

TOXOPLASMOSE FELINA: FATOR DE NECROSE TUMORAL, ÓXIDO NÍTRICO E RADICAIS LIVRES EM GATOS SOROPOSITIVOS

GABRIELLE CALDOVINO RIGÃO¹; GABRIELA MEDEIROS², MONIQUE GUADALUPE CASANOVA³, FERNANDA DORNELLES⁴, NATÁLIA BERNE PINHEIRO⁵; NATHIELI BIANCHIN BOTTARI⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – gabriellerigao@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – gabiimed23@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – moniquecasanova983@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – nanda_dorn@hotmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – nbernevet@gmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas – nathieli_bb@hotmail.com

1. INTRODUÇÃO

Toxoplasma gondii é o agente etiológico da toxoplasmose, uma das infecções parasitárias mais disseminadas no mundo, sendo considerado um importante problema de saúde pública. É um protozoário cosmopolita e pode infectar todos os vertebrados de sangue quente, incluindo aves, mamíferos e humanos. Os felinos desempenham um papel fundamental na epidemiologia da doença, pois esse parasito só consegue completar seu ciclo de vida neste hospedeiro (DUBEY, 2021). Neles, a infecção é geralmente assintomática, mas o aparecimento de sinais clínicos tais como febre, icterícia, tosse, dispneia, letargia, diarreia, vômito, anorexia, alterações no miocárdio, neurológica, oculares e hiperestesia muscular também podem ocorrer. Contudo, mesmo sendo comum a ocorrência da doença nos gatos, a manifestação clínica é rara (CAVALCANTI FILHO, 2017).

Anticorpos contra *T. gondii* podem ser detectados em aproximadamente 74% da população de gatos adultos, dependendo do tipo de alimento e do ambiente (TENTER et al., 2000). No Brasil, a soroprevalência de *T. gondii* em felinos domésticos varia entre 19,4 e 84,4% (PINTO et al., 2009). Em outras espécies, a infecção está associada ao aumento dos níveis de óxido nítrico (ON) como uma tentativa de controlar a infecção. No entanto, a produção excessiva de ON pode causar danos citotóxicos nas células do hospedeiro. Além disso, estudos demonstram que a infecção por *T. gondii* pode aumentar marcadores inflamatórios, como o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), bem como reações que causam oxidação proteica (DO CARMO et al., 2015; TONIN et al., 2015). Portanto, o objetivo deste estudo foi investigar se gatos soropositivos para *T. gondii* apresentam altos níveis séricos de NO, TNF- α e radicais livres.

2. METODOLOGIA

Oitenta e nove gatos assintomáticos do Centro de Clínica e Cirurgia do Instituto Federal de Santa Catarina e de clínicas veterinárias particulares, ambas na cidade de Concórdia, foram utilizados neste estudo. Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética do Instituto Federal Catarinense Campus Concórdia sob o protocolo nº 09/2015. Amostras de sangue foram coletadas em tubos sem anticoagulante, centrifugadas a 3.500 g por 10 min, e o soro foi armazenado a -20°C. Os testes sorológicos para *T. gondii* foram realizados com o uso da técnica de imunofluorescência indireta (IFI, fabricante Immunodot Diagnostics Ltda., Jaboticabal, Brasil) conforme recomendação do mesmo. Amostras de soro foram

previamente diluídas em solução salina tamponada com fosfato (PBS) pH 7,4 (1:40 v/v) e incubadas em lâminas contendo antígenos de *T. gondii* por 30 minutos em câmara úmida a 37°C. Após 3 lavagens com PBS, adicionou-se o conjugado fluorescente (IgG anti-cat p Evans blue, Immunodot) na diluição 1:10. As amostras foram lidas em microscópio de fluorescência e consideradas positivas se a fluorescência fosse observada em todas as superfícies dos taquizoítos, e negativas quando os taquizoítos não apresentassem fluorescência. A quantificação do fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) foi realizada por ELISA utilizando kits comerciais (Feline TNF- α /TNFSFIA; R&D Systems, Inc., Minneapolis, Minnesota), de acordo com as recomendações do fabricante.

Os níveis de TNF- α foi determinada espectrofotometricamente e os resultados foram expressos como pg/mL. A determinação dos níveis de nitrato/nitrito (NOx) foram realizados de acordo com o método descrito por MIRANDA et al. (2001). Os níveis séricos de espécies reativas ao oxigênio (EROs) foram determinados conforme HALLIWELL et al. (2006). Os dados foram submetidos a um teste de normalidade (Shapiro) e comparados através do teste *t* de Student sendo considerados significativos ($p < 0,05$).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os níveis séricos de TNF- α , NOx e ROS foram maiores em animais soropositivos para *T. gondii* em comparação aos animais soronegativos ($p < 0,05$). TNF- α foi o marcador com maior elevação relativa (quase quatro vezes maior do que o controle negativo), reforçando sua importância na ativação inflamatória frente ao parasito. NOx quase dobrou (com aumento de 93%), evidenciando a indução de vias microbicidas dependentes de óxido nítrico, mas também potencial risco de lesão tecidual. ROS tiveram aumento significativo de 58%, embora mais moderado, indicando estresse oxidativo contínuo mesmo em animais assintomáticos. De acordo com DO CARMO (2015) e TONIN (2015), um aumento nos marcadores inflamatórios foi observado em equinos, cabras e camundongos infectados por *T. gondii*, semelhante ao observado no presente estudo.

Os radicais livres, como as espécies reativas ao oxigênio (EROs), podem desempenhar funções fisiológicas importantes, incluindo a produção de energia, a síntese de substâncias biológicas e o crescimento celular (BARREIROS et al., 2005). Entretanto, excesso de EROs acarretam efeitos deletérios a longo prazo e estão associados a doenças cardíacas, trombose, câncer, lesões hepáticas e neurodegenerativas (FREINBICHLER et al., 2011). Neste estudo, os níveis de NOx e TNF- α aumentaram em animais soropositivos, o que pode estar relacionado à resposta inflamatória contra *T. gondii*, uma vez que ambos desempenham atuando como mediador inflamatório e inibem a replicação do parasito.

4. CONCLUSÕES

Concluimos que gatos soropositivos para *T. gondii* apresentaram aumento nos marcadores inflamatórios séricos e radicais livres, mesmo quando assintomáticos.

O diagnóstico adequado é fundamental na clínica médica de felinos, visto que a inflamação induzida pelo parasito pode ser silenciosa, mas tende a se agravar na presença de coinfeções, como o vírus da leucemia felina (FeLV) e o vírus da imunodeficiência felina (FIV).

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CAVALCANTI FILHO, M. et al. *Toxoplasmose felina (revisão de literatura)*, 2017.
- DO CARMO, G. M., A. S. DA SILVA, V. KLAUCK, R. PAZINATO, A. B. MOURA, T. DUARTE, M. M. DUARTE, G. V. BOCHI, R. N. MORESCO, L. M. STEFANI. Immunological response and markers of cell damage in seropositive horses for *Toxoplasma gondii*. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, 38: 9–13, 2015.
- DUBEY, J.P. **Toxoplasmosis of Animals and Humans** (3rd ed.). Press.One, 2021.
- FREINBICHLER, W., M. A. COLIVICHI, C. STEFANINI, L. BIANCHI, B. MISINI, P. WEINBERGER, W. LINERT, D. VARESLIJA, L. DELLA CORTE. Highly reactive oxygen species: Detection, formation, and possible functions. **Cellular and Molecular Life Sciences**, 68: 2067–2079, 2011.
- HALLIWELL, B., AND J. M. C. GUTTERIDGE. *Free radicals in biology and medicine*, 4th ed. Clarendon Press, Oxford, U.K., 851 p, 2006.
- MIRANDA, K. M., M. G. ESPEY, AND D. A. WINK. A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. **Nitric Oxide**, 5: 62–71, 2001.
- PINTO, L. D., F. A. P. DE ARAUJO, N. S. STOB, AND S. M. T. MARQUES. Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* in domestic cats treated in private clinics of Porto Alegre, Brazil. **Ciencia Rural**, 39: 2464–2469, 2009.
- TENTER, A. M., A. R. HECKEROTH, AND L. M. WEISS. *Toxoplasma gondii*: From animals to humans. **International Journal for Parasitology** 30: 1217–1258, 2000.
- TONIN, A. A., A. WEBER, A. RIBEIRO, G. CAMILLO, F. F. VOGEL, A. B. MOURA, R. N. MORESCO, AND A. S. DA SILVA. Serum levels of nitric oxide and protein oxidation in goats seropositive for *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum*. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, 41: 55–58, 2015.