

Mecanismos celulares de patogenicidade em protozoários de importância médica

Cellular mechanisms of pathogenicity in medically important protozoa

Corina Lobato Hagemann¹
 Marina Monteiro Guedes²
 Marcelo Pasa Panesso³
 Saulo Almeida de Menezes⁴
 Tiana Tasca⁵

Resumo

As parasitoses humanas: malária, leishmanioses, doença de Chagas e tricomoníase são causadas por protozoários e apresentam elevadas taxas de prevalência e morbimortalidade. Apesar dos números alarmantes, essas doenças são negligenciadas, recebendo pouca atenção no desenvolvimento de novos fármacos e, portanto, o combate dessas enfermidades permanece um objetivo a ser alcançado. A pesquisa básica tem um papel fundamental para compreensão dos mecanismos celulares e moleculares na busca por novos alvos terapêuticos. Nesse contexto, esta revisão reúne as principais vias celulares que os protozoários *Plasmodium* spp., *Leishmania* spp., *Trypanosoma cruzi* e *Trichomonas vaginalis* utilizam para estabelecer a infecção e causar patogenicidade. Os mecanismos celulares descritos incluem: (i) adesão, invasão e saída da célula hospedeira, (ii) evasão da resposta imune do hospedeiro, (iii) comunicação celular mediada por vesículas extracelulares, (iv) peptidases e metabolismo redox, (v) morte celular e inflamassomas. De forma geral, estudos avançados têm identificado proteínas, enzimas e receptores, em nível molecular, que desempenham papéis fundamentais no estabelecimento de infecção e, portanto, constituem-se como potenciais novos alvos terapêuticos para o tratamento, diagnóstico e desenvolvimento de vacinas para controlar e erradicar essas parasitoses.

Palavras-chave: protozoários patogênicos; biologia celular; virulência.

Abstract

The human parasitic diseases: malaria, Leishmaniasis, Chagas disease and trichomoniasis are caused by protozoa and present high rates of prevalence and morbimortality. However, despite the alarming numbers, these diseases are neglected, receiving little attention in the development of new drugs and, therefore, the fight against these diseases remains a goal to be achieved. Basic research plays a fundamental role in understanding cellular and molecular mechanisms in the search for new therapeutic targets. In this context, this review brings together the main cellular pathways that the protozoa Plasmodium spp., Leishmania spp., Trypanosoma cruzi and Trichomonas vaginalis use to establish infection and cause pathogenicity. The cellular mechanisms described herein include: (i) host cell adhesion, invasion and egress, (ii) host immune response evasion, (iii) cell communication mediated by extracellular vesicles; (iv) peptidases and redox metabolism, (v) cell death and inflammasomes. In general, advanced studies have identified proteins, enzymes, receptors at the molecular level, which play key roles in the establishment of infection and, therefore, represents potential new therapeutic targets for the treatment, diagnosis and development of vaccines to control and eradicate these parasitic diseases.

Keywords: pathogenic protozoa; cell biology; virulence.

1 Graduada em Farmácia pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil, mestranda no Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas pela UFRGS. ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-0624-5327>. E-mail: corinalb@hotmail.com

2 Doutoranda e mestre no Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular pela UFRGS. ORCID: <https://orcid.org/0009-0006-9588-6132>. E-mail: marina_monteiro.guedes@yahoo.com.br

3 Doutorando e mestre no Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular pela UFRGS e graduado em Biotecnologia pela UFRGS. ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-0344-220X>. E-mail: marcelopanesso@gmail.com

4 Doutorando no Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular pela UFRGS, mestre em Bioquímica e Fisiologia pela Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, PE, Brasil e graduado em Biomedicina pelo Centro Universitário Católica de Quixadá (UNICATÓLICA), Quixadá, CE, Brasil. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6657-585X>. E-mail: saulomenezes99@gmail.com

5 Doutora em Ciências Biológicas (Bioquímica) pela UFRGS e mestre em Biociências (Zoologia – Parasitologia) pela Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre. Líder do Grupo de Pesquisa em Tricomonas (GPTrico) da Faculdade de Farmácia e Centro de Biotecnologia da UFRGS. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8334-5105>. E-mail: tiana.tasca@ufrgs.br



1 Introdução

As parasitoses humanas são causadas por helmintos, protozoários ou ectoparasitos e têm grande impacto nos trópicos e subtropicais, principalmente entre pessoas com baixo nível socioeconômico. Apesar de acometerem a espécie humana há milhares de anos e de apresentarem elevadas taxas de prevalência e de morbimortalidade, as doenças causadas por protozoários como: leishmanioses, doença de Chagas e tricomoniase, ainda são negligenciadas, recebendo pouca atenção dos órgãos de saúde pública (CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2022c). De todas as doenças parasitárias, a malária causa a maioria das mortes no mundo. Em 2020, cerca de 627 mil pessoas morreram de malária, sendo 96% dos casos na África e 80% em crianças menores de 5 anos (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2021). A subsistência dos parasitos decorre do uso de maquinarias celulares de patogenicidade que favorecem sua permanência e evasão da resposta imune do hospedeiro.

As leishmanioses são um complexo de doenças, causadas por mais de 20 espécies de protozoários do gênero *Leishmania* spp. Cerca de 700,000 a 1 milhão de novos casos de leishmaniose ocorrem anualmente em todo o mundo, resultando em até 30.000 mortes (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2022). Os parasitos são transmitidos, através da picada de mosquitos flebotomíneos, causando manifestações cutâneas, muco cutâneas e viscerais. Ao realizar a hematofagia, o inseto insere a forma promastigota do parasito que precisará ser fagocitada por células do hospedeiro para continuar o seu ciclo biológico. Além disso, a saliva do flebotomíneo possui componentes que levam ao aumento da migração de células inflamatórias para o local de deposição do parasito, aumentando a interação da *Leishmania* com as células do hospedeiro (SASIDHARAN; SAUDAGAR, 2021).

A tripanossomíase americana ou doença de Chagas (DC) é uma doença transmitida por insetos triatomíneos e causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*. A DC era originalmente endêmica nas Américas, mas a migração de indivíduos infectados a espalhou para diferentes regiões do globo, com 8 milhões de pessoas infectadas em todo o mundo. Cerca de 12.000 pessoas infectadas morrem anualmente em virtude das complicações cardíacas, causadas pela infecção crônica por *T. cruzi* (PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION, 2022). Os parasitos, em seu estágio de tripomastigota metacíclico, são inoculados junto das fezes do inseto vetor, após a picada. Os parasitos invadem as células do hospedeiro

(macrófagos, fibroblastos e células epiteliais) e iniciam a infecção aguda. Dentro da célula hospedeira, os parasitos escapam do mecanismo antimicrobiano e se diferenciam em amastigotas para causar a doença (MARTÍN-ESCOLANO *et al.*, 2022).

A malária é uma doença causada por parasitos do gênero *Plasmodium* spp., transmitidos através da picada da fêmea do mosquito *Anopheles*. Essa parasitose foi a causa de morte de cerca de 627 mil pessoas em 87 países em 2020, sendo 96% dos casos na África e 80% em crianças menores de 5 anos (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2021). O inseto inocula os esporozoítos do parasito que precisarão ser transportados para o fígado nas células de Kupffer. Uma vez no parênquima hepático, os esporozoítos atravessam hepatócitos de maneira não invasiva, ferindo a membrana, antes de finalmente invadir um hepatócito do hospedeiro, através de invaginação e formação de um vacúolo parasitóforo. Após sua replicação inicial no fígado, os parasitos sofrem multiplicação assexuada nos eritrócitos (MOLINA-FRANKY *et al.*, 2022). Desde outubro de 2021, a OMS recomenda amplo uso da vacina RTS, S/AS01 entre crianças que vivem em regiões com transmissão moderada a alta de malária por *Plasmodium falciparum*. A vacina demonstrou reduzir significativamente a malária e a malária grave mortal, entre crianças pequenas.

O protozoário extracelular *Trichomonas vaginalis* é o agente etiológico da tricomoníase. A infecção ocorre no trato urogenital humano e é a infecção sexualmente transmissível (IST) não viral mais comum no mundo, com 156 milhões de novos casos por ano (ROWLEY *et al.*, 2019). Contudo, levando em consideração que não se trata de uma doença de notificação compulsória, a real prevalência e incidência da doença ainda são subestimadas. Cerca de 80% dos casos de tricomoníase são assintomáticos (WORKOWSKI *et al.*, 2021), o que viabiliza a permanência do parasito em contato com as células do hospedeiro, levando a cronicidade da infecção e surgimento de complicações como doença inflamatória pélvica, infertilidade, predisposição ao câncer cervical e de próstata, distúrbios gestacionais (parto prematuro, baixo peso de recém nascidos), além do aumento da transmissão e aquisição de HIV (MERCER; JOHNSON, 2018).

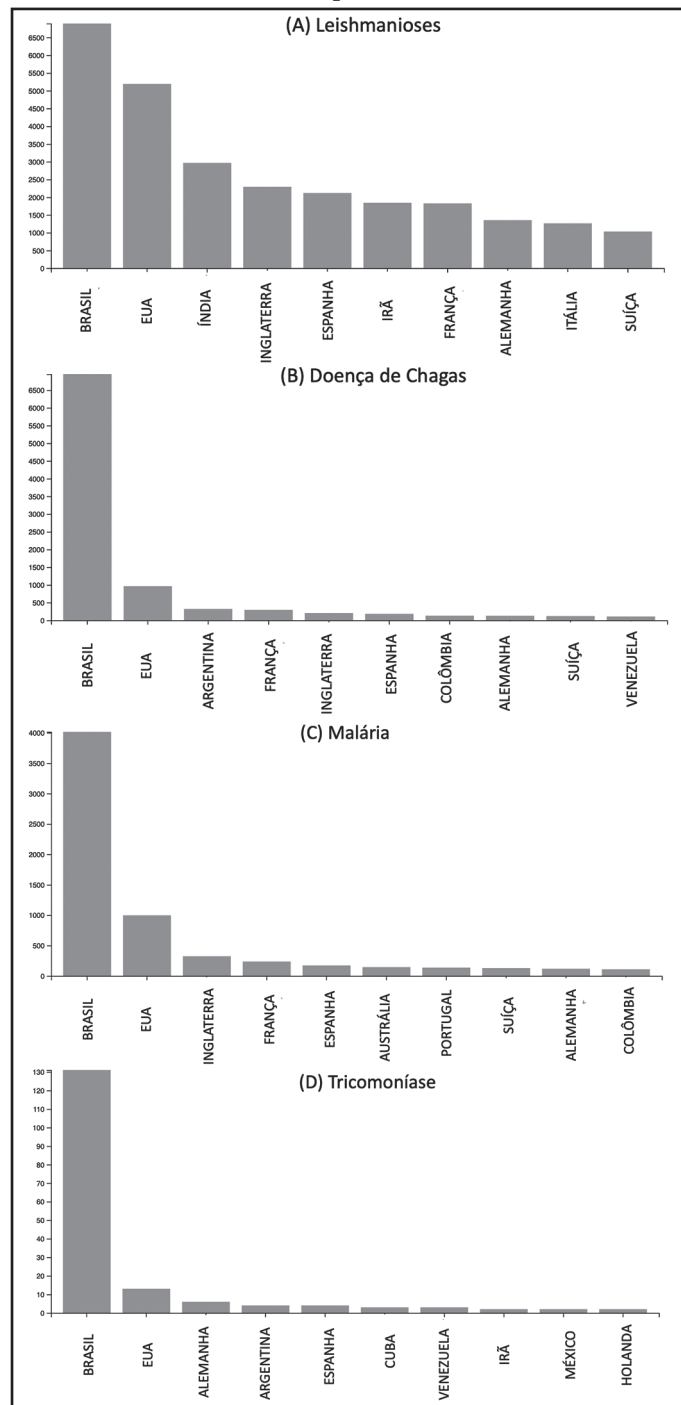
Nesse contexto da busca pelo entendimento das infecções parasitárias, o Brasil ocupa posição de liderança no número de publicações no mundo, na frente de países desenvolvidos, como: EUA, Inglaterra, Alemanha e Espanha (figura 1). Esses dados revelam a contribuição da pesquisa científica brasileira,

principalmente oriunda das universidades públicas, no cenário de combate dessas parasitoses.

Esta revisão teve como objetivo buscar na literatura artigos sobre os mecanismos da biologia celular, envolvidos na patogenicidade dos protozoários

Leishmania spp., *T. cruzi*, *Plasmodium* spp. e *T. vaginalis*, durante a disciplina “Biologia Celular de Parasitos” do Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, no semestre 2022/1.

Figura 1 – Gráficos de publicações (artigos originais, artigos de revisão, resumos de congressos, cartas editoriais, artigo de conferências) nos diferentes países (A) leishmanioses, (B) doença de Chagas, (C) malária e (D) tricomoníase no período 1945 a 2023



Fonte: Web of Science (2023).

2 Mecanismos de adesão, invasão e saída da célula hospedeira

Diversos parasitos que causam doenças em humanos precisam aderir e invadir as células hospedeiras, para conseguirem se estabelecer. Os parasitos intracelulares obrigatórios invadem as células e migram, através de vários tecidos, para poder escapar do sistema imune do hospedeiro e realizar a replicação. Posteriormente, o parasito deve sair da célula hospedeira para continuar sua disseminação e transmissão, tanto para novas células quanto para outros indivíduos (WALKER *et al.*, 2014).

2.1 Mecanismos de adesão

As lectinas são proteínas que apresentam ao menos um domínio não catalítico que tem capacidade de realizar ligação específica e reversível com carboidratos. Essas proteínas facilitam a ligação do parasito a várias glicoproteínas, glicolípídios e proteoglicanos encontrados na superfície do trato gastrointestinal do hospedeiro, por exemplo. A lectina galactose/N-acetil-D-galactosamina (Gal/GalNAc) participa na transdução de sinal, fagocitose, evasão do sistema complemento, ativação de macrófagos e células dendríticas, indução de um perfil pró-inflamatório Th1 no hospedeiro e possivelmente, no encistamento da ameba intestinal patogênica, *Entamoeba histolytica*. Na espécie *Giardia duodenalis*, causa de diarreia e síndrome de má absorção em crianças, estruturas semelhantes a lectinas foram identificadas na superfície do parasito, incluindo a N-acetilgalactosamina (GlcNAc), manose e ácido siálico que são reconhecidos pelo hospedeiro, usando lectinas de ligação de manose (LLM) (MARTÍNEZ-OCAÑA *et al.*, 2020).

As galectinas são uma família de lectinas, que se ligam a glicanos, que contém o dissacarídeo N-acetilgalactosamina. Essas proteínas atuam na adesão de patógenos às células hospedeiras e ativação da imunidade inata e adaptativa. No hospedeiro, podem se ligar a glicanos presentes na superfície de vários parasitos, ajudando-os na adesão às células e mediando o reconhecimento do parasito e ativação da resposta imune (SHI *et al.*, 2018).

2.2 Mecanismos de invasão

A forma promastigota de *Leishmania* spp. possui na superfície proteínas essenciais que interagem com receptores presentes na superfície da célula hospedeira e que permitem a sua entrada. Alguns exemplos mais conhecidos são: o lipofosfoglicano (LPG), que

interfere na inserção do complexo de ataque à membrana e à metaloprotease GP63 que cliva a porção C3b do sistema complemento do hospedeiro para a forma inativa, facilitando sua entrada mediada pelo receptor do complemento 3 (CR3) nos macrófagos (WALKER *et al.*, 2014). Além dessas células, os macrófagos são células cruciais para o parasito, pois será onde sofrerá diferenciação em amastigotas. Após a ligação inicial, o LPG presente na superfície do parasito, é inserido nos microdomínios do fagossomo do macrófago, excluindo o regulador da exocitose e criando um nicho fagossômico que não desencadeia a maquinaria microbicida. Esses vacúolos parasitóforos não conseguem interagir corretamente com endossomos tardios e lisossomos, resultando no atraso da maturação do fagossomo, o que interfere no recrutamento de transdutores de sinal e no tráfego de vesículas para fagossomos em desenvolvimento, levando também à desativação da geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) na célula e a permanência do parasito viável (WALKER *et al.*, 2014).

O parasito *T. cruzi* é capaz de infectar tanto células fagocíticas quanto células não fagocíticas. Os tripomastigotas iniciam a infecção, interagindo com a célula hospedeira por ligantes proteicos como membros da superfamília gp85/trans-sialidase (TS). A glicoproteína 82 (gp82) e a glicoproteína 30 (gp30) são proteínas de superfície específicas, para a forma tripomastigota metacíclica (TM), que estimulam a liberação bidirecional de cálcio no parasito e na célula hospedeira. Os tripomastigotas da corrente sanguínea invadem as células, através de diferentes interações: a ativação da fosfolipase C (PLC) da célula hospedeira ocorre, por meio do disparo do receptor de bradicinina do hospedeiro, em um mecanismo no qual o parasito secreta a enzima cruzipaina que cliva o cininogênio do hospedeiro para liberar bradicinina. A TS do parasito promove a invasão, através da transferência de resíduos de ácido siálico da superfície do hospedeiro para as mucinas do parasito (RODRÍGUEZ-BEJARANO *et al.*, 2021).

No caso dos protozoários do gênero *Plasmodium* spp., agentes causadores da malária, a invasão do eritrócito ocorre pela forma de merozoíto do parasito, na seguinte ordem: interação inicial do parasito com o eritrócito e deformação da membrana eritrocitária; reorientação apical e invasão; equinocitose e recuperação da célula hospedeira invadida. Os merozoítos possuem o complexo apical no qual residem organelas secretoras especializadas, denominadas roptrias e micronemas, que contêm adesinas envolvidas na ligação eritrocitária (COWMAN *et al.*, 2017). As interações

iniciais ocorrem, através de proteínas da superfície do merozoíto (MSPs), seguidas pela formação de junções de oclusão entre o eritrócito e a extremidade apical do parasito. A interação de ligantes e receptores de merozoíto no eritrócito ativa uma cascata de fosforilação que altera as propriedades viscoelásticas da sua membrana, permitindo a entrada do parasito. Essa deformação precede a reorientação apical do merozoíto, etapa ligada a um influxo de cálcio do merozoíto para os eritrócitos, promovendo a liberação de proteínas das roptrias (SPARVOLI; LEBRUN, 2021).

2.3 Mecanismos de egresso do parasito da célula hospedeira

Três vias distintas de egresso (saída) da célula hospedeira pelos parasitos foram identificadas: morte celular programada induzida, destruição ativa da célula hospedeira e saída dependente da indução da membrana sem lise da célula hospedeira. A morte celular programada induzida pode ser não lítica, mantendo a integridade da superfície da célula que irá morrer até sua absorção por um fagócito, ou lítica, associada à permeabilização precoce da membrana celular e liberação de detritos celulares. A apoptose é um mecanismo não lítico, caracterizada por alterações morfológicas típicas, incluindo a desintegração da célula apoptótica em corpos apoptóticos condensados, que são posteriormente absorvidos pelos fagócitos, levando à recaptção do patógeno e, portanto, à disseminação célula a célula (FLIEGER *et al.*, 2018).

Na destruição ativa da célula hospedeira, proteases, fosfolipases e proteínas formadoras de poros medeiam a lise ativa da célula hospedeira. A destruição da membrana plasmática e da membrana vacuolar da célula hospedeira, típica dos parasitos do filo Apicomplexa, tem sido mais estudada para os estágios intraeritrocíticos e gametócitos de *Plasmodium falciparum*. A saída dos merozoíto dos eritrócitos segue o modelo “de dentro para fora”, o que significa que a membrana do vacúolo parasitóforo se rompe antes da membrana do eritrócito (FLIEGER *et al.*, 2018). Em *Leishmania* spp. e *T. cruzi*, que estão inicialmente contidos em um compartimento vacuolar de origem fagossômica e lisossômica, respectivamente, seus mecanismos de escape vacuolar envolvem moléculas derivadas do parasito. *Leishmania amazonensis* expressa leishporina, uma proteína com atividade membrana-lítica, e os tripomastigotas da corrente sanguínea de *T. cruzi* expressam uma TS em sua superfície que pode mediar o escape vacuolar pela remoção do ácido siálico da membrana vacuolar

e, além disso, os tripomastigotas secretam uma toxina hemolítica, formadora de poros Tc-Tox no vacúolo, que é ativada pelo pH ácido do compartimento lisossomal (FLIEGER *et al.*, 2018).

O mecanismo de saída, dependente da indução da membrana sem lise da célula hospedeira, é o menos explorado e apenas algumas moléculas-chave dessa via de saída foram identificadas, através de extrusão e brotamento. A saída da célula hospedeira por brotamento foi demonstrada para os merozoíto intra-hepáticos de *Plasmodium* spp., que deixam o hepatócito, através de vesículas derivadas da membrana plasmática da célula hospedeira, denominadas merossomas, que contêm merozoíto em seu interior (FLIEGER *et al.*, 2018).

3 Comunicação Intercelular: Vesículas Extracelulares

As células podem se comunicar com células vizinhas ou distantes, através da liberação de vesículas extracelulares (VEs). As VEs são um grupo heterogêneo de estruturas envoltas por bicamada lipídica e que, por não possuírem um núcleo funcional, não tem capacidade de replicação (TKACH; THÉRY, 2016). Esse processo é bem conservado ao longo da evolução, de forma que organismos dos três domínios da vida, Bactérias, Arqueias e Eucariotos, produzem VEs (GILL *et al.*, 2019). Inicialmente, a secreção de VEs era vista apenas como uma forma de descartar componentes desnecessários para a célula, contudo, hoje, é de conhecimento que essas estruturas são muito importantes na modulação de diversos processos celulares como: homeostase, coagulação, inflamação e reparo tecidual. As VEs possuem capacidade de promover a troca de moléculas entre as células (ácidos nucleicos, lipídios, proteínas), além também de atuarem como veículos de sinalização em processos homeostáticos ou patológicos (BAZZAN *et al.*, 2021).

As VEs podem ser classificadas em dois grupos principais, baseado em tamanho e origem subcelular: exossomos e microvesículas. Os exossomos (50 – 150 nm) são formados, durante a maturação dos corpos multivesiculares (CMV) que são intermediários do sistema endossomal. Em essência, os exossomos são resultados do brotamento interno da membrana endossomal, formando as vesículas intraluminais (VIL) e, posterior fusão dos CMV com a membrana plasmática, para serem liberados no meio extracelular (VAN NIEL *et al.*, 2018). As microvesículas (50 – 1000 nm), muitas vezes designadas de micropartículas ou ectossomos, são originadas através do brotamento

externo e posterior fissão da membrana plasmática (TRICARICO; CLANCY; D'SOUZA-SCHOREY, 2017). A biogênese microvesicular acontece principalmente em virtude da redistribuição de fosfolípidios de membrana e da contração de proteínas do citoesqueleto. A distribuição assimétrica é regulada por translocases de aminofosfolípidios, proteínas que transferem fosfolípidios de um folheto da membrana plasmática para o outro. Assim, a formação do brotamento/vesícula da membrana é induzida pela translocação de fosfatidilserina para o folheto externo da membrana. O processo de brotamento é finalizado pela contração das estruturas do citoesqueleto, através da interação actino-miosina (AKERS *et al.*, 2013).

Os estudos da composição das VEs mostram que essas podem carregar diferentes moléculas, incluindo proteínas, lipídios e ácidos nucleicos. Esse conteúdo é altamente variável, dependendo do tipo celular e das condições investigadas. A composição específica de cada vesícula tem implicações diretas no seu destino e função, reforçando o papel importante de mecanismos de triagem seletiva de conteúdo vesicular (COLOMBO *et al.*, 2014). Estudos recentes demonstram que muitos protozoários parasitos são capazes de usar VEs para promover a comunicação intercelular e manipular as células hospedeiras. Por meio da transferência de diversas moléculas como fatores de virulência, genes de resistência e fatores de diferenciação, esses patógenos conseguem estabelecer nichos infecciosos, modular a resposta imune e causar doença (SZEMPRUCH *et al.*, 2016).

4 Evasão da resposta imune

Para iniciar a infecção, é necessário que os parasitos sejam capazes de evadir ou modular a resposta imune do hospedeiro. Ao longo de sua evolução, os parasitos desenvolveram diversos mecanismos para esse fim. O primeiro obstáculo encontrado são as barreiras do hospedeiro como a pele. As larvas de vermes como o platelminto *Schistosoma mansoni* e do nematoide *Ancylostoma duodenale*, conseguem romper a pele do hospedeiro, enquanto vários protozoários como *Plasmodium* spp. e *T. cruzi* atravessam essa barreira com a ajuda de vetores. Outros parasitos como *G. duodenalis* são ingeridos e precisam sobreviver ao ambiente estomacal, esses organismos são ingeridos em formas capazes de sobreviver ao suco gástrico e, posteriormente se desenvolvem na forma causadora da doença (HEMPHILL *et al.*, 2019). Após a entrada no hospedeiro, os parasitos normalmente se instalam em sítios imunologicamente privilegiados,

nesses sítios, os parasitos estão parcialmente protegidos da resposta imune do hospedeiro. Sítios no interior de células, como as hemácias, oferecem, para *Plasmodium* spp. proteção contra anticorpos e componentes do sistema complemento. Órgãos ocios, como o intestino, não só oferecem proteção contra esses componentes da resposta humoral como são ricos em nutrientes (BELACHEW, 2018).

Para evitar a detecção pelo sistema imune do hospedeiro, parasitos adquiriram diversos mecanismos, para diminuir a resposta imune aos seus antígenos. Vários parasitos se recobrem com antígenos do hospedeiro, um processo conhecido como disfarce antigênico (SEPULVEDA *et al.*, 2010). Também é comum que parasitos apresentem um ciclo de vida complexo com mais de um estágio, de modo que mais de uma forma do parasito pode existir no hospedeiro. Já foi observado que esses estágios compartilham poucos antígenos. Por isso a resposta imune contra uma forma não necessariamente será eficiente contra as demais. Alguns parasitos como *Trypanosoma* spp. são capazes de realizar o processo de variação antigênica que consiste na troca dos seus antígenos de superfície. No caso de *Trypanosoma* spp., genes para troca de glicoproteína de superfície variante são expressos, resultando em antígenos de superfície para os quais ainda não foi desenvolvida uma resposta imune adaptativa. Outra adaptação desses organismos, é o fenômeno conhecido como mimetismo molecular que consiste em antígenos do parasito apresentarem similaridades estruturais com moléculas do hospedeiro (ROJAS *et al.*, 2018). Essa similaridade possibilita a reação cruzada da resposta imune contra o próprio hospedeiro, resultando em uma menor resposta contra o parasito e, em alguns casos, no desenvolvimento de doenças autoimunes.

Os parasitos também apresentam várias adaptações para sobreviver aos ataques do hospedeiro. *Schistosoma mansoni* é capaz de degradar peptídeos antimicrobianos ligados à sua superfície, outros organismos como *T. cruzi* são capazes de movimentar antígenos, ligados a anticorpos até o bolso flagelar, nos quais ocorre a endocitose e eliminação dos anticorpos, um processo conhecido como capeamento de antígenos (ENGSTLER *et al.*, 2007). Os parasitos também precisam sobreviver à imunidade celular como o ataque por fagócitos. Vários protozoários são capazes de sobreviver à fagocitose, através de diversos mecanismos como a degradação de radicais livres ou impedimento da maturação do lisossomo (BATISTA *et al.*, 2020). Para a manutenção de uma

infecção crônica, parasitos desenvolveram diversos mecanismos, para suprimir a resposta imune do hospedeiro, evitando uma resposta inflamatória. Vários parasitos também são capazes de manipular a ativação de células B, gerando a produção de anticorpos não específicos. Outro mecanismo é a indução de células reguladoras como: células B regulatórias, T regulatórias e macrófagos M2 (TERRAZAS *et al.*, 2010). Através de um conjunto de diversos mecanismos, os parasitos são capazes de estabelecer e manter uma infecção crônica.

5 Metabolismo redox

A respiração celular envolve muitas reações nas quais elétrons são transferidos de um doador (agente redutor) para um aceptor (agente oxidante). Essas reações que envolvem transferência de elétrons são conhecidas como reações de oxidação-redução (ou reações redox). Os subprodutos de tais reações são os radicais de oxigênio que são altamente reativos e prontamente oxidam proteínas e lipídios e, portanto, são ROS. Os principais representantes de ROS são o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o ânion superóxido (O_2^-). Baixos níveis de ROS fazem parte da homeostase fisiológica e são prejudiciais apenas em concentrações mais altas (estresse oxidativo) (SIES; JONES, 2020). O desequilíbrio entre a produção e o acúmulo de espécies reativas nas células também pode levar ao estresse nitrosativo que é produzido pela reação de óxido nítrico, produzindo as espécies reativas de nitrogênio (RNS). Os representantes de RNS são o óxido nítrico (NO) e peroxinitrito (ONOO) (LEITSCH *et al.*, 2018).

As interações redox são responsáveis pela regulação de diversos processos biológicos, incluindo o metabolismo, a morte celular, a diferenciação e o desenvolvimento, as respostas imunes, o ritmo circadiano, entre outros (LE GAL *et al.*, 2021). A maioria dos organismos possui duas vias principais para regular a homeostase redox celular e a defesa antioxidante: a via da tiorredoxina (Trx) e a via da glutathiona (GSH). A via da Trx compreende: tiorredoxina (Trx), tiorredoxina redutase (TrxR), tiorredoxina peroxidase (TrxP) e nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH). A via da GSH consiste em NADPH, glutathiona redutase (GR), glutathiona peroxidase (GPx) e glutathiona (GSH). A GR transfere elétrons de NADPH para a glutathiona dissulfeto (GSSG), produzindo duas moléculas de GSH. A GSH, por sua vez, transfere elétrons para a glutaredoxina (Grx) que é capaz de reduzir diversos alvos. Enquanto isso, a

TrxR é uma selenoproteína dependente de NADPH, contendo o centro ativo redox tiol-dissulfeto (-SH). A TrxR é capaz de aceitar equivalentes redutores de NADPH e transferi-los para Trx que, por sua vez, pode reduzir vários substratos. Assim, as peroxirredoxinas e as glutathionas peroxidases aceitam elétrons das vias da Trx e da GSH, respectivamente, e reduzem H_2O_2 e outros peróxidos orgânicos (JAGARA; PARAKH; ATKIN, 2021).

Em espécies dos gêneros *Leishmania* e *Trypanosoma* (triptanosomatídeos), a desintoxicação de hidroperóxidos ou metabólitos tóxicos depende exclusivamente de uma cascata de reações, envolvendo ditióis de baixo peso molecular, como a tripanotiona ($T(SH)_2$) e o homólogo da tiorredoxina denominado triparedoxina. A tripanotiona atua como o principal ator do metabolismo redox, através das reações de troca de tiol-dissulfeto. Essa molécula é sintetizada, utilizando duas moléculas de GSH, ligadas covalentemente a uma molécula de espermidina. $T(SH)_2$ e GSH têm potenciais redox semelhantes, mas a molécula de $T(SH)_2$ tem maior potencial redutor do que GSH, porque $T(SH)_2$ pode sofrer uma ou duas oxidações de elétrons. Durante a oxidação de $T(SH)_2$, um radical dissulfeto de tripanotiona instável é formado, que se transforma em dissulfeto de tripanotiona estável (TS_2), mantendo assim o balanço redox celular, nos parasitos (KUMAR; SAHA; SINGH, 2017).

Em platelmintos, representados pelas espécies de *S. mansoni*, *Schistosoma japonicum*, *Fasciola hepatica*, *Echinococcus granulosus* e larvas de *Taenia crassiceps* foi relatado que não existem enzimas TrxR e GR separadas. Os parasitos fundiram, com sucesso, os sistemas tiorredoxina-glutathiona, utilizando uma única enzima multifuncional denominada tiorredoxina glutathiona redutase (TGR). Portanto, nesses organismos, a homeostase do tioldissulfeto é totalmente dependente da TGR. A TGR pode transferir elétrons para Trx (semelhante a TrxR) e para GSH (semelhante a GR). Logo, a redução de GSSG e Trx são dependentes da TGR que sugere que os sistemas redox desses parasitos são completamente mediados pela enzima TGR (EWEAS; ALLAM, 2018).

Em parasitos microaerofílicos o O_2 é dismutado em H_2O_2 e O_2 pela superóxido dismutase. As superóxido dismutases de parasitos microaerofílicos são do tipo ferro e de origem bacteriana. Uma notável exceção ocorre em *G. duodenalis* que apresenta superóxido redutase que emprega um mecanismo diferente ao reduzir O_2 , através de um centro de ferro coordenado por uma histidina e uma cisteína, usando um doador

de elétrons ainda desconhecido, mas também gerando H₂O₂ como produto final. Além de ROS, o próprio O₂ precisa ser mantido em níveis baixos nos parasitos microaerofílicos, e, para isso, é empregada uma variedade de vias de eliminação de oxigênio, como, por exemplo, codificar enzimas que podem reduzir o oxigênio, a água ou apresentar oxidoredutases que reduzem o oxigênio a H₂O₂, entre outros (LEITSCH *et al.*, 2018).

6 Mecanismos celulares em *Leishmania* spp.

Leishmania é um gênero de protozoários parasitos da família *Trypanosomatidae* responsáveis pelas leishmanioses. Há cerca de 20 espécies de *Leishmania* capazes de infectar seres humanos e 3 tipos de leishmaniose, cutânea, muco cutânea e visceral (AKHOUNDI *et al.*, 2016). A infecção inicia, quando mosquitos flebótomos infectados injetam parasitos promastigotas na corrente sanguínea do hospedeiro. Esses promastigotas são fagocitados por macrófagos e, em seu interior, se desenvolvem em amastigotas que posteriormente poderão ser captados durante o repasto sanguíneo de um novo mosquito. No local da infecção, ocorre a injeção de componentes da saliva do mosquito e de exossomos, derivados do parasito junto com as formas promastigotas. Os componentes da saliva do mosquito podem auxiliar na sobrevivência do parasito, por exemplo, endonucleases da saliva degradam armadilhas extracelulares de neutrófilos (CHAGAS *et al.*, 2014). Os exossomos contêm fatores de virulência, como GP63, resultando em uma maior infectividade dos promastigotas e reduzindo a capacidade antimicrobiana de fagócitos (DONG *et al.*, 2021).

O processo de fagocitose ocorre, através da interação de moléculas de superfície do parasito com o fagócito. Proteínas de superfície de *Leishmania* como lipofosfoglicano e GP63 inibem morte pelo sistema complemento e interagem com receptores na superfície de fagócitos (WALKER *et al.*, 2014). GP63 interage com a proteína C3 do complemento e a degrada, impedindo a ativação da cascata de complemento, mas ainda permite a interação com receptores de complemento na superfície do fagócito. No macrófago, o parasito sobrevive no interior do lisossomo, criando o vacúolo parasitóforo. No caso de *L. major*, o vacúolo parasitóforo é pequeno e contém apenas um amastigota, além de apresentarem um atraso na maturação do lisossomo, enquanto o vacúolo de *Leishmania amazonensis* é maior, contém vários parasitos e rapidamente se desenvolve em um lisossomo (BATISTA *et al.*, 2020). O

vacúolo parasitóforo é adaptado para captar nutrientes do hospedeiro, especialmente aqueles que não podem ser produzidos pelo parasito. *Leishmania* spp. precisa captar ferro do hospedeiro, para isso, não só apresenta transportadores para hemoglobina como também estimula a fagocitose de hemácias senescentes por macrófagos infectados (ANSARI *et al.*, 2022).

As formas promastigotas precisam sobreviver até serem fagocitadas por macrófagos, para continuarem seu desenvolvimento. Parasitos não fagocitados sofrem um processo de senescência e morte celular que pode ou não ser intencional (PROTO *et al.*, 2013). Os parasitos podem ser fagocitados por neutrófilos e não só sobrevivem em seu interior, como também, são capazes de induzir apoptose dessas células, para que elas sejam fagocitadas por macrófagos (MARTÍNEZ-LÓPEZ *et al.*, 2018). O parasito é capaz de manipular a célula hospedeira, através de diversos mecanismos, fatores de virulência de *Leishmania* são capazes de alterar o estado de compactação da cromatina de genes pró-inflamatórios, incluindo genes relacionados ao inflamassoma (KAMHAWI; SERAFIM, 2020). Ainda, GP63 é capaz de clivar diversas proteínas do hospedeiro, alterando várias vias de sinalização e, assim, reduzindo a atividade antimicrobiana dessas células (ISNARD *et al.*, 2012). Através desses mecanismos, *Leishmania* é capaz de sobreviver no hospedeiro e continuar seu ciclo de vida (figura 2).

Na figura 2, temos: A) GP63 e LPG interagem com componentes do sistema complemento, impedindo a lise de promastigotas. Essas moléculas também interagem com receptores de superfície de macrófagos para auxiliar na fagocitose de promastigotas. B) Formação do vacúolo parasitóforo e diferenciação de promastigotas em amastigotas. C) Modulação da célula hospedeira por fatores de virulência de *Leishmania*. Fatores secretados por *Leishmania* inibem a expressão de genes pró-inflamatórios. GP63 liberado em vesículas extracelulares entra na célula do hospedeiro e afeta a sinalização celular, gerando um fenótipo anti-inflamatório. D) Macrófagos infectados por *Leishmania* apresentam maior fagocitose de hemácias. A degradação de hemácias libera hemoglobina que é uma fonte de ferro e heme para *Leishmania*.

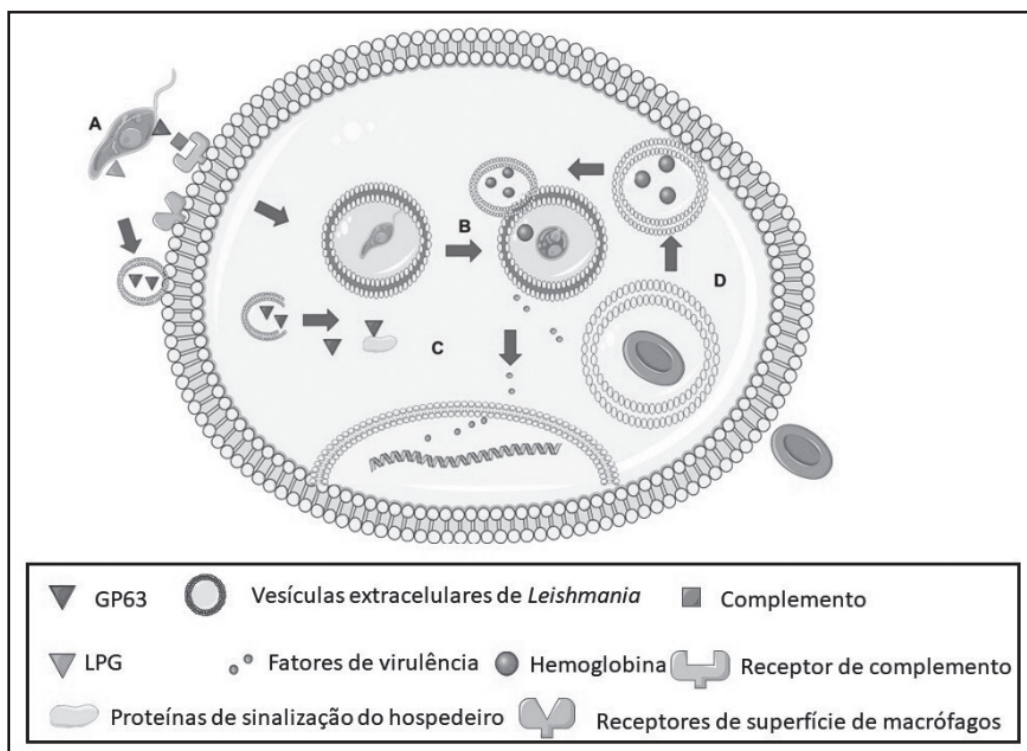
7 Mecanismos celulares em *Trypanosoma cruzi*

O parasito *Trypanosoma cruzi* é o agente causador da Doença de Chagas, uma infecção que apresenta um quadro clínico agudo e crônico, que acomete principalmente populações negligenciadas, sendo considerada uma das enfermidades de maior

impacto global (CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2022b). A infecção de um hospedeiro mamífero por *T. cruzi* começa com os tripomastigotas metacíclicos (TM), e a adesão às células hospedeiras é o primeiro passo para a invasão. O parasito possui, em sua superfície, diversas glicoproteínas com propriedades de adesão celular (gp90, gp82, gp30 e a gp35/50) que se ligam às células-alvo por receptores (RODRÍGUEZ-BEJARANO *et al.*, 2021). A invasão de TM é mediada principalmente pela gp82 que desencadeia cascatas de sinalização

da célula-alvo que resultam na mobilização de cálcio citosólico. Após o reconhecimento da gp82 por seu receptor, o cálcio é liberado dos estoques sensíveis à tapsigargina, independentemente do fosfatidilinositol 3 (IP3), ou mediante ativação da PLC, gerando diacilglicerol e IP3. A elevação da concentração citosólica de cálcio, induzida pela gp82, promove dois eventos associados que facilitam a invasão de TM: a ruptura do citoesqueleto de actina dependente de cálcio e a mobilização do lisossomo que culmina em excitose (FERRI; EDREIRA, 2021).

Figura 2 – Mecanismos celulares e moleculares durante a infecção por *Leishmania* spp.



Fonte: Os autores (2022).

A secreção de proteínas e carga de vesículas extracelulares também atua no processo de invasão da célula hospedeira pelo parasito. Os tripomastigotas (TM e tripomastigotas derivados de células (TCT)) e amastigotas extracelulares (AE) liberam um grande número de proteínas/glicoproteínas de superfície ancoradas em GPI, como membros da família gp85/TS, mucinas e MASPs (COSTA *et al.*, 2016; LANTOS *et al.*, 2016). Essas proteínas são liberadas gradualmente no meio, pela ação de um PI-PLC endógeno ou associadas a VEs envolvidos na invasão de células hospedeiras, imunomodulação e patogênese (BORGES *et al.*, 2016; MOREIRA *et al.*, 2019; TORRECILHAS *et al.*, 2020). Três mecanismos principais participam

na internalização de *T. cruzi*: o recrutamento mediado por cálcio e fusão de lisossomos para o local de entrada, a endocitose da membrana plasmática e a autofagia. No mecanismo de endocitose da membrana plasmática, várias vias endocíticas têm sido propostas como principal mecanismo de entrada para os TCT, por exemplo, a endocitose mediada por clatrina, a fagocitose e a macropinocitose (figura 3).

Na endocitose mediada por clatrina, dependendo do conteúdo da vesícula, das proteínas adaptadoras ou dos acessórios necessários para a montagem da vesícula, uma via de sinalização é produzida para ativar um determinado mecanismo celular (ANDERSSON, 2012).

A figura 3 apresenta os mecanismos na seguinte ordem: A) Adesão de tripomastigotas à célula hospedeira ocorre através de glicoproteínas (gp82, gp90 e gp35/50) que são expressas na superfície do parasito. A cruzipaina (cz) participa do processo de invasão e no desenvolvimento intracelular. A invasão de *T. cruzi* pode ocorrer pelos mecanismos de (B) exocitose de lisossomos que leva ao recrutamento de lisossomos para o local de entrada do parasito; ou por mecanismos endocíticos que podem ser (C) mediados por vesículas cobertas de clatrina ou por (D) macropinocitose. A invasão da célula hospedeira leva ao desenvolvimento do (E) vacúolo parasitóforo e consequentemente a replicação do parasito. Tripomastigotas iniciam sua diferenciação em amastigotas ainda dentro do vacúolo parasitóforo e, até mesmo, durante a sua fragmentação e (F) egresso dos parasitos. mTOR: Alvo mamífero da rapamicina; PI3K: Fosfatidilinositol 3 quinase; PKC: Proteína quinase C; PLC: Fosfolipase C.

8 Mecanismos celulares em *Plasmodium* spp.

Os protozoários do gênero *Plasmodium* spp. pertencem ao filo Apicomplexa e causam a malária, doença parasitária humana mais grave e difundida ao redor do mundo. Em 2020, foram estimados 241 milhões de casos de malária, com cerca de 627,000 mortes, a maioria ocorrendo na África Subsaariana em crianças menores de 5 anos. Atualmente, seis espécies de *Plasmodium* (*P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, *P. knowlesi*, *P. ovale* e *P. cynomolgi*) são capazes de produzir a malária humana, sendo *P. falciparum* responsável pela maior parte da carga de doenças e mortalidade (TA *et al.*, 2014; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2021). O complexo ciclo de vida dos parasitos da malária envolve o hospedeiro definitivo ou vetor (mosquito fêmea do gênero *Anopheles*) e um hospedeiro intermediário vertebrado. A infecção é iniciada, quando os mosquitos realizam repasto sanguíneo e inoculam os esporozoítos presentes nas glândulas salivares. Os esporozoítos rapidamente migram, através da corrente sanguínea até o fígado, invadindo ativamente os hepatócitos. Após alguns dias de expansão substancial, cada esporozoíto dará origem a milhares de merozoítos (Mrz) que são liberados na corrente sanguínea para invadir eritrócitos e iniciar o ciclo de vida sanguíneo assexuado (CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2022a; COWMAN *et al.*, 2017).

O processo de invasão dos eritrócitos envolve a interação de ligantes dos Mrz com proteínas da

membrana do eritrócito, através de etapas que incluem o contato inicial, reorientação apical, formação das junções de oclusão e invasão ativa (figura 4) (WEISS *et al.*, 2016). O contato inicial é uma etapa crucial no processo de invasão e envolve interações não-específicas, reversíveis e de baixa afinidade na qual os Mrz levam a uma ligeira deformação na membrana do eritrócito. Esse contato inicial é mediado principalmente pelas proteínas de superfície dos Mrz 1-10 (MSP-1 a MSP-10) (COWMAN *et al.*, 2012). Entre essas proteínas, a MSP-1 é mais abundante na superfície dos Mrz, sendo o ligante mais importante envolvido no contato inicial com a célula hospedeira (MOLINA-FRANKY *et al.*, 2022). Após isso, os Mrz passam pelo processo de reorientação apical, na qual seus polos apicais são postos em contato com a membrana do eritrócito, estabelecendo interações específicas e de alta afinidade, mediadas por adesinas liberadas, a partir das micronemas. Essas proteínas são as *Duffy binding-like* (DBL ou *erythrocyte-binding like* [EBL]) e as *reticulocyte-binding-like homolog* (Rh ou RBL) (COWMAN *et al.*, 2017).

A ligação irreversível dos Mrz aos eritrócitos ocorre, durante a formação das junções de oclusão, uma série complexa de eventos que decorre da alta afinidade, envolvendo as proteínas do pescoço das roptrias (RON-2, -4 e -5). Essas proteínas são liberadas das roptrias e translocadas para a membrana do eritrócito para interagir com o antígeno apical de membrana 1 (AMA-1), presente na superfície dos Mrz (ALEXANDER *et al.*, 2006; VULLIEZ-LE NORMAND *et al.*, 2012). O sucesso do processo de invasão requer moléculas de miosina, aderidas à membrana do eritrócito, para direcionar os filamentos curtos de actina e transmitir força motriz. Os filamentos de actina são acoplados a invasinas que pertencem à família de proteínas anônimas relacionadas à trombospondina (TRAP). As proteínas da família TRAP interagem com os receptores do hospedeiro e junto com o complexo AMA-1-ROns formam um anel estável que funciona como uma âncora que ativa o motor de actina-miosina, durante o movimento do parasito para o interior do eritrócito (BARTHOLDSON *et al.*, 2012).

Durante o seu desenvolvimento intracelular, o parasito reside dentro de um vacúolo parasitóforo (VP). Um número substancial de proteínas parasitárias é exportado para a célula infectada com finalidade de aquisição de nutrientes, modificação de propriedades da membrana e evasão da resposta imune (JONSDOTTIR *et al.*, 2021; MATZ *et al.*, 2020).

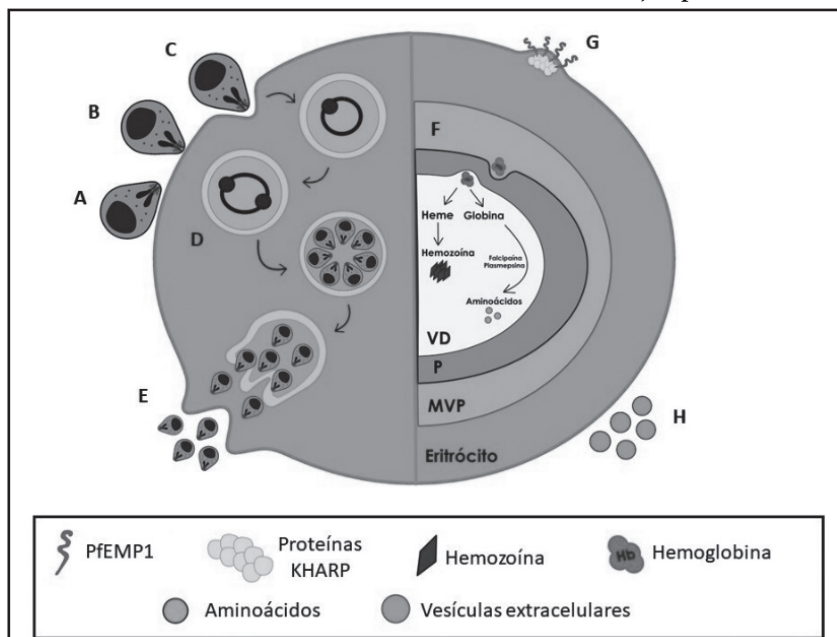
Os parasitos do gênero *Plasmodium* spp. não são capazes de realizar síntese proteica *de novo*. Muitos dos nutrientes essenciais (açúcares, íons, aminoácidos, hipoxantina, precursores de purina e solutos orgânicos), requeridos pelo parasito, podem ser captados pela atividade de transporte da membrana do eritrócito. Ainda, o parasito aumenta a permeabilidade do eritrócito e induz o surgimento de novas vias de permeabilidade derivadas do parasito (NPP), para transportar nutrientes do citosol da célula hospedeira e do meio extracelular (GILSON *et al.*, 2017). Porém, se a membrana do eritrócito se tornar muito permeável, as altas concentrações de hemoglobina causarão entrada osmótica de fluidos com inchaço e ruptura da célula. Dessa forma, o parasito degrada a hemoglobina, para evitar a ruptura precoce do eritrócito e a usa como sua principal fonte de aminoácidos. Diferentes proteases têm sido descritas em relação à digestão da hemoglobina, incluindo as proteases aspárticas (plasmepsina I, II, III, IV), proteases de cisteína (falcipaina-1, falcipaina-2, falcipaina-3) e aminopeptidases (ROY, 2017).

Diferentes grupos de antígenos de superfície variantes derivados de *P. falciparum* (VSA) foram descritos como envolvidos na adesão de eritrócitos infectados, incluindo as proteínas de membrana do eritrócito 1 (PfEMP1), quadro de leitura aberta variável subtelomérica (STEVAR) e a família intercalada repetitiva (RIFIN) (MOLINA-FRANKY *et al.*, 2022). A PfEMP1, em particular, é uma proteína chave na fisiopatologia

do *P. falciparum*, em virtude da sua variação antigênica, funções na aderência e propriedades de evasão da resposta imune. É uma proteína codificada pela família multigênica *var* que fornece ao parasito cerca de 60 adesinas sorologicamente diversas e com distintas características de ligação (SMITH *et al.*, 2013). Apesar de ser exposta ao sistema imunológico, devido à sua localização na superfície da célula hospedeira, o parasito pode trocar o gene *var* em expressão, permitindo que a variação antigênica clonal evite a montagem de uma resposta imune eficaz (HVIID; JENSEN, 2015).

O último estágio do desenvolvimento de *Plasmodium* spp. é a liberação de múltiplos Mrz das células hospedeiras. Uma vez que a maior parte da hemoglobina foi consumida, o esquizonte maduro é rompido e uma nova geração de Mrz entra em egresso, atravessando assim a membrana do vacúolo parasitóforo (MVP), o citoesqueleto e, por fim, a membrana do eritrócito (TAN; BLACKMAN, 2021). O egresso dos Mrz caracteriza-se por ser um evento sincrônico e com múltiplas etapas, produzidas por estresse osmótico e instabilidade elástica do eritrócito (ABKARIAN *et al.*, 2011). Antes da saída dos Mrz do eritrócito, ocorre um aumento de cálcio intracelular nos esquizontes, provavelmente regulado pela secreção de proteína 1 semelhante à perforina (PfPLP1) das micronemas dos Mrz (GARG *et al.*, 2013). Na atualidade, existe um interesse crescente na investigação de mecanismos efetivos para o bloqueio da saída do parasito dos eritrócitos infectados, a fim de interromper o ciclo de vida desses protozoários.

Figura 4 – Mecanismos celulares e moleculares durante a infecção por *Plasmodium* spp.



Fonte: Os autores (2022).

Na figura 4, temos: A) Contato inicial dos merozoítos com a membrana do eritrócito, mediado por proteínas de superfície específicas; B) Após, são estabelecidas interações específicas e de alta afinidade com a reorientação apical do parasito, por meio de adesinas liberadas, a partir das micronemas; C) A ativação do motor de actina-miosina garante o sucesso da invasão, impulsionando o parasito para o interior do eritrócito; D) Durante o seu desenvolvimento intracelular, o parasito reside dentro de um vacúolo parasitóforo; E) O egresso dos merozoítos é um evento sincrônico marcado por estresse osmótico e instabilidade elástica do eritrócito; F) Muitos dos nutrientes essenciais, requeridos pelo parasito, podem ser captados pela atividade de transporte da membrana do eritrócito. Ainda, o parasito degrada a hemoglobina e a usa como sua principal fonte de aminoácidos, também produzindo a hemozoína ou pigmento malárico; G) A PfEMP1 é uma proteína chave na fisiopatologia do *P. falciparum*, em virtude da sua variação antigênica, funções na citoaderência e propriedades de evasão da resposta imune; H) Vesículas extracelulares liberadas pelo eritrócito infectado estão envolvidas na comunicação celular, facilitando o desenvolvimento do ciclo de vida e transmissão do parasito, e ativação/supressão da resposta imune; VD: Vacúolo digestivo; P: Parasito; MVP: Membrana do vacúolo parasitóforo e PfEMP1: Proteína de membrana do eritrócito de *Plasmodium falciparum* 1.

9 Mecanismos celulares em *Trichomonas vaginalis*

Trichomonas vaginalis é um patógeno extracelular e microaerofílico que causa a tricomoníase, infecção sexualmente transmissível (IST) de alta prevalência (CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2017; MERCER; JOHNSON, 2018). Os mecanismos de patogenicidade do parasito incluem: ligação e degradação de componentes da mucosa e da matriz extracelular (MEC), aderência e citotoxicidade de células epiteliais vaginais (CEVs), cervicais e prostáticas; fagocitose de microrganismos vaginais (bactérias, vírus, leveduras, etc.) e células hospedeiras (CEVs, eritrócitos, espermatozoides, etc.); controle e destruição de células que compõem o sistema imunológico (por exemplo, neutrófilos e macrófagos) pela indução de apoptose; endocitose de proteínas do hospedeiro e degradação de proteínas do complemento, imunoglobulinas e outras proteínas, juntamente com mimetismo molecular de superfície e mascaramento com proteínas do hospedeiro (figura 5) (FIGUEROA-ANGULO *et al.*, 2012).

Por se tratar de um protozoário extracelular, para conseguir se estabelecer no sítio de infecção, sem ser eliminado por fatores como a menstruação e corrimento vaginal, é necessário que o parasito faça adesão às CEVs. Esse processo é chamado de citoaderência e envolve moléculas como as adesinas, glicoconjugados de proteínas de superfície, proteínas do citoesqueleto, os receptores para proteínas da MEC e processos de transdução de sinal e autofagia. O contato com as CEVs e o aumento de ferro no ambiente vaginal (derivado do fluxo menstrual) estimulam a produção das adesinas, induzindo a adesão do parasito (HERNANDÉZ *et al.*, 2014). Outras proteínas importantes no processo de citoaderência são: as cisteína peptidases (CPs), localizadas na superfície do parasito, como: TvCP30 e TvCP62, o lipofosfoglicano (TvLPG) e vários receptores de MEC. Outras proteínas encontradas na superfície do parasito são a TvGAPDH e TvENO-1 (FIGUEROA-ANGULO *et al.*, 2012; MERCER; JOHNSON, 2018).

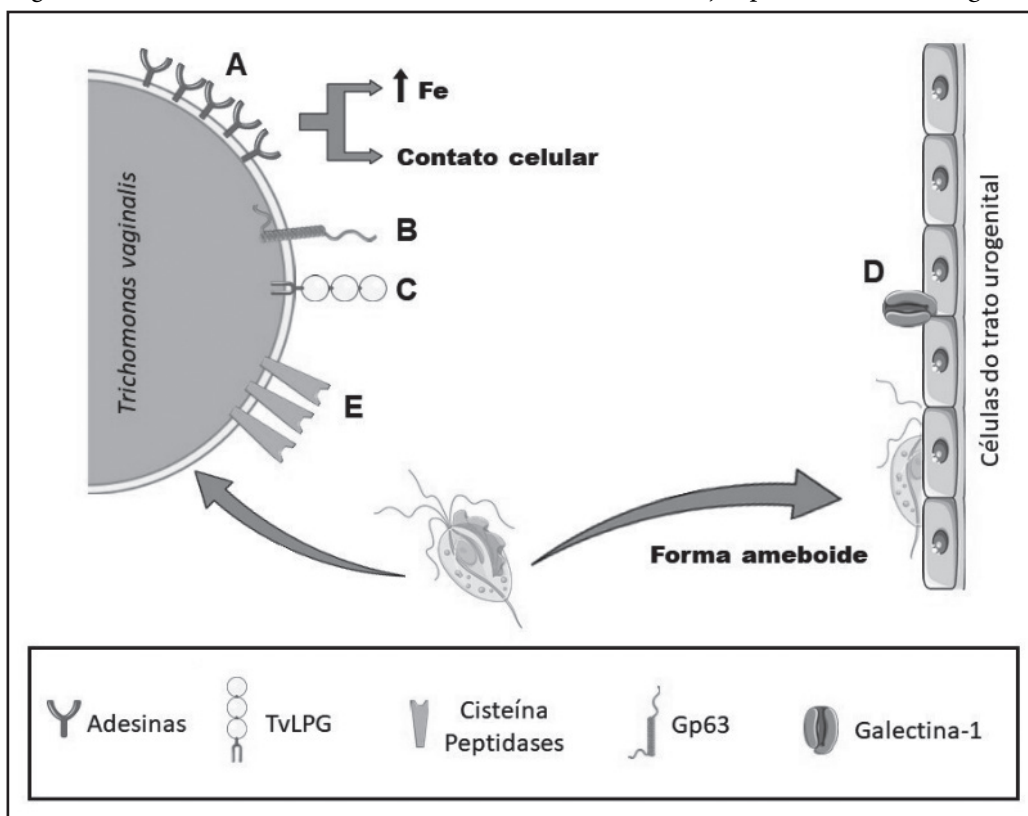
A citotoxicidade do parasito às células hospedeiras é um processo que pode ser dependente ou independente de contato. A citotoxicidade, dependente de contato, inicia-se com a citoaderência do parasito, seguida de efeito de citotoxicidade, que envolve uma cascata de eventos que resultam na citólise, fagocitose e desintegração das monocamadas celulares. A citotoxicidade, independente de contato, requer múltiplas moléculas envolvidas no dano celular, como efetores citolíticos (FIGUEROA-ANGULO *et al.*, 2012). O TVF é um fator secretado por *T. vaginalis*, coletado no sobrenadante da cultura livre de células que induz o arredondamento progressivo e a aglomeração de células-alvo sem lise celular. O CDF é o fator de desprendimento celular e é liberado no meio pelo *T. vaginalis* em contato com as células epiteliais. Outros fatores incluem porinas, fosfolipase A2 e várias CPs, localizados na superfície, exibindo expressão regulada negativamente na presença de ferro e tendo afinidade pela superfície das células HeLa (HERNANDÉZ *et al.*, 2014). Duas peptidases também demonstraram desempenhar um papel na morte da célula hospedeira, TvROM1 e metalopeptidase TvMP50 mostraram atividade lítica (MERCER; JOHNSON, 2018).

A figura 5 apresenta: A) A produção de adesinas é estimulada pelo contato do parasito com a célula do hospedeiro e com o aumento de ferro no ambiente; B) A GP63 em *T. vaginalis* provavelmente está envolvida na citotoxicidade à célula do hospedeiro. C/D) O lipofosfoglicano de *T. vaginalis* medeia a interação parasito-célula hospedeira, através da ligação

à galectina-1, permitindo que os trofozoítos mudem sua morfologia para a forma ameboide, melhorando a adesão e E) As cisteína peptidases (CPs), localizadas na superfície do parasito, também são proteínas

importantes no processo de citoaderência, além de estarem envolvidas na degradação de moléculas, hemólise e evasão da resposta imune do hospedeiro, entre outras funções.

Figura 5 – Mecanismos celulares e moleculares durante a infecção por *Trichomonas vaginalis*



Fonte: Os autores (2022).

10 Considerações importantes

Protozoários parasitos intracelulares e extracelulares desenvolveram várias estratégias para invasão do hospedeiro e o estabelecimento da infecção. A partir do sucesso em colonizar o hospedeiro, os patógenos utilizam verdadeiras maquinarias para criar condições favoráveis para multiplicação e consequente patogenia. Os mecanismos de patogenicidade são, cada vez mais, compreendidos em níveis molecular e celular, ficando evidente a fundamental participação de moléculas envolvidas nos processos de adesão, invasão e saída da célula hospedeira; evasão da resposta imune, metabolismo redox e comunicação celular, através de vesículas extracelulares. O entendimento desses mecanismos gera conhecimento em ciência básica que serve como alicerce na busca por alvos terapêuticos e novas opções para o tratamento e controle das parasitoses.

11 Referências

- ABKARIAN, M. *et al.* A novel mechanism for egress of malarial parasites from red blood cells. **Blood**, v. 117, n. 15, p. 4118-4124, 2011. DOI: 10.1182/blood-2010-08-299883.
- AKERS, J. C. *et al.* Biogenesis of extracellular vesicles (EV): exosomes, microvesicles, retrovirus-like vesicles, and apoptotic bodies. **Journal of Neuro-Oncology**, v. 113, n. 1, p. 1-11, 2013. DOI: 10.1007/s11060-013-1084-8.
- AKHOUNDI, M. *et al.* A Historical overview of the classification, evolution, and dispersion of *Leishmania* parasites and sandflies. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 10, n. 3, p. e0004349, 2016. DOI: 10.1371/journal.pntd.0004349.
- ALEXANDER, D. L. *et al.* *Plasmodium falciparum*

- AMA1 binds a rhoptry neck protein homologous to TgRON4, a component of the moving junction in *Toxoplasma gondii*. **Eukaryotic Cell**, v. 5, n. 7, p. 1169-1173, 2006. DOI: 10.1128/EC.00040-06.
- ANDERSSON, E. R. The role of endocytosis in activating and regulating signal transduction. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 69, p. 1755-1771, 2012. DOI: 10.1007/s00018-011-0877-1.
- ANSARI, I. *et al.* Hemoglobin endocytosis and intracellular trafficking: a novel way of heme acquisition by *Leishmania*. **Pathogens**, v. 11, n. 5, p. 585, 2022. DOI: 10.3390/pathogens11050585.
- BARTHOLDSON, S. J. *et al.* Semaphorin-7A is an erythrocyte receptor for *P. falciparum* merozoite-specific TRAP homolog, MTRAP. **PLoS Pathogens**, v. 8, n. 11, p. e1003031, 2012. DOI: 10.1371/journal.ppat.1003031.
- BATISTA, M. F. *et al.* The parasitic intracellular lifestyle of *Trypanosomatids*: parasitophorous vacuole development and survival. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, v. 8, p. 396, 2020. DOI: 10.3389/fcell.2020.00396.
- BAZZAN, E. *et al.* Critical review of the evolution of extracellular vesicles' knowledge: from 1946 to today. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 12, p. 6417, 2021. DOI: 10.3390/ijms22126417.
- BELACHEW, E. B. Immune response and evasion mechanisms of *Plasmodium falciparum* parasites. **Journal of Immunology Research**, v. 2018, p. 6529681, 2018. DOI: 10.1155/2018/6529681.
- BORGES, B. C. *et al.* Mechanisms of infectivity and evasion derived from microvesicles cargo produced by *Trypanosoma cruzi*. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 6, 2016. DOI: 10.3389/fcimb.2016.00161.
- CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Malaria**. 2022a. Disponível em: <https://www.cdc.gov/parasites/malaria/index.html>. Acesso em: 12 out. 2022.
- CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Parasites American Trypanosomiasis (also known as Chagas Disease)**. 2022b. Disponível em: <https://www.cdc.gov/parasites/chagas/>. Acesso em: 12 out. 2022.
- CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Parasitic infections**. 2022c. Disponível em: <https://www.cdc.gov/parasites/about.html#infections>. Acesso em: 12 out. 2022.
- CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Trichomoniasis**. 2017. Disponível em: <https://www.cdc.gov/dpdx/trichomoniasis/index.html>. Acesso em: 12 out. 2022.
- COLOMBO, M. *et al.* Biogenesis, secretion, and intercellular interactions of exosomes and other extracellular vesicles. **Annual Review of Cell and Developmental Biology**, v. 30, p. 255-289, 2014. DOI: 10.1146/annurev-cellbio-101512-122326.
- COSTA, R. W. *et al.* Interactions between *Trypanosoma cruzi* secreted proteins and host cell signaling pathways. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, 2016. DOI: 10.3389/fmicb.2016.00388.
- COWMAN, A. F. *et al.* The cellular and molecular basis for malaria parasite invasion of the human red blood cell. **Journal of Cell Biology**, v. 198, n. 6, p. 961-971, 2012. DOI: 10.1083/jcb.201206112.
- COWMAN, A. F. *et al.* The molecular basis of erythrocyte invasion by malaria parasites. **Cell Host & Microbe**, v. 22, n. 2, p. 232-245, 2017. DOI: 10.1016/j.chom.2017.07.003.
- CHAGAS, A. C. *et al.* Lundep, a sand fly salivary endonuclease increases *Leishmania* parasite survival in neutrophils and inhibits XIIa contact activation in human plasma. **PLoS Pathogens**, v. 10, n. 2, p. e1003923, 2014. DOI: 10.1371/journal.ppat.1003923.
- DONG, G. *et al.* Extracellular vesicles and *Leishmaniasis*: current knowledge and promising avenues for future development. **Molecular Immunology**, v. 135, p. 73-83, 2021. DOI: 10.1016/j.molimm.2021.04.003.
- EWEAS, A. F.; ALLAM, G. Targeting thioredoxin glutathione reductase as a potential antischistosomal drug target. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 225, p. 94-102, 2018. DOI: 10.1016/j.molbiopara.2018.09.004.
- ENGSTLER, M. *et al.* Hydrodynamic flow-mediated protein sorting on the cell surface of trypanosomes. **Cell**, v. 131, n. 3, p. 505-515, 2007. DOI: 10.1016/j.cell.2007.08.046.
- FERRI, G.; EDREIRA, M. M. All roads lead to Cytosol: *Trypanosoma cruzi* multi-strategic approach to invasion. **Frontiers in Cellular and**

- Infection Microbiology**, v. 11, 2021. DOI: 10.3389/fcimb.2021.634793.
- FIGUEROA-ANGULO, E. E. *et al.* The effects of environmental factors on the virulence of *Trichomonas vaginalis*. **Microbes and Infection**, v. 14, n. 15, p. 1411, 2012. DOI: 10.1016/j.micinf.2012.09.004.
- FLIEGER, A. *et al.* Pathways of host cell exit by intracellular pathogens. **Microbial Cell**, v. 5, n. 12, p. 525-544, 2018. DOI: 10.15698/mic2018.12.659.
- GARG, S. *et al.* Calcium-dependent permeabilization of erythrocytes by a perforin-like protein during egress of malaria parasites. **Nature Communications**, v. 4, n. 1, p. 1-12, 2013. DOI: 10.1038/ncomms2725.
- GILL, S. *et al.* Extracellular membrane vesicles in the three domains of life and beyond. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 43, n. 3, p. 273-303, 2019. DOI: 10.1093/femsre/fuy042.
- GILSON, P. R. *et al.* Host cell remodelling in malaria parasites: a new pool of potential drug targets. **International Journal for Parasitology**, v. 47, n. 2-3, p. 119-127, 2017. DOI: 10.1016/j.ijpara.2016.06.001.
- HEMPHILL, A. *et al.* Comparative Pathobiology of the intestinal protozoan parasites. **Pathogens**, v.8, n. 3, p. 116, 2019. DOI: 10.3390/pathogens8030116.
- HERNANDÉZ, H. M. *et al.* Biological roles of cysteine proteinases in the pathogenesis of *Trichomonas vaginalis*. **Parasite**, v. 21, p. 54, 2014. DOI: 10.1051/parasite/2014054.
- HVIID, L.; JENSEN, A. T. R. PfEMP1: a parasite protein family of key importance in *Plasmodium falciparum* malaria immunity and pathogenesis. **Advances in Parasitology**, v. 88, p. 51-84, 2015. DOI: 10.1016/bs.apar.2015.02.004.
- ISNARD, A. *et al.* Impact of *Leishmania* metalloprotease GP63 on macrophage signaling. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 2, p. 72, 2012. DOI: 10.3389/fcimb.2012.00072.
- JAGARAJ, C. J.; PARAKH, S.; ATKIN, J. D. Emerging evidence highlighting the importance of redox dysregulation in the pathogenesis of Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS). **Frontiers in Cellular Neuroscience**, v. 14, 2021. DOI: 10.3389/fncel.2020.581950.
- JONSDOTTIR, T. K. *et al.* Defining the essential exportome of the malaria parasite. **Trends in Parasitology**, v. 37, n. 7, p. 664-675, 2021. DOI: 10.1016/j.pt.2021.04.009.
- KAMHAWI, S.; SERAFIM, T. D. *Leishmania*: a maestro in epigenetic manipulation of macrophage inflammasomes. **Trends in Parasitology**, v. 36, n. 6, p. 498-501, 2020. DOI: 10.1016/j.pt.2020.04.008.
- KUMAR, A.; SAHA, B.; SINGH, S. Dataset generated for Dissection of mechanisms of Trypanothione Reductase and Tryparedoxin Peroxidase through dynamic network analysis and simulations in *Leishmaniasis*. **Data in Brief**, v. 15, p. 757-769, 2017. DOI: 10.1016/j.dib.2017.10.031.
- LANTOS, A. B. *et al.* Sialic acid glycobiology unveils *Trypanosoma cruzi* trypomastigote membrane physiology. **PLoS Pathogens**, v. 12, n. 4, p. 1-29, 2016. DOI: 10.1371/journal.ppat.1005559.
- LE GAL, K. *et al.* Cellular redox homeostasis. **Antioxidants**, v. 10, n. 9, p. 1377, 2021. DOI: 10.3390/antiox10091377.
- LEITSCH, D. *et al.* Redox pathways as drug targets in microaerophilic parasites. **Trends in Parasitology**, v. 34, n. 7, p. 576-589, 2018. DOI: 10.1016/j.pt.2018.04.007.
- MALDONADO, E. *et al.* Dual and opposite roles of reactive oxygen species (ROS) in Chagas Disease: beneficial on the pathogen and harmful on the host. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, p. 1-17, 2020. DOI: 10.1155/2020/8867701.
- MARTÍN-ESCOLANO, J. *et al.* An updated view of the *Trypanosoma cruzi* life cycle: intervention points for an effective treatment. **ACS Infectious Diseases**, v. 8, n. 6, p. 1107-1115, 2022. DOI: 10.1021/acsinfecdis.2c00123.
- MARTÍNEZ-OCAÑA, J. *et al.* Interaction between human mucins and parasite glycoproteins: the role of lectins and glycosidases in colonization by intestinal protozoa. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 62, 2020. DOI: 10.1590/S1678-9946202062064.
- MARTÍNEZ-LÓPEZ, M. *et al.* *Leishmania* hijacks myeloid cells for immune escape. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, p. 883, 2018. DOI: 10.3389/fmicb.2018.00883.
- MATZ, J. M. *et al.* The parasitophorous vacuole of the blood-stage malaria parasite. **Nature Reviews**

- Microbiology**, v. 18, n. 7, p. 379-391, 2020. DOI: 10.1038/s41579-019-0321-3.
- MERCER, F.; JOHNSON, P. J. *Trichomonas vaginalis*: Pathogenesis, symbiont interactions, and host cell immune responses. **Trends in Parasitology**, v. 34, n. 8, p. 683-693, 2018. DOI: 10.1016/j.pt.2018.05.006.
- MOLINA-FRANKY, J. *et al.* The cellular and molecular interaction between erythrocytes and *Plasmodium falciparum* merozoites. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 12, 2022. DOI: 10.3389/fcimb.2022.816574.
- MOREIRA, L. R. *et al.* Extracellular vesicles of *Trypanosoma cruzi* tissue-culture cell-derived trypomastigotes: induction of physiological changes in non-parasitized culture cells. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 13, n. 2, p. 1-26, 2019. DOI: 10.1371/journal.pntd.0007163.
- PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION. **Chagas disease**. 2022. Disponível em: <https://www.paho.org/en/topics/chagas-disease>. Acesso em: 13 out. 2022.
- PROTO, W. R. *et al.* Cell death in parasitic protozoa: regulated or incidental? **Nature Reviews Microbiology**, v. 11, n. 1, p. 58-66, 2013. DOI: 10.1038/nrmicro2929.
- RODRÍGUEZ-BEJARANO, O. H. *et al.* Mechanisms associated with *Trypanosoma cruzi* host target cell adhesion, recognition and internalization. **Life**, v. 11, n. 6, p. 534, 2021. DOI: 10.3390/life11060534.
- ROJAS, M. *et al.* Molecular mimicry and autoimmunity. **Journal of Autoimmunity**, v. 95, p. 100-123, 2018. DOI: 10.1016/j.jaut.2018.10.012.
- ROY, K. K. Targeting the active sites of malarial proteases for antimalarial drug discovery: approaches, progress and challenges. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 50, n. 3, p. 287-302, 2017. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2017.04.006.
- ROWLEY, J. *et al.* Chlamydia, gonorrhoea, trichomoniasis and syphilis: global prevalence and incidence estimates, 2016. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 97, n. 8, p. 548, 2019. DOI: 10.2471/BLT.18.228486.
- SASIDHARAN, S.; SAUDAGAR, P. *Leishmaniasis*: where are we and where are we heading? **Parasitology Research**, v. 120, n. 5, p. 1541-1554, 2021. DOI: 10.1007/s00436-021-07139-2.
- SEPULVEDA, J. *et al.* *Schistosoma mansoni* host-exposed surface antigens characterized by sera and recombinant antibodies from schistosomiasis-resistant rats. **International Journal for Parasitology**, v. 40, n. 12, p. 1407-1417, 2010. DOI: 10.1016/j.ijpara.2010.04.019.
- SHI, W. *et al.* The roles of galectins in parasitic infections. **Acta Tropica**, v. 177, p. 97-104, 2018. DOI: 10.1016/j.actatropica.2017.09.027.
- SIES, H.; JONES, D. P. Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signalling agents. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 21, n. 7, p. 363-383, 2020. DOI: 10.1038/s41580-020-0230-3.
- SMITH, J. D. *et al.* Malaria's deadly grip: cytoadhesion of *Plasmodium falciparum*-infected erythrocytes. **Cellular Microbiology**, v. 15, n. 12, p. 1976-1983, 2013. DOI: 10.1111/cmi.12183.
- SPARVOLI, D.; LEBRUN, M. Unraveling the elusive rhoptry exocytic mechanism of Apicomplexa. **Trends in Parasitology**, v. 37, n. 7, p. 622-637, 2021. DOI: 10.1016/j.pt.2021.04.011.
- SZEMPRUCH, A. J. *et al.* Sending a message: extracellular vesicles of pathogenic protozoan parasites. **Nature Reviews Microbiology**, v. 14, n. 11, p. 669-675, 2016. DOI: 10.1038/nrmicro.2016.110.
- TA, T. H. *et al.* First case of a naturally acquired human infection with *Plasmodium cynomolgi*. **Malaria Journal**, v. 13, n. 1, p. 1-7, 2014. DOI: 10.1186/1475-2875-13-68.
- TAN, M. S. Y.; BLACKMAN, M. J. Malaria parasite egress at a glance. **Journal of Cell Science**, v. 134, n. 5, p. jcs257345, 2021. DOI: 10.1242/jcs.257345.
- TERRAZAS, C. A. *et al.* Modulation of dendritic cell responses by parasites: a common strategy to survive. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, v. 2010, p. 357106, 2010. DOI: 10.1155/2010/357106.
- TKACH, M.; THÉRY, C. Communication by extracellular vesicles: where we are and where we need to go. **Cell**, v. 164, n. 6, p. 1226-1232, 2016. DOI: 10.1016/j.cell.2016.01.043.
- TORRECILHAS, A. C. T. *et al.* Extracellular vesicles in *Trypanosomatids*: host cell communication. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 10, p. 602502, 2020. DOI: 10.3389/fcimb.2020.602502.

TRICARICO, C.; CLANCY, J.; D'SOUZA-SCHOREY, C. Biology and biogenesis of shed microvesicles. **Small GTPases**, v. 8, n. 4, p. 220-232, 2017. DOI: 10.1080/21541248.2016.1215283.

VAN NIEL, G. *et al.* Shedding light on the cell biology of extracellular vesicles. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 19, n. 4, p. 213-228, 2018. DOI: 10.1038/nrm.2017.125.

VULLIEZ-LE NORMAND, B. *et al.* Structural and functional insights into the malaria parasite moving junction complex. **PLoS Pathogens**, v. 8, n. 6, p. e1002755, 2012. DOI: 10.1371/journal.ppat.1002755.

WALKER, D. M. *et al.* Mechanisms of cellular invasion by intracellular parasites. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 71, n. 7, p. 1245-1263, 2014. DOI: 10.1007/s00018-013-1491-1.

WEB OF SCIENCE. 2023. Disponível em: webofscience.com/. Acesso em: 29 mar. 2023.

WEISS, G. E. *et al.* Overlaying molecular and temporal aspects of malaria parasite invasion. **Trends in Parasitology**, v. 32, n. 4, p. 284-295, 2016. DOI: 10.1016/j.pt.2015.12.007.

WORKOWSKI, K. A. *et al.* Sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2021. **Recommendations and Reports**, v. 70, n. 4, p. 1-187, 2021. DOI: 10.15585/mmwr.rr7004a1.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Leishmaniasis**. 2022. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/Leishmaniasis>. Acesso em: 12 out. 2022.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **World Malaria Report 2021**. 2021. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240040496>. Acesso em: 10 jul. 2022.

ZAMBONI, D. S. *et al.* Inflammasomes in host response to protozoan parasites. **Immunological Reviews**, v. 265, n. 1, p. 156-171, 2015. DOI: 10.1111/imr.12291.