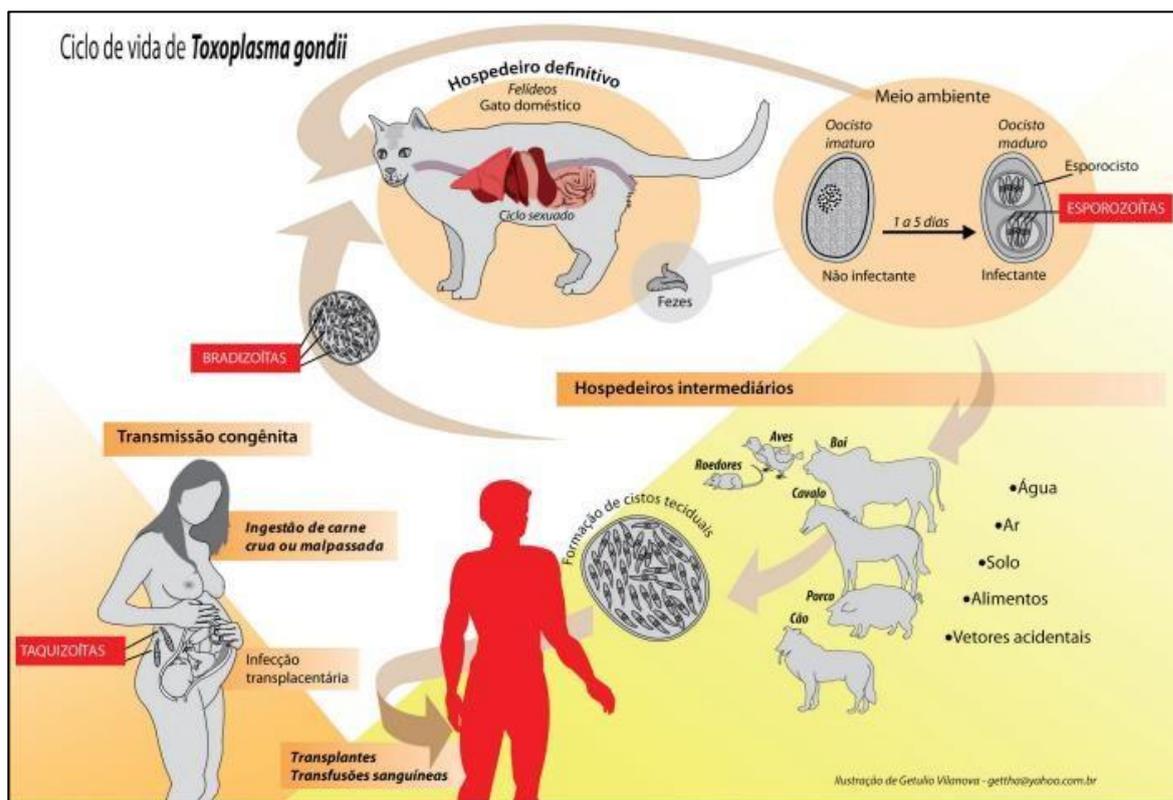
Apesar da descoberta do *Toxoplasma gondii* ter ocorrido em 1908, os mecanismos de infecção do parasita permaneceram sendo uma incógnita por um tempo. Em 1913 dados descritos por Castellani demonstram que foi nesse ano o primeiro caso de toxoplasmose humana, em um menino com quadro febril e com esplenomegalia. Anos depois, em 1939, nos Estados Unidos, foi relatado um caso de toxoplasmose congênita, onde um recém-nascido que morreu após 30 dias de vida apresentou encefalite, mielite e meningite. Sabin em 1942 descreveu os sinais clínicos típicos da toxoplasmose congênita como a hidrocefalia, microcefalia, coriorretinite e calcificação intracraniana, o que levaram esses sinais a ficarem conhecidos como tetrade de Sabin (Sabin, 1942). Em 1950, ainda não se entendia a gravidade causada pelo *T. gondii*, sendo ele o causador de uma doença tão perigosa em humanos devido à transmissão congênita. Com o desenvolvimento das técnicas de diagnóstico e dos testes sorológicos foi evidenciado que a infecção era muito comum em homens e animais e que a transmissão ocorria através da ingestão da carne crua ou mal-cozida (Ferguson, 2009).

Jacob *et al.* em 1960 comprovaram a resistência dos bradizoítas de cistos teciduais às enzimas proteolíticas, o que aumentava suas chances de sobrevivência no organismo hospedeiro. Tal hipótese foi comprovada por Desmonts *et al.* (1965), que descreveu que a ingestão desse tipo de alimento seria uma das vias de transmissão do parasita. Ainda

nesse mesmo ano, Hutchison verificou que os oocistos do parasita apresentavam resistência à dessecação, ou seja, eram capazes de sobreviver e permanecerem infecciosos em condições secas por um período prolongado. Essa resistência à dessecação é uma característica importante do parasita, pois permite que ele sobreviva em ambientes externos e seja transmitido por meio do consumo de água ou alimentos contaminados com oocistos infecciosos. Essa resistência é uma adaptação que contribui para a disseminação e a sobrevivência do *T. gondii* no ambiente. Em meados dos anos 70, o ciclo biológico do toxoplasma começou a ser mais bem compreendido. Os oocistos encontrados nas fezes dos felídeos, geralmente gatos, eram produto do desenvolvimento sexual parasitário no intestino desses animais. Dessa maneira assumiu-se que o *Toxoplasma gondii* possui como hospedeiros definitivos os membros da família *Felidae* e como hospedeiros intermediários, outros animais de sangue quente, incluindo o homem. Seu ciclo de vida é complexo, podendo este parasita se replicar inúmeras vezes usando ciclos sexuado ou assexuado e suas vidas de transmissão podem ser estabelecidas por duas rotas: congênita (de mãe para filho) e infecção oral por distintos estágios de infecção (Muller *et al*, 1972; Frenkel *et al*, 1974)

O ciclo sexuado ocorre nas células epiteliais intestinais do hospedeiro definitivo, ou seja, gatos domésticos e outros felídeos e o ciclo assexuado ocorre tanto nesses animais quanto nos hospedeiros intermediários, ou seja, animais de sangue quente, o que inclui as aves e o homem (Dubey *et al.*, 1998; Boothroyd *et al.*, 2002). Na figura 2, demonstra-se o ciclo de vida do toxoplasma.

**Figura 2.** Ciclo de vida de *Toxoplasma gondii*: vias de transmissão entre os hospedeiros intermediários e definitivos



Fonte: Moura *et al.* (2009)

Devido a presença de diferentes fatores que facilitam a infecção pelo parasita, assim como sua capacidade de sobrevivência em condições adversas, permite ao *Toxoplasma gondii* que sua transmissão seja contínua. A fase sexual do ciclo epitelial intestinal do parasita ocorre no intestino dos hospedeiros definitivos – os felídeos, mais comumente os gatos - após a infecção com alimentos ou água contaminados. Esporozoítos ou bradizoítos liberados de cistos ou oocistos no intestino desses animais penetram nas células epiteliais do lúmen intestinal, onde proliferam e amadurecem. Após passar por processos como esquizogênese e gametogonia, oocistos não esporulados são liberados no ambiente uma a três semanas após a infecção do hospedeiro (Dubey *et al.*, 1988).

Dando sequência ao ciclo, a infecção dos referidos hospedeiros intermediários ocorre pela ingestão de cistos e oocistos que tem suas paredes rompidas por enzimas gástricas, onde bradizoítos e esporozoítos, respectivamente, ao se emergirem e penetrarem em células da mucosa intestinal, se convertem em taquizoítos, essa contaminação ocorre posterior ao consumo de água ou alimentos contaminados (Ferguson, 2002; Rougier *et al.*, 2016). Esses taquizoítos quando se disseminam, acabam

por se multiplicar o que impulsiona o rompimento da célula e a dispensa dos parasitas na corrente sanguínea, com a finalidade de que novas células hospedeiras sejam invadidas, caracterizando assim o ciclo lítico. O *T. gondii* pode ser transmitido por carnivorismo, contato com fezes de um gato infectado ou ainda por transmissão vertical mãe para filhote, isso referindo-se à infecção animal para animal. Em seres humanos, a forma de contaminação pode se dar através do contato direto com as fezes de um animal contaminado, ingestão de carne malcozida proveniente de um animal intermediário contaminado, água e alimentos contaminados por oocistos, infecção por via transplacentária, transplante de órgãos, entre outros (Jacobs, 1956; Dubey *et Al.*, 1988; Petersen *et Al.*, 2010).

#### **5.1.2.1. Taquizoítos**

Frenkel (1973) cunhou o termo "taquizoíto" (*taqui* = rápido, em grego) para descrever o estágio evolutivo de parasitas que se multiplicam rapidamente em muitos tipos de células de hospedeiros intermediários e nas células epiteliais não intestinais do hospedeiro definitivo. Os Taquizoítos também têm sido chamados de trofozoítos, endodiozoítos ou endozoítos, que são nomenclaturas mais antigas (revisto em Dubey, Lindsay & Speer, 1998). Os taquizoítos são intracelulares obrigatórios em todas as células nucleadas. Eles invadem preferencialmente as células por infiltração ativa e residem dentro de vesículas parasitárias. Os taquizoítos são o estágio que leva à fase aguda da infecção (Dubey, 2002; Barbosa *et al.*, 2005; Jones & Dubey, 2010).

#### **5.1.2.2. Cistos Teciduais**

Os taquizoítos intracelulares de *T. gondii* originam outro estágio evolutivo denominado bradizoítos. A principal característica biológica desta forma infecciosa é a capacidade de se reproduzir lentamente (*bradi* = lento, em grego). Os eventos que ocorrem após a diferenciação dos bradizoítos são alterações morfológicas na membrana e na matriz das vesículas parasitárias que compõem a parede do cisto, dando origem ao cisto tecidual, estrutura característica da fase crônica da infecção.

#### **5.1.2.3. Oocistos**

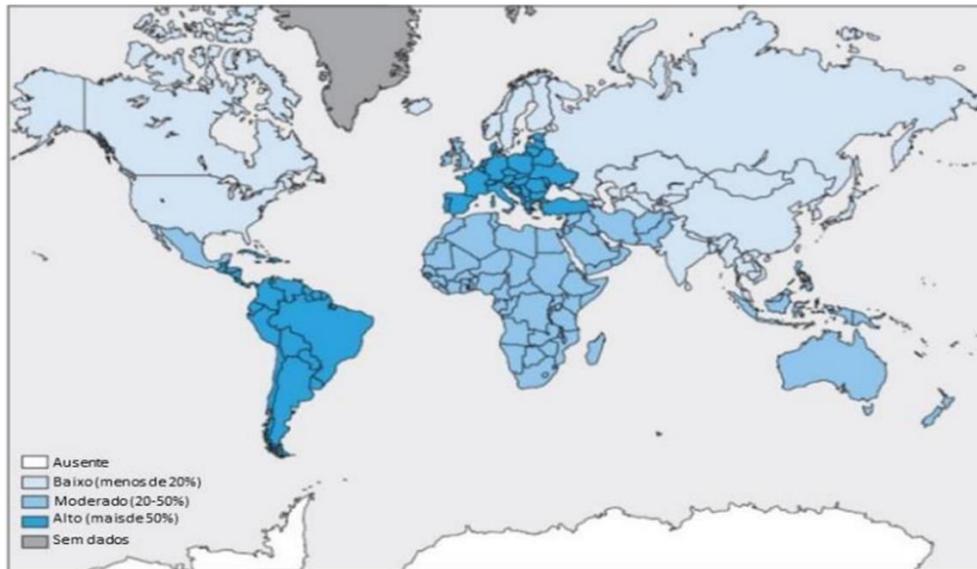
Oocistos contêm formas infectantes de *T. gondii* e são produzidos no epitélio intestinal dos felídeos (hospedeiros definitivos) e eliminados, ainda imaturos, junto com

as fezes no meio ambiente, onde sofrem maturação (Tenter, Heckeroth & Weiss, 2000). Esse processo de maturação ou esporulação, que ocorre no meio ambiente, pode durar de um a cinco dias, sob a influência da oxigenação, umidade e temperatura adequadas (Hill & Dubey, 2002; Dubey, 2004). Os oocistos não esporulados têm forma ovalada e dupla membrana. Os oocistos esporulados são elípticos, contêm dois esporocistos e cada esporocisto possui quatro esporozoítas. A formação de oocistos ocorre mediante reprodução sexuada ou ciclo enteroepitelial exclusivo de gatos domésticos e outros felídeos, nos quais se observam (no epitélio intestinal, mais precisamente na região jejunoileal do intestino delgado) os processos de esquizogonia, gametogonia e esporogonia (Hill & Dubey, 2002; Ferguson, 2009; Jones & Dubey, 2010).

## **5.2 Toxoplasmose**

A toxoplasmose é uma zoonose causada pelo parasita *T. gondii*, é amplamente disseminada mundialmente, sua epidemiologia é ampla e compreende diversas condições que complexificam o controle e a prevenção da doença (Tenter *et al.*, 2000). Apresenta uma grande importância na saúde pública, já que possui uma vasta distribuição e acredita-se que cerca de um terço da população apresentam reação sorológica positiva para o parasita, estimasse que a prevalência seja de 70% no Brasil (Figura 3) (Cantos *et al.*, 2000; Amendoeira *et al.*, 2003; Marobin *et al.*, 2004). Sua incidência distingue-se, no entanto, quando se trata de países subdesenvolvidos que apresentam uma maior incidência do que os países desenvolvidos. Condições ambientais podem estabelecer o grau de transmissão natural da infecção pelo toxoplasma. A infecção pode ocorrer mais predominante em climas quentes, sendo também mais dominante em áreas úmidas, entretanto esse panorama não é absoluto. Outros fatores predisponentes relevantes são o estado imunológico do hospedeiro, a forma infectante (cisto ou oocisto), a genética do parasita, o tratamento recebido, hábitos culturais e de higiene. Países com alto padrão de vida, estão mais suscetíveis a ingestão de comidas cruas ou malpassada, como por exemplo em países ocidentais. Já em países com muitos gatos, é mais provável que a infecção ocorra pelo contato com os oocistos. (Dubey *et al.*, 2005; Furtado *et al.*, 2012).

Figura 3. Distribuição geográfica da prevalência de anticorpos para *Toxoplasma gondii* pelo mundo.



Fonte: Traduzido de Hill & Dubey, 2014.

É comumente relatada em praticamente qualquer mamífero e até mesmo algumas espécies de pássaros. Antes da epidemia que acometia principalmente indivíduos com síndrome de imunodeficiência, era uma infecção pouco assimilado (Hill *et al.*, 2005; Sukthana, 2006). Dados descrito por Pappas (2009) e corroborado por Robert-Gangneux (2012), revelam que a toxoplasmose é uma doença oportunista que estimativamente atinge em torno de 25 a 30% da população mundial.

A forma mais comum de infecção em seres humanos é a infecção crônica (assintomática) podendo ocorrer a forma aguda da infecção principalmente em paciente imunocomprometidos e fetos congenitamente infectados, acarretando o desenvolvimento de sintomas graves (Skariah *et al.*, 2012). Em pacientes imunocomprometidos, a reativação da infecção através da conversão dos bradizoítas em taquizoítas pode ocasionar toxoplasmose cerebral (encefalite toxoplásmica) (Luft *et al.*, 1984; Dubey & Jones, 2008). Nesses pacientes o desenvolvimento da doença geralmente ocorre por reativação da infecção por *T. gondii* devido à deficiência da resposta imune mediado por células T (Lang *et al.*, 2007). Em indivíduos com síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS), a toxoplasmose é a principal causa da infecção no sistema nervoso central (Mittal & Ichhpujani, 2011). Em pacientes imunocompetentes, a infecção assintomática ocorre, pois, o parasita se mantém na forma latente, bradizoíta, no organismo do hospedeiro. Nestes pacientes o diagnóstico sorológico é geralmente realizado para acompanhar o sistema de defesa do organismo e acompanhar a imunidade, sendo também utilizado em

gestantes, principalmente naquelas que se encontram na fase inicial da gravidez, pacientes sem histórico de infecção congênita, doadores ou receptores de órgãos transplantados e pacientes com febre ou com linfadenopatia (nódulos linfáticos em condições anormais) (Gangneaux & Dardé, 2012).

### **5.2.1. Toxoplasmose congênita**

A toxoplasmose vem sendo cada vez mais uma preocupação a nível de saúde pública, principalmente de maneira congênita. Quando a transmissão ocorre pela primeira vez em gestantes, existe a possibilidade de ocorrer a infecção materno-fetal, ocasionando em toxoplasmose congênita. Em 1923 foi descrito por Jankú, um oftalmologista tchecoslováquio, o primeiro caso de toxoplasmose congênita humana, tal evento foi visto em uma criança de cega de 11 meses, que apresentava hidrocefalia e veio a óbito depois de pouco tempo. Ao realizar a autópsia foram constatados em seus olhos, estruturas semelhantes a cistos, ao que o oftalmologista nomeou de “esporocistos”. Mesmo que a descrição dos sintomas apontasse para toxoplasmose, as análises conclusivas não puderam ser feitas, uma vez que por conta de um bombardeamento durante a Segunda Guerra Mundial, as amostras foram perdidas (Jankú, 1923; Weiss & Kim, 2007). Anos depois em 1939 nos Estados Unidos foi retratado o que seria então o primeiro caso, agora conclusivo de toxoplasmose em uma criança recém-nascida, que foi a óbito com 1 mês de vida. A autópsia confirmou no olho direito da criança, assim como na medula espinhal e no cérebro a presença de *T. gondii*

A transmissão materno-fetal (transmissão vertical) acontece por via hematogênica, ou seja, ocorre quando os taquizoítos presentes na circulação materna atingem e atravessam a placenta, onde ao se proliferarem rapidamente, se tornam capazes de infectar os tecidos e a circulação do feto em formação. Embora haja relatos de que a transmissão congênita pode ocorrer apenas durante a infecção materna aguda (por conta da maior parasitemia), é relatado que também pode ocorrer durante a fase crônica da infecção, por conta dessa amplitude do momento da infecção, que se recomenda fazer o tratamento durante todo o período gestacional, mesmo que o feto não esteja infectado. (Frenkel, 2010; Weiss & Kimm, 2007; Arora *et al.*, 2017).

A transmissão pela ingestão de leite humano não é muito descrita, entretanto se há relatos de infecção pelo consumo de leite de cabra não pasteurizado (Remington *et al.*, 2011). A velocidade da transmissão fetal depende de três fatores: a doença parasitária da mãe, a idade gestacional no momento da infecção e a resposta imunológica da mãe ao

Toxoplasma (Wilson & Remington, 1992). A aquisição da infecção por gestantes pode causar toxoplasmose congênita que pode gerar graves consequências, ou até mesmo a morte do feto em cerca de 3% dos casos, principalmente durante o primeiro trimestre de gestação (Dunn *et al.*, 1999; Wallon *et al.*, 2013; Binquet *et al.*, 2019).

Estudos têm demonstrado que mais de 90% das mulheres infectadas são assintomáticas (Montoya & Rosso, 2005). A frequência de transmissão direta é proporcional ao período de gravidez, 25% no primeiro trimestre, 54% no segundo trimestre e 65% no terceiro trimestre. Por outro lado, a gravidade da doença é inversamente proporcional ao tempo de gravidez, ou seja, quanto mais cedo ocorrer a infecção da mãe durante a gestação maiores são os riscos de contaminação materno-fetal. (Foulon *et al.* 2000; Souza *et al.* 2015). Em relação as manifestações clínicas que a criança pode desenvolver, elas variam muito, e incluem condições que podem surgir logo após o nascimento e ao longo sua infância, como problemas cerebrais (microcefalia e hidrocefalia), calcificações cerebrais, epilepsia, retardo mental e psicomotor; (Swisher *et al.*, 1994; Montoya & Liesenfeld, 2004) inflamação da retina (retinocoroidite), assim como estrabismo e cegueira, dentre outras sequelas (Tenter *et al.*, 2000; Wallon *et al.*, 2013; Binquet *et al.*, 2019). As infecções adquiridas antes do período gestacional são consideradas mais seguras e com menores riscos de danos ao feto (Elmore *et al.*, 2010).

O tratamento da gestante é diferente, sendo o tratamento realizado com espiramicina (antibiótico ativo contra a forma do taquizoíta do parasita) (Garin & Eyeles, 1958; Niel *et al.*, 1981), com o objetivo de reduzir a reprodução dos parasitas e por consequência a transmissão de mãe para filho. O tratamento pré-natal e neonatal de mulheres grávidas pode ajudar a reduzir o risco de sintomas de toxoplasmose congênita neonatal e morte fetal durante a gravidez (Dunay *et al.*, 2018; Binquet *et al.*, 2019).

### **5.2.2. Toxoplasmose ocular**

A toxoplasmose ocular é a manifestação clínica mais comum durante infecção pelo *T. gondii*, principalmente nos países latino-americanos (Furtado *et al.*, 2012). No Brasil, a toxoplasmose ocular é a causadora de pelo menos 50% dos casos de uveítes (vermelhidão nos olhos). (Commodaro *et al.*, 2009). Está relacionada a infecções congênitas e infecções adquiridas, sendo considerada a principal causa de coroidite retiniana, podendo causar perda de visão nos pacientes (Ferreira *et al.*, 2013). A prevalência da infecção pelo toxoplasma está relacionada com a idade, isso pode estar relacionado a fatores do sistema imune. (Holland, 2003). Se for toxoplasmose congênita,

pacientes infantis podem desenvolver catarata, seguida por retinocoroidite (Park & Nam, 2013). Por muitos anos, acreditou-se que a maior forma de desenvolver toxoplasmose ocular era por meio das vias congênitas. Está comprovado que a infecção após o nascimento também é uma razão importante para o desenvolvimento da toxoplasmose ocular (Grigg *et al.*, 2015). O trauma ocular causado pela toxoplasmose pode ser devido à invasão direta do tecido ocular pelo parasita (Furtado *et al.*, 2011), que produz um ponto focal de inflamação na retina e leva à degeneração e necrose dos tecidos circundantes (Park & Nam, 2013). Em pacientes imunocompetentes, a primeira lesão ocular é restrita e geralmente assintomática. O tratamento atual para toxoplasmose ocular é feito com sulfadiazina, pirimetamina e corticosteróides. No entanto, alguns fatores impedem o tratamento eficaz, como cistos formados por parasitas resistentes ao tratamento (Bossi *et al.*, 1998; Maenz *et al.*, 2014).

### **5.2.3. Toxoplasmose em pacientes imunocompetentes**

A maioria das pessoas infectadas é assintomática, mas o quadro clínico é bastante variável, casos raros de pneumonia por toxoplasmose foram relatados na literatura (Leal *et al.*, 2007) e toxoplasmose transmitida por indivíduos imunocompetentes (Neves *et al.*; 2011). As manifestações clínicas da infecção aguda incluem febre prolongada, cefaleia, linfadenopatia e mialgia ocasional, formando uma "Síndrome *mononucleose-like*" e hepatomegalia e hepatite com níveis moderadamente elevados de aminotransferase são comuns, e os hemogramas mostram linfocitose e a presença de linfócitos atípicos (Leal *et al.*, 2007). A confirmação sorológica em manifestações clínicas típicas é geralmente suficiente para o diagnóstico, mas o isolamento de parasitas ainda é o padrão ouro (Leal *et al.*, 2007). Outros sintomas também podem surgir, no diagnóstico diferencial é possível surgir casos com citomegalovirose, linfoma, tuberculose, sarcoidose, doença de arranhadura de gato, leucemia e o neoplasias metastáticas (Amato Neto *et al.*, 2002).

### **5.2.4. Toxoplasmose em pacientes imunocomprometidos**

Apesar da infecção por *T. gondii* ser muito comum em humanos, a manifestação dos sintomas clínicos está atrelada aos considerados grupos de risco, ou seja, aqueles que apresentam alguma limitação em seu sistema imune. Em pacientes imunocompetentes a toxoplasmose é assintomática na maioria dos casos, embora possa ocorrer sintomas leves como a linfadenopatia. As manifestações graves são raras de ocorrer, e incluem encefalite, miocardite ou hepatite (Ho-Yen, 1992; Tenter *et al.*, 2000).

Em relação aos pacientes com imunidade deficiente devido a fatores clínicos, como aqueles que estejam recebendo terapia imunossupressora com corticosteróides e drogas citotóxicas, receptores ou doadores de órgãos e medula óssea ou ainda que sejam portadores da síndrome da imunodeficiência humana (HIV) por exemplo, a doença pode levar ao desenvolvimento de sintomas graves e se tornar um risco de vida (Weiss & Dubey, 2009). Até a década de 1980 a toxoplasmose era um mistério em pacientes imunocomprometidos, uma vez que alguns fatores mascaravam a clareza dos sintomas, como por exemplo as neoplasias, imunossupressores por meio de medicamentos, as imunodeficiências congênitas (Amato Neto *et al.*, 2008)

Desde o surgimento da AIDS em 1981, a toxoplasmose tornou-se mais importante devido à possibilidade de recorrência, que pode ocorrer em indivíduos infectados há longo prazo por protozoários, e da gravidade da sua forma reativa nesses pacientes (Dannemann *et al.*, 1991). Nesses casos a toxoplasmose pode se desenvolver através de infecção adquirida ou da reativação de uma infecção prévia sucedendo em pneumonite, encefalite, miocardite, que se não tratadas corretamente podem ser fatais (Remington, 1974; Weiss; Dubey, 2009; Robert-Gangneux *et al.*, 2015).

A reativação pode ocorrer por meio da ruptura de cistos teciduais pré-existentes, que podem causar efeitos neurológicos, como encefalite e convulsões, além de outras doenças sistêmicas, como pneumonia (Robert-Gangneux & Dardé, 2012; Wang *et al.*, 2017). Para pacientes com câncer, o risco de reativação potencial de *Toxoplasma gondii* pode ocorrer durante o tratamento com drogas quimioterápicas porque elas suprimem a imunidade, por exemplo, no caso de leucemia, linfoma e mieloma (Wang *et al.*, 2017).

Em pacientes com HIV, a toxoplasmose está listada entre as 10 doenças mais comuns, é uma doença oportunista que causa efeitos graves no sistema nervoso central, tendo a encefalite como a manifestação mais comum e pacientes acometidos com essa condição podem apresentar transtornos neuropsiquiátricos, como ansiedade, psicose, demência o que pode levar o paciente a desenvolver distúrbios de comportamento e de personalidade (Ko *et al.*, 1980; Weiss & Kim, 2011; Basavaraju, 2016).

### **5.2.5. Diagnóstico**

A toxoplasmose é uma zoonose que possui várias particularidades consideráveis, o que torna a abordagem de diagnóstico laboratorial um grande desafio. (Petersen, 2005; Kodym *et al.*, 2007). A maneira como a toxoplasmose se apresenta clinicamente, o acometimento no decorrer da gravidez, assim como a probabilidade de infecção ao feto e

as manifestações em pacientes imunodeprimidos, são algumas das circunstâncias que acabam dificultando o diagnóstico (Garweg, 2005; Candolfi *et al.*, 2007; Flori *et al.*, 2009).

Devido a todas essas complexidades, foram desenvolvidos muitos recursos laboratoriais cuja interpretação exige muito mais do que a análise isolada de cada um deles, seja em termos de sensibilidade, especificidade ou qualquer parâmetro analítico. Como em muitos outros casos de doenças humanas, o diagnóstico de doenças infecciosas pode ser feito pela "via direta", incluindo a detecção do próprio microrganismo ou de seus componentes (proteínas, ácidos nucleicos), ou pela "via indireta". como detecção de anticorpos ou citocinas) (Garweg, 2005; Lefreve-Pettazzoni *et al.*, 2006, Sensini, 2006; Kasper *et al.*, 2009).

No diagnóstico direto a prioridade é identificar a presença do parasita no plasma ou nos líquidos biológicos, ou ainda, em componentes da morfologia do parasita. A pesquisa de anticorpos é o diagnóstico indireto mais publicado de diagnóstico e com isso o mais usado na prática clínica. No diagnóstico indireto, a reação de Sabin-Feldman ou teste de corante (*dye test*) é determinado como o padrão-ouro, isso porque para a realização desse teste, são utilizados toxoplasmas vivos e diluídos em concentrações decrescentes do soro que irá ser testado (Kasper *et al.*, 2009).

Independentemente do método usado, é importante usar amostras colhidas a cada duas semanas para determinar a taxa de soro conversão indicativa de uma infecção recente. O mais moderno ensaio imunoenzimático (ELISA) pode detectar reações de imunoglobulina M (IgM) compatíveis com infecções ativas recentes, e também pode indicar infecção crônica de imunoglobulina G (IgG) por exposição prévia ao parasita. O parasita também pode ser observado em órgãos que podem ser afetados pelo exame histopatológico. (Da Silva *et al.*, 2006).

### **5.3. Tratamento**

Quando a toxoplasmose humana foi reconhecida, inicialmente como uma doença de aquisição congênita e posteriormente de aquisição pós-natal (Weiss, 2009). Sabia-se que a enfermidade era grave, entretanto as opções terapêuticas eram desconhecidas. Conforme ocorria um avanço dos conhecimentos clínicos sobre a toxoplasmose, se tornou ainda mais necessário se buscar opções farmacológicas tanto para a prevenção da transmissão congênita, como para tratar os doentes.

A patogênese única do *Toxoplasma* apresenta desafios para a terapia medicamentosa. Ao contrário de outros apicomplexas, o *T. gondii* atravessa a barreira hematoencefálica e estabelece infecções persistentes que podem desenvolver resistência aos medicamentos. A droga ideal para toxoplasmose alcançaria concentrações terapêuticas, sistêmicas, cerebrais e oculares (Alday; Doggett, 2017).

### **5.3.1. Tratamento Convencional**

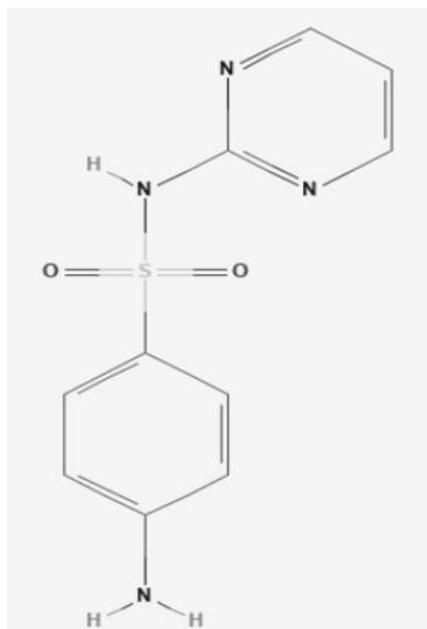
O tratamento inicial da toxoplasmose ocorreu quando a eficácia dos medicamentos sulfa foi descoberta durante o tratamento de camundongos infectados com toxoplasma (Sabin & Warren, 1942, Dunay *et al.*, 2018). Posterior a isso em 1953, Eyles & Coleman documentaram o efeito sinérgico que a sulfadiazina apresentava com a pirimetamina, a combinação desses dois fármacos é utilizada até hoje para o tratamento da toxoplasmose. A sulfadiazina e a pirimetamina têm um efeito sinérgico, que resulta no bloqueio da via metabólica envolvida na síntese do ácido folínico (Montoya & Liesenfeld, 2004). Os pacientes que recebem pirimetamina e sulfadiazina também devem tomar ácido folínico ao mesmo tempo para prevenir a supressão da medula óssea causada pelo tratamento. No caso de hipersensibilidade à sulfadiazina, é recomendado o uso de clindamicina, porque a pirimetamina-clindamicina é tão eficaz quanto a pirimetamina- sulfadiazina na fase aguda da doença (Katlama *et al.*, 1996).

De acordo com a descrição de Serranti (2011), outro tratamento possível para a toxoplasmose é a administração do antibiótico espiramicina. Apesar de eficaz e atóxico para a toxoplasmose congênita, não é tão eficaz em comparação com a combinação de sulfadiazina e pirimetamina. Entretanto, essas terapias não conseguem eliminar o parasita do hospedeiro infectado, ou seja, a terapia deve ser mantida por toda a vida, mas por estar relacionada à toxicidade, a terapia precisa ser interrompida após um período de tempo. (Djurkovic-Djakovic *et al.*, 2002). Essas reações adversas são consideradas fatores de risco para pacientes imunossuprimidos que frequentemente desistem do tratamento devido à alta toxicidade do medicamento (principalmente devido ao componente sulfonamida) (Luft *et al.*, 1984). Portanto, é necessário o uso de medicamentos que sejam menos tóxicos, entrem em contato com tecidos infectados e tenham maior eficácia sobre taquizoítos e bradizoítos (Lai *et al.*, 2012).

### 5.3.1.1. Sulfadiazina

Sulfadiazina (C<sub>10</sub>H<sub>10</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>S) (Figura 4) é uma molécula relativa à classe das sulfonamidas, foi descoberta por um estudante alemão em 1908. Entretanto, seu potencial terapêutico só foi descoberto mais tarde (Petersdorf, 1984). A eficácia dos medicamentos sulfa na toxoplasmose é primeiramente descrito por Sabin & Warren (1942). Atualmente, o tratamento da toxoplasmose é baseado na administração e combinação de sulfadiazina e pirimetamina, que apresentam uma ação contra os taquizoítas do *Toxoplasma gondii* uma vez que a sulfadiazina age no metabolismo dos folatos inibindo enzimas como a di-hidropteroato sintase (DHPS) e di-hidrofolato redutase (DHFR), antagonizando que se forme ácido di-hidrofólico (Doliwa, 2013). Sua administração por via oral possui aproximadamente uma meia vida de 10 a 12 horas (Jordan *et al.*, 2004).

Figura 4: Estrutura química da Sulfadiazina



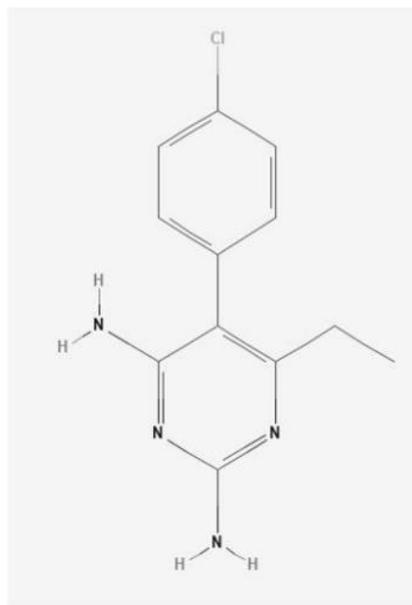
(Retirado de: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Sulfadiazine>).

### 5.3.1.2. Pirimetamina

Pirimetamina (C<sub>12</sub>H<sub>13</sub>ClN<sub>4</sub>) (Figura 5) foi usada pela primeira vez como um medicamento antimalárico por Falco *et al.* (1951). Hitchings e colaboradores em 1952 descreve que a pirimetamina afeta diretamente a produção de ácido fólico, o organismo é então chamado de antagonista de ácido folínico. A pirimetamina apresenta uma atividade maior quando comparada aos sulfamídicos, assumindo assim o fármaco preferencial no tratamento da toxoplasmose, principalmente nos casos mais graves. Pirimetamina

também age no metabolismo dos folatos, além de possuir atividade antimicrobiana contra *Toxoplasma gondii*, onde é capaz de inibir a síntese de ácido fólico de parasitas e previne a produção de DNA e RNA e causando seu colapso (Beverley & Fry, 1957). Em relação a supressão da medula óssea induzida por tratamento, ela pode ser retrocedida com a redução da dosagem ou quando o tratamento é interrompido. Sua meia-vida é de cerca de 4 dias (Ben-Harari *et al.*, 2017).

Figura 5: Estrutura química da Pirimetamina



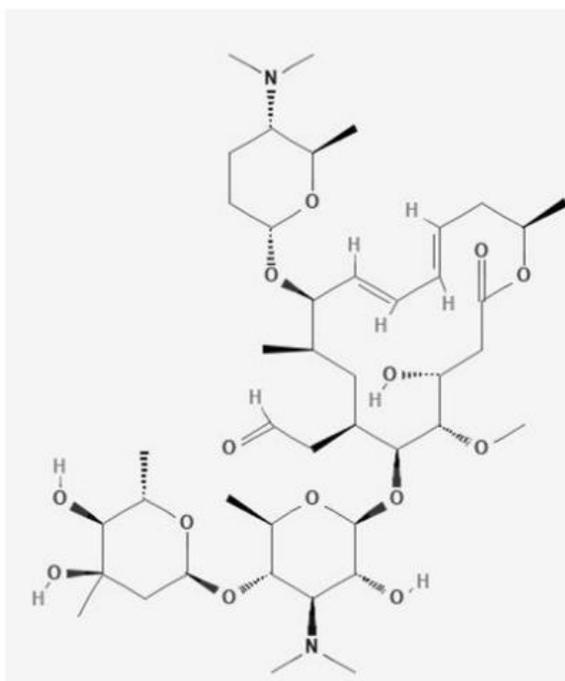
(Retirado de <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Pyrimethamine>).

### 5.3.1.3. Espiramicina

A Espiramicina (C<sub>43</sub>H<sub>74</sub>N<sub>2</sub>O<sub>14</sub>) (Figura 6) foi isolada por Pinnert-Sindico (1956), é semelhante à eritromicina e tem efeito antibacteriano eficaz. É um antibiótico macrolídico derivado do bambu *Streptomyces* e tem atividade anti-toxoplasma. Tem sido usado em muitos países para tratar a toxoplasmose congênita porque não mostrou evidências de danos ao feto durante o processo de tratamento (Chang & Pechère, 1988). Para toxoplasmose ocular, a espiramicina é descrita como tratamento alternativo de sulfadiazina e pirimetamina por ser considerada não tóxica (Cassady *et al.*, 1963) e manter concentrações eficazes na placenta sendo três vezes maior do que a concentração no soro materno (Grujic *et al.*, 2005). Entretanto, o uso de espiramicina mostra menos eficácia

quando comparada a combinação de sulfadiazina e pirimetamina, tal fato está relacionado à redução da proliferação de *Toxoplasma gondii* (Dunay *et al.*, 2018).

Figura 6: Estrutura química da Espiramicina



(Retirado de <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Spiramycin#section=2D-Structure>).

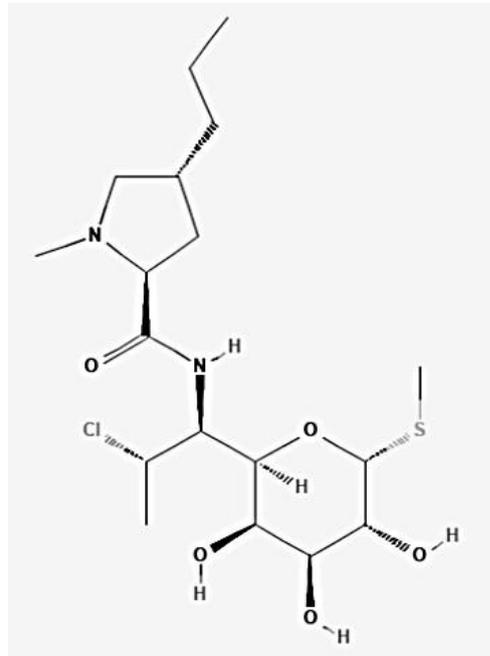
#### 5.3.1.4. Clindamicina

Clindamicina (C<sub>18</sub>H<sub>33</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S) (Figura 7) é oriunda da classe de antibióticos lincosamina considerados clinicamente relevantes a infecções estreptocócicas e estafilocócicas (Morar *et al.*, 2009). Este medicamento atua inibindo a síntese de proteínas bacterianas e exibe um efeito prolongado mesmo depois de se interromper o tratamento, é bem absorvido pela maioria dos tecidos, exceto o SNC (Smieja, 1998). McMaster *et al.*; (1973) descreveram pela primeira vez o uso de clindamicina durante a infecção aguda por toxoplasma.

Em 1974, Araujo & Remington descreveram o uso de clindamicina em infecções agudas e crônicas em camundongos e na prevenção da propagação da toxoplasmose congênita, comprovando seu efeito protetor durante a infecção aguda e no cisto tecidual durante a infecção crônica. Em relação a toxoplasmose cerebral, foi descrito que a clindamicina não pode garantir efeito curativo porque a droga não pode se distribuir efetivamente no tecido nervoso (Smieja, 1998). Blais *et al.*, (1993) demonstraram que a clindamicina desempenha um papel na síntese de proteínas do taquizoítos, confirmando

os dados bacterianos descritos anteriormente e reduziram sua capacidade de infectar células hospedeiras, porém a clindamicina se apresenta pouco ou nenhum efeito intracelular após invasão.

Figura 7. Estrutura química da Clindamicina.

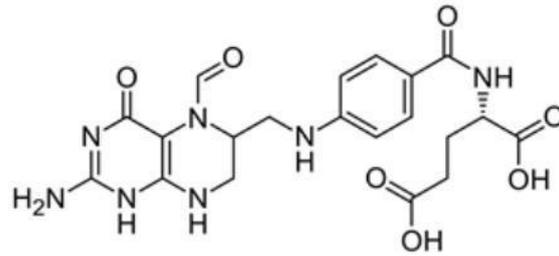


(Retirado de: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Clindamycin#section=2D-Structure>)

### 5.3.1.5. Ácido Folinico

Ácido folínico ou leucovorina (figura 8) é geralmente administrado na forma de folinato de sódio ou folinato de cálcio. Também é usado sinergicamente com o agente quimioterápico. O ácido folínico é um adjuvante para o tratamento com medicamentos antifolatos (como a pirimetamina), pois o ácido folínico só é usado pelo corpo humano para prevenir problemas hematológicos causados pelo uso de antifolatos (Frenkel & Hitchings, 1957; Frenkel *et al.*, 1960). Nenhuma reação adversa relatada Mesmo quando usado em grandes doses (Oréface & Bonfioii, 2000).

Figura 8. Estrutura química do ácido folínico



(Retirado de: <http://bvsmms.saude.gov.br/>)

### 5.3.1.6. Efeitos colaterais e mecanismos de resistência

O tratamento do *Toxoplasma gondii* possui características que tornam esse parasita um desafio no tratamento medicamentoso, pois atravessa a barreira hematoencefálica e estabelece infecção por bradizoíta resistente aos medicamentos, indicando que o medicamento ideal para tratamento atinja concentrações terapêuticas, sistêmicas, cerebrais e oculares, sendo capaz de eliminar o período de incubação da doença (Alday & Dogget, 2017). O tipo de paciente (imunocompetentes ou imunocomprometidos) e se o tratamento será utilizados de maneira profilática ou terapêutica também são fatores a serem levados em consideração. A terapia tem efeitos adversos causados pela ingestão de pirimetamina, como toxicidade sanguínea e erupção cutânea, e os efeitos de leucopenia e trombocitopenia causados pela ingestão de sulfadiazina (Alder *et al.*, 1994).

A ocorrência de efeitos colaterais pode estar relacionada ao desempenho durante o tratamento, ocasionando em deficiência dessa substância e levando ao desenvolvimento de efeitos hematológicos (Montazeri, 2018). A falha de tais tratamentos e a resistência do parasita aos medicamentos usados atualmente podem estar relacionados ao hospedeiro, como má absorção ou intolerância ao medicamento, ou fatores característicos do parasita (como sensibilidade diferente entre as cepas) (Pramanik, 2019). Aproximadamente 10% a 20% dos casos de falha no tratamento estão relacionados à resistência parasitária dos medicamentos utilizados, porém, para os medicamentos à base de sulfa, o mecanismo de resistência parece ser maior, o que é preocupante por envolver o tratamento contra a toxoplasmose (Alday & Doggett, 2017). Araujo & Remington (1974) enfatizam a

necessidade de desenvolver medicamentos não tóxicos que possam ser usados por bebês, gestantes e pacientes imunocomprometidos.

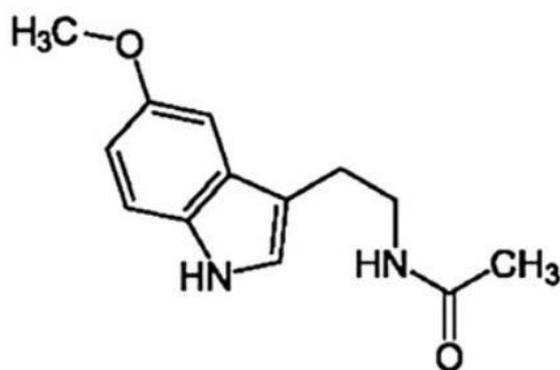
#### **5.4. Melatonina**

A melatonina (MEL) ou N-acetil-5-metoxitriptamina (Figura 9) é considerada o principal hormônio produzido pela glândula pineal em nosso corpo regula a fisiologia endócrina do ciclo circadiano, além de influenciar o funcionamento de diversos tecidos que não compõem o sistema endócrino (Ambriz-Tututi *et al.*, 2009; Reiter *et al.*, 1991). É uma molécula evolutiva altamente conservada que pode ser encontrada em procariotos fotossintéticos, folhas, frutos e sementes, e todos os vertebrados (Bagnaresi *et al.*, 2012; Claustratt & Leston, 2013; Zhang & Zhang, 2014). Também pode ser secretada em menor quantidade pela retina, trato gastrointestinal (Tan *et al.*, 2003), medula óssea (Conti *et al.*, 2000) e pele (Slominski *et al.*, 2005).

Recentemente, foi descoberto que a melatonina está relacionada ao tipo e quantidade de alimentos que comemos, porque os alimentos ricos em melatonina podem ter um impacto potencial na saúde, aumentando significativamente a concentração sérica de melatonina e a capacidade antioxidante em seres humanos. A melatonina apresenta alta solubilidade em água e lipídios, o que promove sua permeabilidade entre as membranas celulares (Claustrat & Leston, 2013). Sua função depende de receptores específicos de membrana de alta afinidade pertencentes aos subtipos de proteína G (chamados MT1 e MT2). O terceiro receptor, MT3, foi caracterizado como uma quinona redutase, que está diretamente ligada à proteção contra o estresse oxidativo (Nosjean *et al.*, 2000; Pandi-Perumal *et al.*, 2008).

Estudos têm demonstrado o papel da melatonina em várias outras funções (Reiter *et al.*, 2010), como seu papel de agente imunizante (Carrillo-Vico *et al.*, 2005) e antiinflamatórios (Jung *et al.*, 2010) também podendo ser útil inibindo o desenvolvimento de certos tipos de câncer (Jung *et al.*, 2010). A melatonina também se mostrou benéfica para muitas doenças (Acuna-Castroviejo *et al.*, 2014). De acordo com a descrição de Machado *et al.* (2000), o consumo de melatonina não teve efeitos adversos. A dose usada para o teste é de 1-10 mg / kg, que é considerada a dose padrão para auxiliar o sono. Paralelo a isso, em experimentos realizados em ratas grávidas, nenhum efeito tóxico foi observado com altas doses de melatonina. Seu peso molecular é 232,28g / mol (Reiter, 1991; Shida *et al.*, 1994; Tan *et al.*, 2002).

Figura 9. Estrutura química da melatonina



Fonte: M. Ambriz-Tututi *et al.*, 2009.

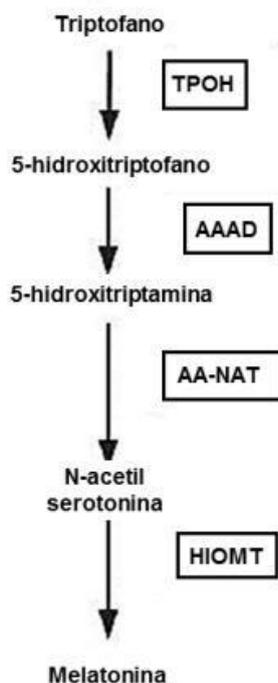
#### 5.4.1. Biossíntese de Melatonina

Segundo Reper & Weaver (2002), a síntese da melatonina é em sua maior parte regulada pelo núcleo supraquiasmático (NQS), que atua em sincronia com os ciclos claro/escuro do ambiente através de uma comunicação neural direta com a retina. A biossíntese da melatonina é um processo de muitas etapas: Ocorre na glândula pineal, e começa com a hidroxilação do aminoácido aromático L-triptofano com o 5-hidroxitriptofano (ou 5-HTP) catalisada pela enzima triptofano hidroxilase. O aminoácido triptofano se encontra presente na circulação sanguínea e é capaz de atravessar de forma ativa a membrana celular dos pinealócitos (células que constituem a glândula pineal).

Na sequência, como seu próprio nome já sugere, a enzima 5-hidroxitriptofano descarboxilase induz a retirada do grupo alfa-carboxil do 5-HTP, produzindo assim a serotonina. Na fase de claro, a produção sofre uma parada logo após a produção da serotonina, que é logo liberada para o sistema circulatório. Na fase de escuro, a serotonina recebe, então, um grupo acetil, captado da acetil-Coenzima A, pela ação da enzima N-acetiltransferase, o que acarreta na geração de N-acetilserotonina.

Por fim, a enzima hidroxindol-O-metiltransferase transforma a N-acetilserotonina em melatonina. Isto explica o porquê de os níveis de serotonina serem elevados nos mamíferos durante o período diurno e baixos à noite. Após ser produzida, a melatonina é difundida através do sangue por todo o organismo. Por ser uma molécula bastante lipossolúvel, ela consegue adentrar com facilidade nas células. (Lovenberg *et al.*, 1962; Schallreuter *et al.*, 1994; Reiter *et al.*, 2004; Bagnaresi *et al.*, 2012). (Figura 10)

Figura 10: Biossíntese da Melatonina



Esquema da síntese de melatonina a partir do aminoácido triptofano. O triptofano é convertido em 5-hidroxitriptofano (TPOH). Logo após, há a formação de 5-hidroxitriptamina (serotonina) a partir do TPOH, a qual é acetilada para a formação de N-acetilserotonina (NAS). Posteriormente, a NAS é metilada resultando na formação da MEL. Fonte: Traduzido de Simonneaux & Ribelayga (2003).

## 5.5 Quimioterapia com Melatonina

Ao considerar novos tratamentos para a toxoplasmose, a melatonina merece atenção especial dentre as substâncias naturais com propriedades antioxidantes conhecidas. Como composto lipossolúvel, ela pode atravessar a barreira hematoencefálica, o que parece torná-la um bom candidato para a prevenção e tratamento da toxoplasmose cerebral. Estudos descobriram que a melatonina é um imunomodulador pleiotrópico que atua por meio de múltiplos mecanismos, como promover a diferenciação de células T, regular a expressão gênica de citocinas, estimular a produção de citocinas em monócitos periféricos humanos e ativar citocinas inflamatórias, ativando um estágio inicial e supressão da inflamação crônica. Essas propriedades fazem da melatonina uma molécula benéfica em infecções virais, bacterianas e parasitárias (Franco, *et al.* 2023).

### 5.5.1 Toxoplasmose e Melatonina

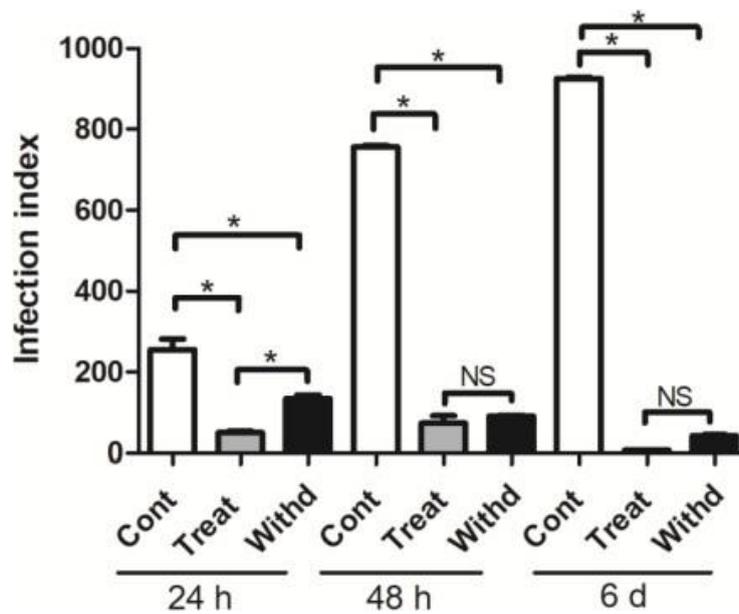
Estudos descobriram que a melatonina estimula a resposta imune do hospedeiro ao parasita durante várias infecções por parasitas protozoários. A melatonina demonstrou

reduzir a parasitemia em modelos experimentais de infecção por *Trypanosoma cruzi* e *Leishmania*. Os efeitos benéficos da melatonina na malária também foram estudados. No entanto, poucos estudos avaliaram os efeitos da melatonina na toxoplasmose. A melatonina é um hormônio que tem efeitos diretos ou indiretos no sistema imunológico, principalmente na imunidade mediada por células. Em casos de infecção por *T. gondii*, a imunidade celular envolvendo células efetoras como macrófagos é o mecanismo primário para combatê-la (Poon *et al.*, 1994; Franco *et al.*; 2023).

Em um estudo em modelo animal, a fim de avaliar o efeito exógeno da resposta imune de camundongos infectados com *Toxoplasma gondii*, Baltaci *et al.*, (2003) descreveram que, quando ocorre a administração de zinco, melatonina, ou zinco conjugado à melatonina em camundongos que apresentam a infecção por toxoplasmose, é possível notar um crescente número de linfócitos T CD4+ efetores e T CD8+ reguladores, fazendo assim com que o mecanismo de defesa contra o parasita volte a funcionar. A suplementação de melatonina sozinha não teve efeito significativo na infiltração celular na coróide e retina após a pinealectomia, enquanto a associação melatonina e zinco foi capaz de melhorar a resposta imune em ratos com retinocoroidite, podendo assim ser utilizada como um adjuvante terapêutico (Avunduk, 2007).

No estudo de Machado *et al.* (2020) foi analisado o efeito do tratamento com melatonina na linhagem celular epitelial LLC-MK2 de células renais de macaco após infecção por *T. gondii*. A melatonina reduziu a proliferação do parasita em células LLC-MK2 em 24 e 48 horas e em 6 dias. A IC50 da melatonina para inibição do crescimento de *Toxoplasma gondii* foi de 3 mM em 24 horas, 1,69 mM em 48 horas e 1,13 mM em 6 dias (Figura 10).

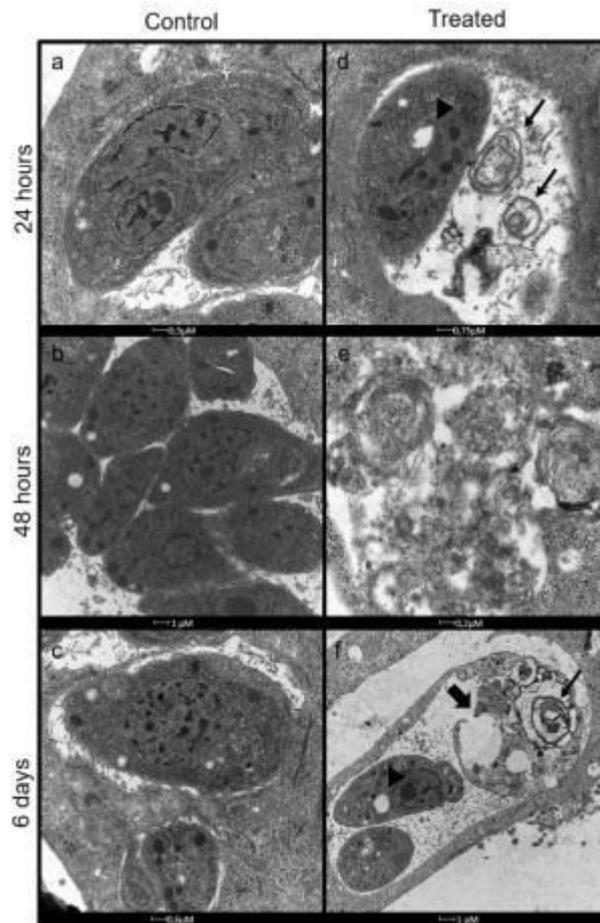
Figura 11. Índice de infecção de *Toxoplasma gondii* em células LLC-MK2.



As células foram infectadas, tratadas (Treat) ou não (Cont) com melatonina (3mM) e cultivadas por 24 ou 48 h ou seis dias. Para os ensaios de reversibilidade, a melatonina foi retirada (Withd) e as células cultivadas por mais 96 h. \*Significativamente diferente pela análise de variância unidirecional ( $P < 0,05$ )\* (Machado *et al.*, 2020).

As alterações morfológicas dos taquizoítos, ruptura da membrana plasmática e extravasamento citoplasmático podem ser observados ao microscópio eletrônico de transmissão, que são características da morte celular necrótica. As células hospedeiras apresentaram numerosos vacúolos, possivelmente devido à digestão do parasita. Além disso, os parasitas coraram positivamente para morte celular por apoptose. Os autores concluíram que a melatonina pode induzir a morte celular do parasita por meio de necrose e apoptose, apontando para alterações no metabolismo energético do parasita. Os resultados do estudo indicam fortemente que a melatonina pode inibir permanentemente o crescimento de *T. gondii* em 48h pós-tratamento. Observou-se que mesmo após 6 dias de tratamento com melatonina, não houve formação de cistos teciduais, o que sugere que a melatonina pode impedir a conversão em bradizoítos e a formação de cistos teciduais (Figura 12)

Figura 12: Imagens de microscopia eletrônica de transmissão de células LLC-MK2 infectadas com *Toxoplasma gondii*, com ou sem melatonina (3mM).



Parasitas intracelulares em célula hospedeira sem melatonina (Controle) após 24 h (a). Após 24 h de tratamento (tratado), o parasita apresentou vacúolos (cabeça de seta) e estruturas semelhantes à mielina foram observadas no vacúolo parasitóforo (setas) (d). Parasitas intracelulares sem tratamento (Controle) após 48 h (b). Estruturas intracelulares semelhantes a parasitas degradados após 48 h de tratamento (Tratado) (e). Parasitas sem tratamento (Controle) após seis dias (c). Os parasitas apresentaram vacúolos (cabeça de seta), parasita rompido (seta grande) e estruturas semelhantes à mielina (seta) após seis dias de tratamento (Tratado) (f). (Machado *et al.*, 2020).

Tais informações corroboram os estudos feitos por Majumdar *et al.*(2019), onde a melatonina de 0,2 mM foi utilizada para avaliar seus efeitos antioxidantes na linha celular epitelial intestinal humana infectada por *Toxoplasma Caco2*. Foi descoberto pelos autores que o *Toxoplasma gondii* diminuiu os níveis de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> produzidos nas células hospedeiras com o uso de hidroperóxido tert-butyl. As células que foram tratadas com melatonina apresentaram uma maior diminuição de níveis. Dessa maneira, foi ampliado o crescimento parasitário. As concentrações de melatonina utilizadas nos experimentos

não causaram citotoxicidade significativa, e mais de 90% das células eram viáveis. Além disso, os autores propõem que o *Toxoplasma gondii* é capaz de catabolizar o triptofano em melatonina, ampliando assim a sobrevivência das células infectadas. Assim, catabólitos de triptofano e seus análogos podem ser usados como potentes moléculas terapêuticas para prejudicar os processos regulatórios que levam à síntese de melatonina em parasitas. Ressalta-se que a concentração de melatonina utilizada no estudo de Majumda *et al* (2019), foi aproximadamente dez vezes menor do que no experimento de Machado *et al* (2020). Os resultados dos estudos existentes apoiam fortemente o uso da melatonina como um tratamento alternativo, seguro e eficaz para a toxoplasmose. Entretanto, mais pesquisas são necessárias para analisar essa possibilidade e entender os mecanismos de ação da melatonina na toxoplasmose.

## **5.6. Metalocomplexos**

Os metais são usados na medicina desde a antiguidade mesmo sem completa compreensão sobre seu mecanismo de ação, toxicidade ou quaisquer propriedades químicas dos compostos metálicos (Schwietert *et al.*, 1999). Os complexos metálicos podem ser inclusos e fixados em diferentes matrizes e utilizados em biomateriais na medicina, como catalisadores e no transporte de fármacos.

### **5.6.1. Quimioterapia com Metalocomplexos**

Complexos metálicos diversos tem sido mencionado na literatura por expressarem ação antiparasitária. Rosenberg *et al.*, em 1965 descobriram a atividade antitumoral dos metais chamada complexação da cisplatina, tal descoberta despertou grande interesse em complexos metálicos com propriedades farmacológicas (Orvig & Abrams, 1999; Fontes *et al.*, 2005).

#### **5.6.1.2. Toxoplasmose e Metalocomplexos**

Para aumentar a eficiência contra a infecção por *Toxoplasma gondii*, novos compostos inorgânicos têm sido investigados, esses fármacos apresentam propriedades e efeitos biológicos interessantes, sendo conhecidos como metalocomplexos.

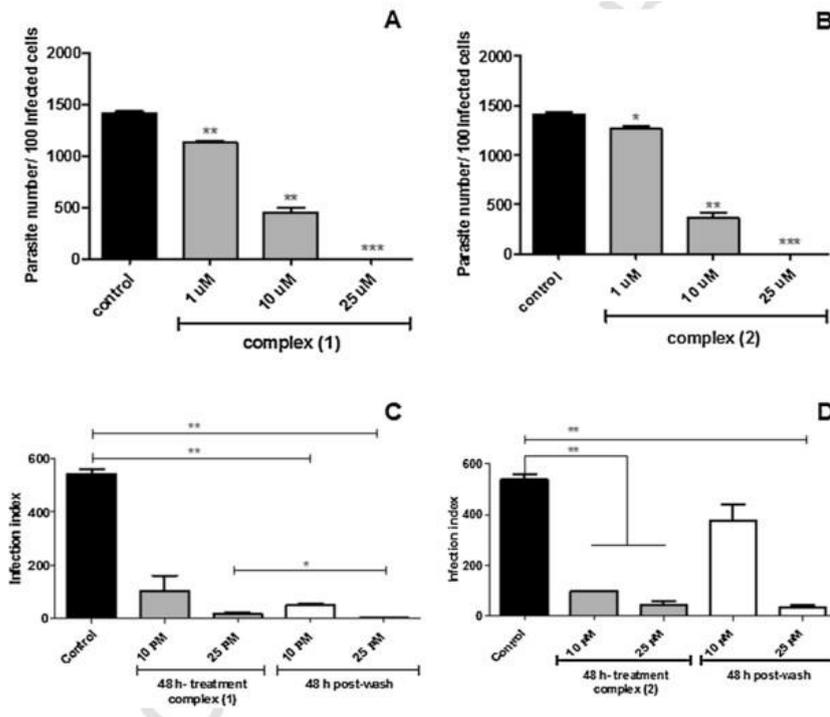
Estudos descritos na literatura sugerem que a coordenação de compostos pode ser uma alternativa interessante para terapia antiparasitária. Os efeitos biológicos dos complexos metálicos têm sido estudados e alguns metalocomplexos, como os novos complexos metálicos  $\mu$ -oxodiferric, funcionam como nucleases e peptidases sintéticas

para manipulação de DNA. (Parrilha *et al.*, 2008). Os metalocomplexos possuem atividades biológicas interessantes, como fungicida, bactericida e antiviral (Singh *et al.*, 2000; Nath *et al.*, 2001).

Os resultados obtidos a partir de uma investigação significativa sobre o potencial efeito antitumoral de complexos de cobre são encorajadores. A principal vantagem dos complexos de cobre em comparação com outros complexos que envolvem metais de transição é que o cobre é um elemento naturalmente presente em organismos vivos e desempenha diversas funções essenciais, como a transferência de elétrons, reações de oxigenação e o transporte de oxigênio, entre outras (Tisato *et al.*, 2010).

Tais fatos impulsionaram a realização dos testes com o composto metalocomplexo N4013.1 em células fibroblásticas LLC-MK2 infectadas com o *T. gondii*, visto que o principal fator da terapia antiparasitária atual é não preservar a viabilidade da célula hospedeira. A atividade anti-*T. gondii* dos complexos (1) e (2) foi validada por Portes *et al.*; em 2017, conforme demonstrado pelo crescimento intracelular de taquizoítos de *T. gondii* em células LLC-MK2 avaliadas após 48 horas. A Figura 12 mostra que ambos os compostos reduziram significativamente o crescimento do parasita nas concentrações de 10 e 25  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (Figura 13A e B). O efeito desses complexos nos taquizoítos demonstrou atividade irreversível e foi testado tratando as células infectadas por 48 horas, lavando as células dos compostos e incubando por mais 48 horas. O complexo (1) foi irreversível após o tratamento com 10 e 25  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (Fig. 13C), enquanto o complexo (2) foi irreversível apenas na concentração de 25  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (Fig. 13D). Assim, ambos os complexos exibiram atividade irreversível dependente da concentração, indicando que as primeiras 48 horas de tratamento resultaram na morte do parasita.

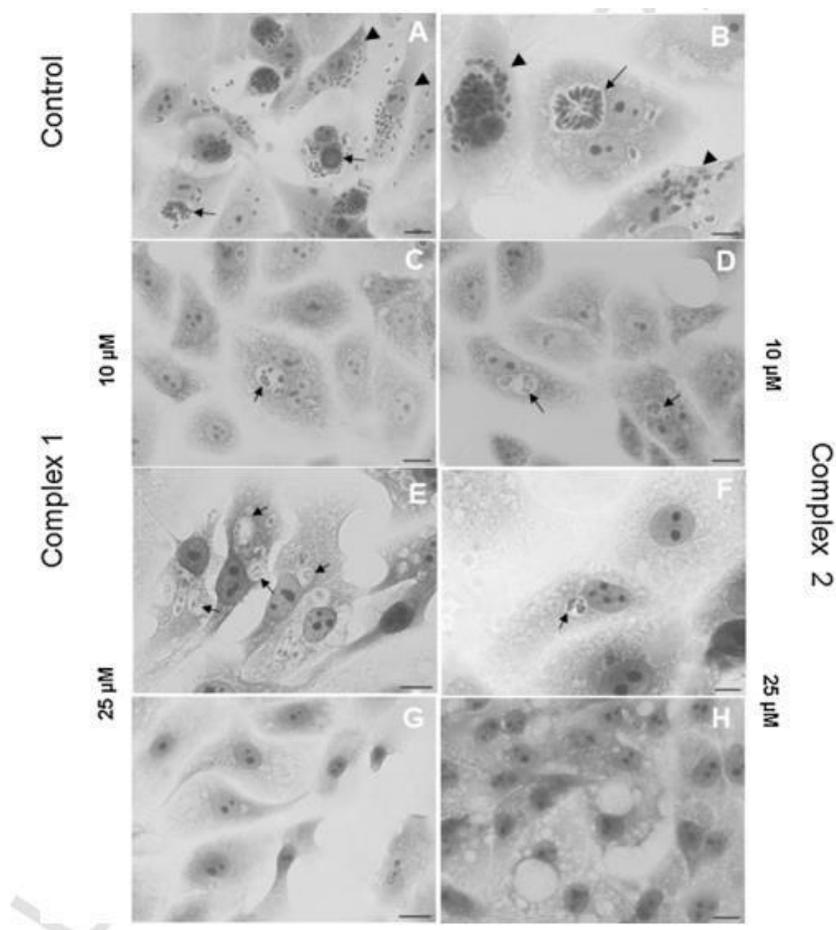
Figura 13: O tratamento com os complexos de cobre (II) reduziu o número de células de *Toxoplasma gondii* dentro das células hospedeiras LLC-MK2 de forma irreversível *in vitro*.



(Portes et al.; 2017)

Ainda em 2017, Portes *et al.*; ao observarem imagens obtidas por microscopia de luz (Figura 14), mostraram que as células não tratadas estavam altamente infectadas (Figura 14A) com rosetas típicas do parasita (Figura 14B), enquanto o tratamento resultou em danos severos aos taquizoítos. As células tratadas com 10 μmol L-1 do complexo (1) (Figura 14C) e do complexo (2) (Figura 14D) abrigaram parasitas morfologicamente alterados, indicativos de danos. Curiosamente, a maioria das células infectadas tratadas com 25 μmol L de ambos os complexos estavam livres de parasitas (Figura 14G e H).

Figura 14: Imagens de microscopia de luz de células LLC-MK2 infectadas com *Toxoplasma gondii* tratadas com complexos de cobre(II) (1) e (2) nas concentrações de 10  $\mu\text{mol L}^{-1}$  e 25  $\mu\text{mol L}^{-1}$  ou não tratadas (controle).



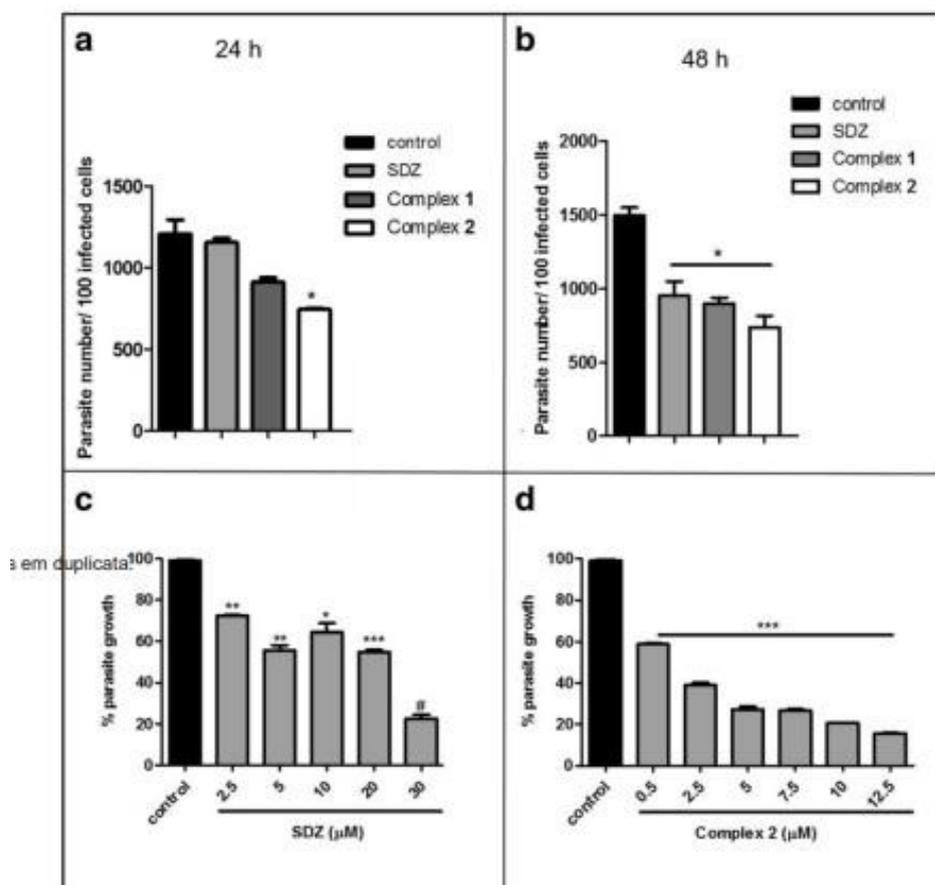
(Portes *et al.*; 2017)

Compostos que combinam derivados de ferroceno com tamoxifeno têm sido identificados como substâncias com propriedades antiproliferativas. Um aspecto notável é a capacidade desses compostos de formar espécies reativas quando o ferro se liga a agentes quimioterapêuticos, como a bleomicina, resultando na geração de espécies de oxigênio responsáveis pela quebra do DNA. Além disso, a administração conjunta de agentes quelantes de ferro, como a desferroxamina, em combinação com medicamentos como cisplatina, etopósido ou doxorrubicina, demonstrou efeitos sinérgicos por meio da formação de complexos citotóxicos (Alama *et al.*, 2009).

Em colaboração com dados anteriores, Portes *et al.*, em 2018, investigaram o efeito da coordenação da sulfadiazina na bioatividade dos complexos de ferro(III).  $[\text{Fe}(\text{HBPCINOL})\text{Cl}_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ , 1, ( $\text{H}_2\text{BPCINOL} = \text{N}-(2\text{-hidroxibenzil})-\text{N}-(2\text{-piridilmetil})(3\text{-cloro})(2\text{-hidroxi})\text{-propilamina}$ ). O novo complexo  $[(\text{Cl})(\text{SDZ})\text{Fe}(\text{III})\text{(\ddot{y}}-$

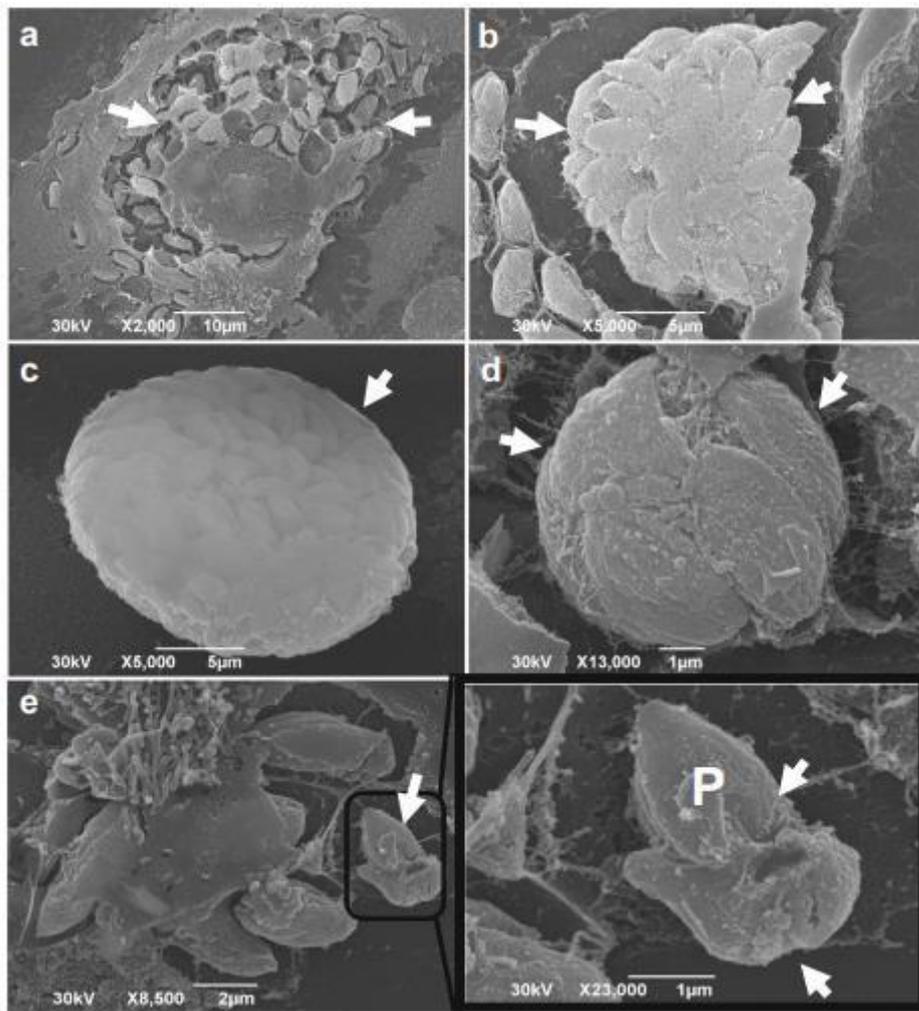
BPCINOL)<sub>2</sub>Fe(III)(SDZ)(Cl)]·2H<sub>2</sub>O, 2, que foi obtido pela reação entre o complexo 1 e SDZ, foi caracterizado usando uma série de técnicas físico-químicas. O efeito citotóxico do complexo e a capacidade do *T. gondii* em infectar células LLC-MK2 foram avaliados. Verificou-se que ambos os complexos reduzem o crescimento de *T. gondii* enquanto causam baixa citotoxicidade nas células hospedeiras. Após 48 horas de tratamento, o complexo 2 reduziu a capacidade proliferativa do parasita em aproximadamente 50%, com IC<sub>50</sub> de 1,66 μmol/L. Enquanto isso, o complexo 1 ou SDZ sozinho causaram uma redução de 40% na proliferação com um IC<sub>50</sub> de 5,3 μmol/L para SDZ (Figura 14). Além disso, o tratamento com complexo 2 causou alterações morfológicas e ultraestruturais pronunciadas no parasita e desencadeou a formação de formas semelhantes a cistos (Figura 15).

Figura 15: Crescimento de *T. gondii* em células LLC MK2 após tratamento com complexos 1 e 2 ou sulfadiazina (SDZ).



(Portes *et al.*; 2018)

Figura 16: Imagens de microscopia eletrônica de varredura de células LLC-MK2 infectadas com *T. gondii* que não foram tratadas ou tratadas por 48 h com 12,5  $\mu\text{mol/L}$  de complexo 2.



(Portes *et al.*; 2018)

## 6. DISCUSSÃO

*Toxoplasma gondii* é um parasita intracelular obrigatório que causa a toxoplasmose. Estima-se que a doença afete aproximadamente um terço da população mundial (Howe *et al.*, 1997; Pappas, 2009). Pode ser transmitida por predadores, ingestão de alimentos contendo cistos teciduais, exposição a água, vegetais ou solo infectado com oocistos, transplacentária ou até mesmo por transplante de órgãos (Jacobs, 1956; Dubey *et al.*, 1988; Petersen *et al.*, 2010). O sucesso da infecção está diretamente relacionado aos mecanismos de evasão contra a resposta imune do hospedeiro (Dubey; Beattie, 1988).

As terapias atuais para toxoplasmose não eliminam o parasita do hospedeiro infectado, pois não são ativas contra bradizoítos em cistos teciduais, ou seja, o tratamento deve ser mantido por toda a vida, mas precisa ser interrompido após um período de tempo devido à toxicidade a ele associada (Djurkovic-Djakovic *et al.*, 2002). Além disso, os tratamentos atuais causam muitos efeitos colaterais, desde uma diminuição no sistema imunológico do hospedeiro até eventualmente tornar o paciente resistente ao tratamento, como náuseas, tremores, convulsões e muito mais (Luft *et al.*, 1984; Alder *et al.*, 1994).

Com base nessas informações, pesquisas envolvendo quimioterapia para parasitas são necessárias para desenvolver novas drogas que mantenham a eficácia do tratamento, mas sejam menos prejudiciais ao hospedeiro tratado (Lai *et al.*, 2012).

Este trabalho teve como objetivo realizar uma revisão abrangente para identificar a relação entre os tratamentos atuais e o uso de melatonina e metalocomplexos durante a infecção por *T. gondii*, com base nas evidências disponíveis na literatura científica.

A melatonina tem se mostrado eficaz contra várias infecções causadas por parasitas semelhantes ao *T. gondii*, como *Plasmodium spp.* (Hotta *et al.*, 2000; Guha *et al.*, 2007; Daryani *et al.*, 2018), *T. cruzi* (Santello *et al.*, 2008; Bagnaresi *et al.*, 2012; Oliveira *et al.*, 2013) e *Leishmania spp.* (Elmahallawy *et al.*, 2014; Laranjeira-Silva *et al.*, 2015). O tratamento com melatonina resultou na redução da proliferação do parasita nas células hospedeiras, que se mantém mesmo após a interrupção da droga, e também não induz o parasita a formar cistos teciduais como os tratamentos atualmente utilizados (Machado *et al.*, 2020).

Estudos descritos na literatura mostram que a coordenação de compostos pode ser uma alternativa interessante para a terapia antiparasitária. Complexos metálicos exibem atividades biológicas interessantes como fungicidas, bactericidas e antivirais (Singh *et al.*, 2000; Nath *et al.*, 2001). Os complexos de cobre exibem atividade nuclease e são

ativos contra células leucêmicas (Fernandes *et al.*, 2006). Quando ligados ao ferro, compostos mononucleares foram observados para proteger *Saccharomyces cerevisiae* do estresse oxidativo, mimetizando superóxido dismutase e catalase (Horn Jr *et al.*, 2010). Os efeitos *in vitro* desses compostos metálicos sobre o *Toxoplasma gondii* induzem a morte celular por necrose e destruição celular drástica, além de autofagia e morte celular apoptótica (Portes *et al.* 2015, 2017).

## 7. CONCLUSÃO

A prevalência da toxoplasmose na população mundial varia de 20% a 90%, com algumas variações relacionadas a aspectos geográficos e atribuíveis a fatores de risco que podem variar em diferentes regiões, tipo de alimento, tratamento adequado da água e exposição ambiental. A presente revisão da literatura indicou apresentou dados disponíveis na literatura demonstrando a eficácia dos compostos contra a infecção por *Toxoplasma gondii*.

O tratamento com melatonina reduz a proliferação parasitária na célula hospedeira, não afeta a morfologia da célula, nem afeta sua proliferação. Esses dados sugerem que a melatonina pode ser um tratamento alternativo para a toxoplasmose, ajudando a produzir novos medicamentos com menos efeitos colaterais e uma gama mais ampla de tratamentos.

Em relação aos metalocomplexos, o baixo IC50 e a toxicidade para as células hospedeiras podem indicar que eles podem ser terapeuticamente seguros, sugerindo que a coordenação dos compostos com a sulfadiazina pode ser uma estratégia promissora para o tratamento da toxoplasmose humana. Os metalocomplexos também foram capazes de controlar o crescimento do *T. gondii* e matar os parasitas *in vitro*.

A presença de um tratamento eficaz evita eventos adversos, medicação desnecessária, preocupação da gestante com o feto e falta de tratamento em caso de infecção, além da diminuição de gastos. Além disso, para a prevenção, são necessários programas educativos para educar as pessoas sobre como a doença é transmitida e como evitar a infecção durante a gravidez (prevenção primária). Além da existência desses programas, os serviços públicos de saúde devem monitorar a incidência de novos casos, integrar serviços de atendimento à gestante e ao recém-nascido e oferecer tratamento gratuito.

## REFERÊNCIAS

- Ahmad, S., Isab, A.A., Ali, S., Al-Arfaj, A.R. Perspectives in bioinorganic chemistry of some metal based therapeutic agents. *Polyhedron*, 25, 1633, 2006.
- Alama, A., Tasso, B., Novelli, F., Sparatore, F.” Organometallic compounds in oncology: implications of novel organotin as antitumor agents”. *Drug Discovery Today*. 14:500, 2009
- Alday, P. H.; Doggett, J. S. Drugs in development for toxoplasmosis: advances, challenges, and current status. *Drug Design, Development and Therapy* (2017), 11:273-293
- Amato Neto, V.; Marchi, C. R. Toxoplasmose. In: Cimerman, B.; Cimerman, S. *Parasitologia humana e seus fundamentos gerais*. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2002. p. 159-178.
- Ambriz-Tututi, M. et al. Melatonin: A hormone that modulates pain. *Life Sciences* (2009), 84: 489-498.
- Amendoeira, M. R. R. et al. Inquérito sorológico para a infecção por *Toxoplasma gondii* em ameríndios isolados, Mato Grosso. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* v.36, n.6, p. 671-676, 2003.
- Araujo, F. G.; Remington, J. S. Effect of clindamycin on acute and chronic toxoplasmosis in mice. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. (1974), 5:647-651.
- Arora, N. et al. Microbial vertical transmission during human pregnancy. *Cell Host & Microbe* (2017), 21(5):561-567.
- Bagnaresi, P.; Nakabashi, M.; Thomas, A. P.; Reiter, R. J.; Garcia, C. R. S. The role of melatonin in parasite biology. *Molecular and Biochemical Parasitology*, v.18, p. 1-6, 2012
- Baltaci, A. K et al. Effect of zinc and melatonin supplementation on cellular immunity in rats with toxoplasmosis. *Biol Trace Elem Res* (2003) 96: 237–245.
- Baltaci, A. K. et al. The effect of pinealectomy and zinc deficiency on nitric oxide levels in rats with induced *Toxoplasma gondii* infection. *Swiss Med Wkly* (2004) 134: 359–363
- Baltaci A. K. et al. Effects of zinc deficiency and pinealectomy on cellular immunity in rats infected with *Toxoplasma gondii*. *Biol Trace Elem Res* (2005), 104: 47–56.
- Barbosa, H. S. et al. Absence of vacuolar membrane involving *Toxoplasma gondii* during its intranuclear localization. *The Journal of Parasitology*, 91: 182-184, 2005.

- Ben-Harari, R. R.; Goodwin, E.; Casoy, J. Adverse Event Profile of Pyrimethamine-Based Therapy in Toxoplasmosis: A Systematic Review. *Drugs in R&D* (2017), 17:523-544.
- Binquet, C. et al. The cost-effectiveness of neonatal versus prenatal screening for congenital toxoplasmosis. *PLoS ONE* 14(9): e0221709. 2019.
- Blais, J.; Tardif, C.; Chamberland, S. Effect of Clindamycin on Intracellular Replication, Synthesis, and Infectivity of *Toxoplasma gondii*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* (1993), 37(12): 2571-2577.
- Bonfioli, A. A.; Orefice, F. Toxoplasmosis. *Seminars in Ophthalmology*, v. 20, n. 3, p. 129–141, Jan. 2005
- Boothoyd, J. C.; Grigg, M. E. Population biology of *Toxoplasma gondii* and its relevance to human infection: do different strains cause different disease? *Current Opinion in Microbiology*, v. 5, p.438-442, 2002.
- Bossi, P. et al. *Toxoplasma gondii*-associated Guillain-Barré syndrome in an immunocompetent patient. *Journal of Clinical Microbiology*, 36(12): 3.724-3.725, 1998.
- Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Doenças infecciosas e parasitárias: guia de bolso. 8. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2010. (Série B. Textos Básicos de Saúde).
- Brujininx, P.C.A. Sadler, P.J. New trends for metal complexes with anticancer activity. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 12, 197, 2008
- Bubenik, G. A. Gastrointestinal melatonin. Localization, function, and clinical relevance. *Digestive Disease and Sciences* (2002), 47: 2336-2348.
- Candolfi, E. et al. IgG avidity assay firms up the diagnosis of acute toxoplasmosis on the first serum sample immunocompetent pregnant women. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 58: 83-88, 2007.
- Canton, K. M. K.; Nascimento, G. C.; Moura, L. K. B. et al. O conhecimento de indivíduos adultos sobre toxoplasmose em uma população universitária. *Revista de Enfermagem UFPE, Recife*, v. 9, n. 10, p. 1445-1452, dez. 2015.
- Cantos, G. A.; Prando, M. D.; Siqueira, M. V.; Teixeira, R. M. Toxoplasmose: ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* e diagnóstico. *Rev. Assoc. Med Bras.* 2000 Oct-Dec:46(4):335-41.
- Cardinali, D. P.; Rosner, J. M. Metabolism of serotonin by the rat retina in vitro. *Journal of Neurochemistry* (1971), 18: 1769-1770.

Cardinali, D. P.; Álvarez, C. B. Melatonin in Chagas' disease. Possible therapeutic value. *Medicina* (2011), 71: 477-483.

Carrillo-Vico, A. et al. Evidence of melatonin synthesis NY human lymphocyte and its physiological significance: possible role as intracrine, autocrine, and/or paracrine substance. *The FASEB journal* (2014), 18: 537-539

Carruthers, V.B. Host cell invasion by the opportunistic pathogen *Toxoplasma gondii* *Acta. Trop.* (2002), 81: 111-122.

Cassady, J. V.; Bahler, J. W.; Hinken, M. V. Spiramycin for toxoplasmosis. *Transactions of the American Ophthalmological* (1963), 57(2): 227-232

Castellani, A. 1913. Note on certain protozoa like bodies in a case of protracted fever with splenomegaly. *Jl. Trop. Med.*, 17: 113-114

Castro, F.C.; Castro, M.J.B.V.; Cabral, A.C.V.; Filho, G.B.; Vitor, R.; Lana, A.M.A, Andrade, G.M.Q. Comparação dos Métodos para Diagnóstico da Toxoplasmose Congênita. *Revista Brasileira Ginecologia e Obstetrícia*. v.23, n. 5,p.277-282, 2001

Chang, H. R.; Pechère, J. C. Activity of spiramycin against *Toxoplasma gondii* in vitro, in experimental infections and in human infection. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* (1988), 22: 97-92.

Claustrat, B.; Leston J. Melatonin: Physiological effects in humans. *Neurochirurgie* (2005), 61(2-3):77-84.

Commodaro, A. G. et al. Ocular toxoplasmosis: an update and review of the literature. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 104(2): 345-350, 2009.

Conti, A.; Conconi, S.; Hertens, E.; Skwarlo-Sonta, K.; Markowska, M.; Maestroni, G. J. M. Evidence for melatonin synthesis in mouse and human bone marrow cells. *Journal of Pineal Research* (2000), 28: 193-202.

Dannemann, B., Mccutchan, J.A., Israelski, D., Antoniskis, D., Leport, C., Luft, B., Nussbaum, J., Clumeck, N., Morlat, P., Chiu, J. Treatment of toxoplasmic encephalitis in patients with AIDS. A randomized Trial comparing pyrimethamine plus clindamycin to pyrimethamine plus sulfadiazine. The California Collaborative Treatment Group. *Annals of Internal Medicine* (1992), 116: 33- 43.

Da Silva, F. W. S.; Alves, N. D.; Amóra S. S. A.; Teixeira, F. H. V.; Accioly, M. P.; Carvalho, C. G.; Nóbrega, R. M.; Filgueira, K. D.; Feijó, F. M. C. Toxoplasmose: Uma revisão. *Ciência Animal*, v.16(2), p. 71-77, 2006

- Daguer, H., Triqueiro, R.; Costa, T. Soroprevalência de anticorpos anti *Toxoplasma gondii* em bovinos e funcionários de matadouros da microrregião de Pato Branco, Paraná, Brasil. *Ciência Rural*. v.34, n 2(1),1133-1137, 2004
- Desmonts, G.; Couvreur, J. Toxoplasmosis in pregnancy and its transmission to the fetus. *Bull. N.Y. Acad. Med.* v. 50, p. 146–159, 1974a.
- Djurkovic-Djakovic, O.; Milenkovic, V.; Nikolić, A.; Bobić, B.; Grujić, J. Efficacy of atovaquone combined with clindamycin against murine infection with a cystogenic (Me49) strain of *Toxoplasma gondii*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*; v.50, p. 981-987, 2002
- Doliwa, C. et al. Sulfadiazine resistance on *Toxoplasma gondii*: no involvement of overexpression or polymorphisms in genes of therapeutic targets and ABC transporters. *Parasite* (2013)
- Dubey, J. P. Duration of immunity to shedding of *Toxoplasma gondii* oocysts by cats. *Journal of Parasitology*, Lawrence, v.81, n.3, p.410-415, 1995.
- Dubey J.P., Beattie C.P., *Toxoplasmosis of animals and man*. Boca Raton, Fla.: CRC Press. pp. p.1-220, 1988
- Dubey, J.P.; Lindsay, D.S.; Speer, C.A. Structures of *Toxoplasma gondii* Tachyzoites, Bradyzoites, and Sporozoites and Biology and Development of Tissue Cysts. *Clinical Microbiology Reviews*, v.11, p.267-299, 1998
- Dubey, J. P.; Jones, J. L. *Toxoplasma gondii* infection in humans and animals in the United States. *Int J Parasitol.* v. 38, p. 1257-1278, 2008.
- Dubey, J. P.; Lago E.G.; Gennari S.M.; Su C.; Jones, J. L. Toxoplasmosis in humans and animals in Brazil: high prevalence, high burden of disease, na epidemiology. *Parasitology*, v.139, p. 1375-1424, 2002.
- Dunay I. R. et al. Treatment of toxoplasmosis: historical perspective. *Animal Clinical Microbiology Infection* (2018) 31:1–33
- Dunn, D. et al. Mother-to-child transmission of toxoplasmosis: risk estimates for clinical counselling. *Lancet* (1999) 353: 1829–1833.
- Elmore, S. A. et al. *Toxoplasma gondii*: epidemiology, feline clinical aspects, and prevention. *Trends in Parasitology* (2010), 26(4):190-6.
- Falco, E. A. et al. 2:4 Diaminopyrimidines - A new series of antimalarials. *British Journal of Pharmacology* (1951), 6: 185-200.

Ferguson D. J. P., Hutchison, W. M., Pettersen, E. Tissue cyst rupture in mice chronically infected with *Toxoplasma gondii*. An immunocytochemical and ultrastructural study. *Parasitology Research*, 75, 8, 599-603, 2009

Ferreira, A. I. C. et al. Risk factors for ocular toxoplasmosis in Brazil. *Epidemiol. Infect.* (2013), (142)142–148

Flori, P. et al. Sérologie de la toxoplasmose chez la femme enceinte: caractéristiques et pièges. *P. Annales de Biologie Clinique*, 67(2): 125-133, 2009.

Fontes, A.P.S., César, E.T., Beraldo, H. *Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola: A Química Inorgânica na Terapia do Câncer*, 6,13, 2005.

Franco, Pablo Igor Ribeiro; Neto, José Rodrigues Do Carmo; Guerra, Rhanoica Oliveira; Silva, Priscilla Elias Ferreira; Braga, Yarlla Loyane Lira; Celes, Mara Rúbia Nunes; Menezes, Liliana Borges De; Miguel, Marina Pacheco Miguel; Machado, Juliana Reis. Melatonin: A look at protozoal and helminths. *Melatonin: A look at protozoal and helminths*, [s. 1.], 2 ago. 2023. DOI <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2023.07.021>. Disponível:<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0300908423001827?via%3Dihub>.

Frenkel, J.K. Toxoplasmosis: parasite life cycle pathology and immunology. In *The Coccidia*. University Park Press. p. 343-410, 1973

Frenkel, J. K. & Bermudez, J. E. V. Toxoplasmose. In: Veronesi, R. & Focaccia, R. (Eds.). *Tratado de Infectologia*. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 2010

Furtado, J. M. et al. Toxoplasmosis: a global threat. *Journal of Global Infectious Diseases* (2012), 3(3):281-284

Garin, J. P. & Eyles, D. E. Le traitement de la toxoplasmose expérimentale de la souris par la spiramycine. *Presse Medicale* (1958), 66:957-8

Garweg, J. G. Determinants of immunodiagnostic success in human ocular toxoplasmosis. *Parasite Immunology*, 27: 61-68, 2005.

Gil, A. C. *Métodos e Técnicas de Pesquisa Social*. 6º ed. São Paulo: Atlas, 2008.

Grigg, M. E.; Dubey, J. P. Nussenblatt, R.B. Ocular toxoplasmosis: A lesson from Brazil. *American Journal of Ophthalmology* (2015), 159: 999-1001.

Grujic, J. et al. Effectiveness of spiramycin in murine models of acute and chronic toxoplasmosis. *International Journal of Antimicrobial Agents* (2005), 25(3): 226-230.

Hill, D. E.; Dubey, J. P. Biology and epidemiology of *Toxoplasma gondii* in man and animals. *Animal Health Research Reviews*, v. 6(1), p. 41-61, 2005.

- Hill, D.; Dubey, J. P. *Toxoplasma gondii*: transmission, diagnosis and prevention. *Clin Microbiol Infect.* v.8, p. 634-640, 2002
- Hill, D. E.; Dubey, J. P. *Toxoplasmosis*: Reston, Va., U.S. Geological Survey Circular (2014) 1389, 84 p., 1
- Hitchings, G.H.; Falco, E.A.; Elion, G.B.; Singer, S. 2,4-Diaminopyrimidines as Antagonists of Folic Acid and Folinic Acid. *Archives of Biochemistry and Biophysics* (1952), 40: 479-481.
- Ho-Yen, D. O. Infection in the immunocompetent. In: Wreghitt, T. G. & Joynson, D. H. M. *Toxoplasmosis: a comprehensive clinical guide*. Cambridge: Cambridge University Press, 1992.
- Holland, G. N. Ocular toxoplasmosis: a global reassessment. Part I: epidemiology and course of disease. *American Journal of Ophthalmology*, 136: 973-988, 2003.
- Igarashi, R.. Reflexões sobre a toxoplasmose congênita, complicações e a importância do diagnóstico precoce. *Revista Visão Universitária*, 2, Dez. 2018.
- Jacobs L., Propagation, morphology, and biology of *Toxoplasma*. *Ann N Y Acad Sci.* v.64, p.154–179, 1960.
- Jankü, J. — Apud Wolf, A. e Cowen, D. Granulomatous encephalomyelitis due to an Encephalitozoon (encephalitozoic encephalomyelitis). A new protozoan disease of man. *Bull. Nerol. Inst. N. Y.* 6:306-371. 1923.
- Jordan, M. K. et al. Plasma pharmacokinetics of sulfadiazine administered twice daily versus four times daily are similar in human immunodeficiency virus-infected patients. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48: 635-637, 2004.
- Jung, C., Lee, C. Y., Grigg, M. E. The SRS superfamily of *Toxoplasma* surface proteins. *International Journal for Parasitology*, v.34, n3, p. 285-296, 2010.
- Hutchison, W. M. Experimental transmission of *Toxoplasma gondii*. *Nature*, 206: 961-962, 1965
- Kasper, D. C. et al. Evaluation of the Vitros ECIQ immunodiagnostic system for detection of anti-toxoplasma immunoglobulin G and immunoglobulin M antibodies for confirmatory testing for acute *Toxoplasma gondii* infection in pregnant women. *Journal of Clinical Microbiology*, 47(1): 164-167, 2009.
- Katlama, C.; De Wit, S.; O'doherty, E.; Van Glabeke, M.; Clumeck, N. Pyrimethamine and clindamycin vs. pyrimethamine-sulfadiazine as acute and long-term therapy for toxoplasmic encephalitis in patients with AIDS. *Clinical Infectious Diseases.* v.22, p.268–275, 1996.

Kessl, J. J.; Ha, K. H.; Merritt, A. K.; Meshnick, S. R.; Trumppower, B. L. Molecular basis of *Toxoplasma gondii* atovaquone resistance modeled in *Saccharomyces cerevisiae*. *Molecular & Biochemical Parasitology*, v. 146, p. 255-258, 2006.

Kodym, P. et al. Evaluation of a commercial IgE ELISA in comparison with IgA and IgM ELISAs, IgG avidity assay and complement fixation for the diagnosis of acute toxoplasmosis. *Clinical Microbiology and Infection*, 13: 40-47, 2007.

Lai, B.; Witola, W. H.; El Bissati, K.; Zhou, Y.; Mui, E.; Fomovska, A.; Mcleod, R. Molecular target validation, antimicrobial delivery, and potential treatment of *Toxoplasma gondii* infections. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 109, p. 14182-14187, 2012.

Lang, C.; Groß, U.; Luder, C. G. K. Subversion of innate and adaptive immune responses by *Toxoplasma gondii*. *Parasitol Res.*, v. 100, p. 11-203, 2007

Langoni, H.; et al. Prevalência de toxoplasmose em gatos dos Estados de São Paulo e Paraná. *Braz. J. vet. Res. Anim. Sci.*, v. 38, n. 5, p. 243-244, 2001.

Lefevre-Pettazzoni, M. et al. Delayed maturation of immunoglobulin G avidity: implication for the diagnosis of toxoplasmosis in pregnant women. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 25: 687-693, 2006

Lerner, A. B.; Case, J. D.; Takahashi, Y.; Lee, T. H.; Mori, W. Isolation of melatonin, the pineal gland factor that lightens melanocytes. *Journal of the American Chemical Society* (1958), 80: 2587-2587.

Lodish, H.; D. Baltimore, A. Berk, S. L. Zipursky, P. Matsudaira and J. Darnell, *Molecular cell biology*, Scientific American Books, New York, 2000.

Luder, C. G. K.; Gross, U. Toxoplasmosis: From clinics to basic Science. *Parasitology Today*, v.14(2), p.43-45, 1998.

Luft, B. J.; Brooks, R. G.; Conley, F. K.; McCabe, R.E.; Remington, J.S. Toxoplasmic encephalitis in patients with acquired immune deficiency syndrome. *JAMA*. V.252, p. 913-917, 1984.

Machado, N. I., dos Santos, T. A. T., de Souza, W., DaMatta, R. A., & Seabra, S. H. (2020). O tratamento com melatonina induz uma redução do desenvolvimento de *Toxoplasma gondii* em células LLC-MK2. *Pesquisa em Parasitologia*.

Maenz, M. et al. Ocular toxoplasmosis past, present and new aspects of an old disease. *Progress in retinal and eye research* (2014), 39: 77-106.

Majumdar, T.; Oliveira, S.; Kumar, M.; Hussain, A.; Chauhan, N.; Kalia, I.; Sahu, A.K.; Rana, V.S.; Bharti, R.; Haldar, A.K.; et al. A via triptofano-quinurenina atenua o papel

pró-parasitário dependente de  $\beta$ -catenina do sinalossomo STING-TICAM2-IRF3-IDO1 na infecção por *Toxoplasma gondii*. *Morte Celular Dis.* 2019, 10, 1–19.

McMaster, P. R. B. et al. The effect of two chlorinated Lincomycin analogues against acute toxoplasmosis in mice. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* (1973), 22: 14–17.

Miller, N. L.; Frenkel, J. K.; Dubey, J. P. Oral infections with toxoplasma cysts and oocysts in felines, other mammals and in birds. *Journal of Parasitology, Lawrence*, v.58, n.5, p.928-937, 1972.

Mittal, V.; Ichhpujani, R. L. Toxoplasmosis- Na update. *Trop Parasitol*, v. 1, p. 9-4, 2011.

Montazeri, M. et al. Drug resistance in *Toxoplasma gondii*. *Antimicrob Drug Resist.* (2018) 9: 1121–1126.

Montoya, J. G.; Liesenfeld, O. Toxoplasmosis. *The Lancet* (2004), 363: 1965-93. 1976.

Montoya, J. G.; Liesenfeld, O. Toxoplasmosis. *Lancet*, v. 12, p. 1965-1976, 2004.

Morar, M. et al. Structure and Mechanism of the Lincosamide Antibiotic Adenylyltransferase LinB. *Structure* (2009), 17(12):1649-1659.

Moreira, F. F.; Portes, J. De A.; Barros A., N. F.; Fernandes, C.; Horn, A.; Santiago, C. P.; Segat, B. B.; Caramori, G. F.; Madureira, L. M. P.; Candela, D. R. S.; Marques, M. M.; Lamounier C. R., Jackson A.; De Souza, W.; Damatta, R. A.; Seabra, S. H . Development of new dinuclear Fe(III) coordination compounds with in vitro nanomolar antitrypanosomal activity. *DALTON TRANSACTIONS*, v. 50, p. 12242-12264, 2021.

Moura, L. et al. Waterborne outbreak of toxoplasmosis, Brazil, from field to gene. *Emerging Infectious Diseases*, 12: 326-329, 2006

Nath, M., Pokharia, S., Yadav, R. Organotin (IV) complexes of amino acids and Peptides. *Coord Chem Rev*, 215, 99–149, 2001.

Neves, D. P. et al. *Parasitologia humana*. 12. ed. São Paulo: Atheneu, 2011.

Nicolle, C.; Manceaux, L. Sur une infection a corps de Leishmam ( or organismes voisins) du-gondi. *C R. Seances Acad Sci.*, v.6, p. 147-763, 1908.

Niel, G.; Videau, D. Activité de la spiramycione in vitro sur *Toxoplasma gondii*. *Reunión Inter Discipl. Chimioth. Antiinfect* (1981), 121: 8.

Nishi, M. et al. Organellar dynamics during the cell cycle of *Toxoplasma gondii*. *Journal of Cell Science* (2008), 121: 1559-1568.

Nosjean, O. et al. Identification of melatonin-binding Site MT3 as the quinone reductase. *The Journal of Biological Chemistry* (2000), 275(40): 31311-31317.

Orgiv, C., Abrams, M.J. Medicinal Inorganic Chemistry: Introduction. Chem Rev, 99, 2201-2203, 1999.

Pandi-Perumal, S. R. et al. Physiological effects of melatonin: Role of melatonin receptors and signal transduction pathways. Progress in Neurobiology (2008), 85: 335-353

Pappas G., Roussos N, et al. Toxoplasmosis snapshots: global status of *Toxoplasma gondii* seroprevalence and implications for pregnancy and congenital toxoplasmosis. International journal for parasitology, v.39(12), p.1385–1394, 2009.

Park, Y. H.; Nam, H. W. Clinical Features and Treatment of Ocular Toxoplasmosis. The Korean Journal of Parasitology (2013), 51: 393-399.

Parrilha, G.L., Fernandes, C., Bortoluzzi, A.J., Szpoganicz, B., Silva, M.S., Pich, C.T., Terenzi, H., Horn Jr, A. A new  $\mu$ -oxo di-iron complex with suitable features to mimic metallohydrolase activity: X-ray molecular structure, aqua solution behavior and nuclease activity of the complex  $[\text{Fe}(\text{HPCINOL})(\text{SO}_4)]_2 \cdot 1 \text{ oxo}$ . Inorganic Chemistry Communications, 11, 643–647, 2008.

Petersen, E. European multicenter study of the LIAISON automated diagnostic system for determination of *Toxoplasma gondii* specific immunoglobulin G (IgG) and IgM and the IgG avidity index. Journal of Clinical Microbiology, 43(4): 1570-1574, 2005.

Petersen E., Vesco G., Villari S., Buffolano W. What do we know about risk factors for infection in humans with *Toxoplasma gondii* and how can we prevent infections? Zoonoses Public Health v.57, p.8–17, 2010.

Petersdorf, R. G. Landmark perspective: Sulfadiazine. JAMA (1984), 251(11): 1475-1476. Pinnert-Sindico, S.; Pellerat, J. A new antibiotic: a spiramycin study of its in vitro activity. Therapie (1956), 11: 308-323

Pramanik, P. K. et al. Drug Resistance in Protozoan Parasites: An Incessant Wrestle for Survival. Journal of Global Antimicrobial Resistance (2019), 18:1-11

Portes, J.A., de Souza, T.G., dos Santos, T.A.T., da Silva, L.L.R., Ribeiro, T.P., Pereira, M.D., Horn Jr., A., Fernandes, C., Damatta, R.A., de Souza, W., Seabra, H. “Reduction of *Toxoplasma gondii* development due to inhibition of parasite antioxidant enzymes by a dinuclear iron(III) compound”. Antimicrob Agents Chemother, 59, 7374-86, 2015

Portes, J. A., Motta, C. S., Azeredo, N. F., Fernandes, C., Horn, A., De Souza, W., Seabra, S. H. (2017). O tratamento in vitro de *Toxoplasma gondii* com complexos de cobre (II) induz alterações semelhantes à apoptose e à divisão celular. Parasitologia Veterinária, 245, 141–152.

Portes, J. de A., Azeredo, N. F. B., Siqueira, P. G. T., de Souza, T. G., Fernandes, C., Horn, A., ... Seabra, S. H. (2018). Uma nova sulfadiazina contendo complexo de ferro (III) inibe a proliferação e induz a cistogênese do *Toxoplasma gondii*. *Pesquisa em Parasitologia*, 117(9), 2795–2805.

Poon, A.M.S.; Liu, Z.M.; Pang, C.S.; Brown, G.M.; Pang, S.F. Evidence for a direct action of melatonin on the immune system. *Biological signals and receptors*, v.3, p.107-111, 1994.

Reiter R.J. Oxidative damage in the central nervous system: protection by melatonin. *Progress in Neurobiology*, v.56, p.359-384, 1998.

Reiter R.J., Tan D.X., Fuentes-Broto L. Melatonin: a multitasking molecule. *Prog Brain Res*. v.181, p.127–151., 2010.

Reiter, R. J. Melatonin as an antioxidant: biochemical mechanisms and pathophysiological implications in humans – Review. *Acta Bioch Polonica*, v.50, p.1129-1146, 2003.

Reiter, R. J. The universal nature, unequal distribution and antioxidant functions of melatonin and its derivatives. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, v.13, p. 373-384, 2013

Reiter, R.J. Pineal melatonin: cell biology of its synthesis and of its physiological interactions. *Endocrine Reviews*, v.12, p.151-180, 1991.

Raikhlin, N. T.; Kvetnoy, I. M. Melatonin and enterochromaffin cells. *Acta Histochemica* (1976), 55: 19-24

Remington, J. S. et al. Toxoplasmosis. In: Remington, J.S. and Klein, J. (eds) *Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infant*, 5ª edição. Philadelphia, PA: W. B. Saunders, p. 205–346, 2011.

Robert-Gangneux, F.; Dardé, M.-L. Epidemiology of and diagnostic strategies for toxoplasmosis. *Clinical microbiology reviews*, v. 25, n. 2, p. 264–96, Apr. 2012.

Roizen N, Swisher CN, Stein MA, et al. Neurologic and developmental outcome in treated congenital toxoplasmosis. *Pediatrics* 1995; 95:11-20.

Sabin, A. B., Warren, J. Therapeutic effectiveness of certain sulfonamide on infection by an intracellular protozoan (*Toxoplasma*). *Proceedings of the Society for Experimental Biology And Medicine* (1942), 51: 19–23.

Santana, R. M.; Andrade, F. M.; Moron, A. F. Infecções Torç e Gravidez. In: Prado, F. C.; Ramos, J.; Ribeiro Do Valle, J. editores. *Atualização terapêutica*. 21 ed. São Paulo: Artes Médicas, 2003. p. 1111-2

Schwietert, C., Mccue, J., Bortoluzzi, A. Coordination compounds in medicinal chemistry. *Coordination Chemistry Reviews*, 184, 67-89, 1999.

Sensini, A. *Toxoplasma gondii* infection in pregnancy: opportunities and pitfalls of serological diagnosis. *Clinical Microbiology and Infection*, 12: 504-512, 2006.

Silva, P.P., de Paula, F.C.S., Guerra, W., Silveira, J.N., Botelho, F.V., Vieira, L.Q., Bortolotto, T., Fischer, F.L., Bussid, G., Terenzi, H., Pereira-Maia, E.C. Platinum (II) compounds of tetracyclines as potential anticancer agents: cytotoxicity, uptake and interactions with DNA. *J Braz Chem Soc*, 21, 1237, 2010.

Singh, H.L., Sharma, M., Varshney, A.K. Studies on coordination compounds of organotin (IV) with Schiff bases of amino acids. *Synth React Inorg Met-Org Chem*, 30, 445-456, 2000.

Skariah S.; Mcintyre, M. K.; Mordue, D. G. *Toxoplasma gondii*: determinants of tachyzoite to bradyzoite conversion. *Parasitol*; v.107, n2, p.253-260, 2012.

Slominski, A. et al. On the role of melatonin in skin physiology and pathology. *Endocrine* (2005), 27: 137-147.

Smieja, M. Current indications for the use of clindamycin: A critical review. *Canadian Journal of Infectious Diseases* (1998), 9(1): 22-28.

Souza, W.; Martins-Duarte, E-S.; Lembruber, L.; Attias, M.; Vommaro, R. C. Organização estrutural do taquizoíta de *Toxoplasma gondii*. *Scientia Medica*, v.20, n.1, p.131-143, 2010.

Sukthana, Y. Toxoplasmosis: beyond animals to humans. *Trends in Parasitology*. V.22, n., p. 137-142, 2006.

Splendore, A. Um nuovo protozoa parasita de' conigli, incontrato nelle lesioni anatomiche d'une malattia che ricorda in molti punti il Kala-azar dell'uomo. *Revista da Sociedade Cientifica de São Paulo*, v. 12, p.3-109, 1908

Srinivasan, S.; Spence, D. W.; Moscovitch, A.; Pandi-Perumal, S. R.; Trakht, I.; Brown, G. M.; Cardinali, D. P. Malaria: therapeutic implications of melatonin. *Journal of pineal research*, v.48, p.1-8, 2010.

Tan, Y.T., Tillett, D.J., McKay, I.A. Molecular strategies for overcoming antibiotic resistance in bacteria. *Mol. Med. Today*, 6, 309, 2002

Tenter, A. M.; Heckeroth, A. R.; Weiss, L.M. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. *International Journal for Parasitology*. v.30, p.1217-1258, 2000.

Tosini, G.; Menaker, M. The clock in the mouse retina: melatonin synthesis and photoreceptor degeneration. *Brain Research* (1998), 789: 221-228.

Van Rijt, S.H. Sadler, P.J. Current applications and future potential for bioinorganic chemistry in the development of anticancer drugs. *Drug Discov Today*, 14, 1089, 2009.

Vielma, J. R.; Bonilla, E.; Chácin-Bonilla, L.; Mora, M.; Medina-Leendertz, L.; Bravo, Y. Effects of melatonina on oxidative stress, and resistance to bacterial, parasitic, and viral infections: A review. *Acta Tropica*, p.31- 38, 2014.

Wallon, M. et al. Congenital Toxoplasma Infection: Monthly Prenatal Screening Decreases Transmission Rate and Improves Clinical Outcome at Age 3 Years. *Clinical Infectious Diseases* (2013), 2013;56(9):1223–31

Wang, Z. D. et al. Toxoplasma gondii Infection in Immunocompromised patients: A systematic review and meta-analysis. *Frontiers in Microbiology* (2017)

Weiss, L. M.; Dubey, J. P. Toxoplasmosis: a history of clinical observations. *International Journal for Parasitology* (2009), 39(8): 895-901.

Weiss, L.M., Kim, L. Bradyzoite Development. In: *Toxoplasma gondii - The model apicomplexan: perspectives and methods*. Ed Academic Press, 341–366, 2007.

Zhang, H.; Zhang, Yiqiang. Melatonin: a well-documented antioxidant with conditional pro-oxidant actions. *Journal of Pineal Research*, v.57, p.131-146, 2014.