

BIOTRANS

Programa de Pós-Graduação em Biomedicina Translacional

Mestrado e Doutorado



Daniel Rodrigues Souza

**Efeitos do *Toxoplasma gondii* sobre junções oclusivas e aderentes: uma
revisão integrativa da literatura.**

Duque de Caxias
2024

Daniel Rodrigues Souza

Efeitos do *Toxoplasma gondii* sobre junções oclusivas e aderentes: uma revisão integrativa da literatura.

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biomedicina translacional – UNIGRANRIO, em parceria com a Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ-ZO) e INMETRO, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Biomedicina Translacional.

Orientador: Prof. Dr. Fabio da S. de A. Fortes

Duque de Caxias
2024

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UNIGRANRIO – NÚCLEO DE COORDENAÇÃO DE BIBLIOTECAS

C355u Souza, Daniel Rodrigues.

Efeitos do *Toxoplasma gondii* sobre junções oclusivas e aderentes: uma revisão integrativa da literatura / Daniel Rodrigues Souza. – Duque de Caxias, Rio de Janeiro, 2024.

100 f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Fabio da Silva de Azevedo Fortes.

Dissertação (mestrado) – Universidade do Grande Rio “Prof. José de Souza Herdy”, Escola de Ciência da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Biomedicina Translacional, Rio de Janeiro, 2024.

1. *Toxoplasma gondii*. 2. Junções Celulares. 3. Junções Oclusivas. 4. Junções Aderentes. 5. Linhagem Celular. I. Fortes, Fabio da Silva de Azevedo. II. Título. III. Universidade do Grande Rio “Prof. José de Souza Herdy”.

CDD: 610

Rodrigo de Oliveira Brainer CRB-7: 6814

BIOTRANS

Programa de Pós-Graduação em Biomedicina Translacional

Mestrado e Doutorado



Afya



ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

Às 13 horas, do dia 17 de dezembro de 2024, o Programa de Pós-Graduação em Biomedicina Translacional, realizou sessão de Defesa da Dissertação versando sobre o projeto intitulado "EFEITOS DO TOXOPLASMA GONDII SOBRE JUNÇÕES OCLUSIVAS E ADERENTES: UMA REVISÃO INTEGRATIVA DA LITERATURA", de autoria de Daniel Rodrigues Souza, aluno do Mestrado Acadêmico, sob orientação do Professor Fabio da Silva de Azevedo Fortes. A sessão foi aberta pelo Prof. Sergio Henrique Seabra, presidente da Comissão, que nos termos regimentais convocou os demais Membros da Comissão Examinadora: Prof. Pedro Souto Rodrigues e Profa. Gabriella Oliveira Alves Moreira de Carvalho. Em seguida, passou à palavra ao candidato para apresentação de seu trabalho. Após a apresentação, o candidato foi arguido pelos examinadores e suas respostas foram consideradas Satisfatórias.

O presidente declarou o mestrando Daniel Rodrigues Souza Aprovado, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Biomédicas, de acordo como o Regulamento do Programa de Pós-Graduação em Biomedicina Translacional do convênio tripartite entre UNIGRANRIO, INMETRO e UERJ. Nada mais havendo a tratar, o Presidente encerrou a sessão, em que foi lavrada a presente ata, que será assinada pelos Membros da Comissão Examinadora.



Documento assinado digitalmente

SERGIO HENRIQUE SEABRA

Data: 06/03/2025 11:25:44-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Duque de Caxias, 17 de dezembro de 2024.

Prof. Dr. Sergio Henrique Seabra
Universidade Estadual do Norte Fluminense - UENF
Presidente da banca



Documento assinado digitalmente

PEDRO SOUTO RODRIGUES

Data: 06/03/2025 11:31:32-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Pedro Souto Rodrigues
Universidade Estadual do Norte Fluminense - UENF



Documento assinado digitalmente

GABRIELLA OLIVEIRA ALVES MOREIRA DE CARVALHO

Data: 06/03/2025 12:02:43-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Gabriella Oliveira Alves Moreira de Carvalho
Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ



Documento assinado digitalmente

SERGIAN VIANNA CARDOZO

Data: 06/03/2025 12:31:33-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Sergian Vianna Cardozo
Coordenador Geral
Programa de Pós-Graduação em Medicina Translacional - BIOTRANS

BIOTRANS

Programa de Pós-Graduação em Biomedicina Translacional

Mestrado e Doutorado



(i) Aprovado com Ressalvas e Modificações

Comentários:

Presidente:

Efeitos do *Toxoplasma gondii* sobre junções oclusivas e aderentes: uma revisão integrativa da literatura.

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biomedicina translacional – UNIGRANRIO, em parceria com a Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ-ZO) e INMETRO, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Biomedicina Translacional.

Rio de Janeiro, 07 de dezembro de 2024.

Prof. Dr. Fabio da S. de A. Fortes
Orientador – UERJ

Dra. Gabriella Oliveira Alves Moreira de Carvalho
Membro externo – UFRJ

Dr. Pedro Souto Rodrigues
Membro externo - UENF

Dr. Sergio Henrique Seabra
Membro interno - UENF

Dr. Leonardo da Cunha Boldrini Pereira
Suplente interno - InMetro

Duque de Caxias
2024

RESUMO

A toxoplasmose é uma infecção de alta prevalência, afetando aproximadamente 30% da população mundial. No Brasil, estima-se que uma a cada 1000 crianças nasça infectada, e entre 50% e 80% das mulheres em idade fértil possuem anticorpos contra *T. gondii*, indicando uma ampla exposição ao parasita. A infecção por *T. gondii* resulta em modificações nas junções oclusivas e aderentes, afetando proteínas essenciais como claudinas, proteínas da família ZO, ocludina, caderinas e cateninas, fundamentais para a manutenção da integridade celular e estrutura dos tecidos do indivíduo. O objetivo do presente trabalho é investigar, analisar e sintetizar as evidências científicas disponíveis sobre os efeitos do *T. gondii* sobre as junções oclusivas e aderentes, em especial as principais proteínas que as compõem, a fim de contribuir para o entendimento da patologia, no que tange aos seus efeitos em junções do complexo de adesão e identificar padrões e discordâncias na literatura. Para que se cumpram os objetivos da presente dissertação, foi utilizado o modelo de revisão integrativa da literatura, tendo como metodologia a realização de seis etapas principais: formulação do objetivo e questões de revisão, pesquisa e seleção sistemática da literatura em bibliotecas de bases de dados, análise e síntese dos dados, discussão dos achados. Os resultados indicaram que a infecção pelo *Toxoplasma gondii* causa desorganização significativa nas junções oclusivas e aderentes, afetando proteínas críticas como claudina-1, ZO-1, e ocludina, em vários tipos celulares, como células Caco-2, ARPE-19 e HUVEC. Ainda existem lacunas sobre os efeitos do *T. gondii* nas junções celulares. Poucos estudos abordam simultaneamente junções oclusivas e aderentes, apesar de sua relação íntima. Mais pesquisas são necessárias para integrar os padrões dessas junções em diferentes modelos e investigar sua relação no processo infeccioso do *Toxoplasma gondii*.

Palavras-chave: *Toxoplasma gondii*; Junções celulares; Junções oclusivas; Junções aderentes; Linhagem celular.

ABSTRACT

Toxoplasmosis is a highly prevalent infection, affecting approximately 30% of the world's population. In Brazil, it is estimated that one in every 1,000 children is born infected, and between 50% and 80% of women of childbearing age have antibodies against *T. gondii*, indicating widespread exposure to the parasite. Infection with *T. gondii* results in changes in the tight and adherens junctions, affecting essential proteins such as claudins, proteins of the ZO family, occludin, cadherins and catenins, which are fundamental for maintaining cellular integrity and the structure of the individual's tissues. The aim of this study is to investigate, analyze and synthesize the available scientific evidence on the effects of *T. gondii* on occlusive and adherens junctions, especially the main proteins that make them up, in order to contribute to the understanding of the pathology, with regard to its effects on adhesion complex junctions and to identify patterns and disagreements in the literature. In order to fulfill the objectives of this dissertation, the integrative literature review model was used, with six main stages as the methodology: formulation of the objective and review questions, systematic search and selection of the literature in databases, discussion of the findings. The results indicated that *Toxoplasma gondii* infection causes significant disorganization in occludin and adherens junctions, affecting critical proteins such as claudin-1, ZO-1, and occludin, in several cell types, such as Caco-2, ARPE-19, HUVEC and SkMC cells. There are still gaps in the effects of *T. gondii* on cell junctions. Few studies address occlusive and adherens junctions simultaneously, despite their close relationship. More research is needed to integrate the patterns of these junctions into different models and investigate their relationship in the *Toxoplasma gondii* infection process.

Keywords: *Toxoplasma gondii*; Cell junctions; Tight junctions; Adherens Junctions; Cell line.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: representação geral das junções celulares.....	15
Figura 2: estrutura de junção oclusiva em células epiteliais de intestino delgado	16
Figura 3: estrutura organizacional de uma junção oclusiva.....	17
Figura 4: estrutura da claudina.....	19
Figura 5: representação esquemática da estrutura da ocludina.....	20
Figura 6: representação esquemática de uma junção aderente.	23
Figura 7: representação gráfica da cadeia de transmissão da toxoplasmose.	26
Figura 8: microscopia eletrônica de transmissão de um oocisto esporulado.	30
Figura 9: Morfologia geral da forma taquizoíta de <i>Toxoplasma gondii</i>	32
Figura 10: etapas da endodigenia.	35
Figura 11: microscopia eletrônica de varredura de uma roseta de taquizoítos.	36
Figura 12: Microscopia eletrônica de transmissão de um bradizoíto de <i>T. gondii</i>	37
Figura 13: cisto tecidual de <i>Toxoplasma gondii</i>	39
Figura 14: ciclo sexual do <i>Toxoplasma gondii</i>	42
Figura 15: o ciclo de vida do <i>Toxoplasma gondii</i>	43
Figura 16: As seis etapas do processo de revisão integrativa.....	49
Figura 17: Fluxograma do processo de seleção dos artigos do presente estudo, dividido pelo enfoque principal.	58

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Número de artigos com foco em junções ocludentes encontrados no período de 1968 a 2023, após a inclusão das sentenças de busca nas bibliotecas de bases de dados do PubMed, BVS e ScienceDirect.....	54
Gráfico 2: Número de artigos com foco em junções aderentes encontrados no período de 1993 a 2023, após a inclusão das sentenças de busca nas bibliotecas de bases de dados do PubMed, BVS e ScienceDirect.....	55
Gráfico 3: Modelos utilizados no estudo de proteínas de junções oclusivas mediante infecção por <i>T. gondii</i>	64
Gráfico 4: cepas de <i>Toxoplasma gondii</i> utilizadas no estudo de junções oclusivas	65
Gráfico 5: Metodologias empregadas no estudo do efeito do <i>Toxoplasma gondii</i> em proteínas de junções oclusivas.....	66
Gráfico 6: análise de origem das células estudadas nos artigos que analisam o efeito do <i>Toxoplasma gondii</i> nas junções oclusivas	68
Gráfico 7: Modelos utilizados no estudo de proteínas de junções aderentes mediante infecção por <i>T. gondii</i>	73
Gráfico 8: cepas de <i>Toxoplasma gondii</i> utilizadas no estudo de junções aderentes.	74
Gráfico 9: Metodologias empregadas no estudo do efeito do <i>Toxoplasma gondii</i> em proteínas de junções aderentes.....	75
Gráfico 10: análise de origem das células estudadas nos artigos que analisam o efeito do <i>Toxoplasma gondii</i> nas junções aderentes.....	76

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: definição do acrônimo PICO.....	50
Quadro 2: estratégia PICO aplicada a pergunta "Como se comportam as junções oclusivas e aderentes em diversas linhagens celulares mediante infecção por <i>Toxoplasma gondii</i> ?"	51
Quadro 4: Estudos <i>in vitro</i> evidenciando os efeitos da infecção por <i>Toxoplasma gondii</i> em junções ocludentes	59
Quadro 5: Estudos <i>in vitro</i> evidenciando os efeitos da infecção por <i>Toxoplasma gondii</i> em junções aderentes	69

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: taxa de transmissão transplacentária a partir da idade gestacional em que ocorreu a infecção.....	45
---	----

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

Aa – Aminoácido(s)

AJ - Adherens Junction (Junção Aderente)

ARPE-19 - Retinal Pigment Epithelial cells (Células Epiteliais de Pigmento da Retina)

ATP - Trifosfato de Adenosina

bEnd.3 - Endothelial cells derived from mouse brain (Células Endoteliais Derivadas do Cérebro de Camundongo)

BVS - Biblioteca Virtual em Saúde

Caco-2 – Célula epitelial isolada de tecido de cólon intestinal

CF – Células-filhas

CO₂ – Dióxido de Carbono

C-Terminal – Carboxi-terminal

DMEM – Dulbecco Modified Eagle Medium

EC – Extracellular domain (domínio extracelular)

EC-RBC – Endothelial Cell Red Blood Cell (Eritrócito não parasitado)

EC-PRBC – Parasitized red blood cell (Eritrócito parasitado)

ESP - Produtos Excretados e Secretados

FAK – Focal adhesion kinase (quinase de adesão focal)

g – Grama(s)

h – Hora(s)

HBEC – Human Brain Endothelial Cell (célula endotelial de cérebro humano)

HDMEC – Human-derived microvascular endotelial cell (célula endotelial microvascular humanas)

HMC3 - Human Microglial Cells (Células Microgliais Humanas)

HUVEC - Human Umbilical Vein Endothelial Cells (Células Endoteliais da Veia Umbilical Humana)

JAM - Junctional Adhesion Molecule (Molécula de Adesão Juncional)

kDa - Quilodalton

MDCK - Madin-Darby Canine Kidney (Rim de Cão Madin-Darby)

MEV – Microscopia eletrônica de varredura

MET – Microscopia eletrônica de transmissão

MJ – Moving Junction (junção móvel)

ml – Mililitros

mRNA – RNA mensageiro

N-Terminal – Amino-terminal

NADH - Difosfopiridina nucleotídeo

ODM – Organoid-derived monolayer(s) (monocamada derivada de organoide)

P. falciparum – *Plasmodium falciparum*

PICO - População, Intervenção, Controle, Resultado

RG – Glia Radial

RG-CM – Radial Glia Conditioned Medium (meio condicionado de glia radial)

RPE – Retinal pigment epithelium (epitélio pigmentado retiniano)

Inf-RG-CM – Infected Radial Glia Conditioned Medium (meio condicionado de glia radial infectado)

RT-qPCR - Reação em Cadeia da Polimerase com Transcrição Reversa em Tempo Real

SFB – Soro Fetal Bovino

SkMC - Skeletal Muscle Cells (Células Musculares Esqueléticas)

T. gondii – *Toxoplasma gondii*

THP-1 - Monocytic cell line derived from human acute monocytic leukemia (Linha Celular Monocítica Derivada de Leucemia Monocítica Aguda Humana)

TJ - Tight Junction (Junção Oclusiva)

U-118 MG - Human glioblastoma cell line (Linha Celular de Glioblastoma Humano)

VP – Vacúolo parasitóforo

ZO - Zonula Occludens (Zônula de Oclusão)

µm - Micrômetro

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
1.1 Junções celulares	13
1.1.1 Junções oclusivas.....	15
1.1.2 Junções aderentes	22
1.2 Toxoplasmose e <i>Toxoplasma gondii</i>	25
1.2.1 Aspectos celulares.....	27
1.2.2 Ciclo de vida do <i>Toxoplasma gondii</i>	39
1.2.3 Manifestações clínicas da toxoplasmose.....	44
1.3 Toxoplasmose x Junções celulares.....	46
2 OBJETIVOS	48
2.1 Objetivos gerais	48
2.2 Objetivos específicos	48
3 METODOLOGIA.....	49
3.1 Descrição das etapas da revisão integrativa segundo Toronto, et al. (2020).....	50
3.1.1 Formulação do objetivo e/ou questões de revisão.....	50
3.1.2 Pesquisa e seleção sistemática da literatura	51
3.1.3 Análise e síntese	52
3.1.4 Discussão e conclusão	53
4 RESULTADOS.....	53
5 DISCUSSÃO	77
6 CONCLUSÃO.....	86
7 REFERÊNCIAS.....	88

1 INTRODUÇÃO

1.1 Junções celulares

As junções celulares são estruturas de membrana que desempenham um papel crucial na manutenção da arquitetura, comunicação e integridade dos tecidos. Essas junções são regiões especializadas de contato célula-célula onde as moléculas de adesão e formação de junções comunicantes estão localizadas. Cada tipo de junção celular tem uma função específica na adesão celular, na comunicação e na integridade do tecido (Garcia; Nelson; Chavez, 2018).

As junções compactas, também conhecidas como junções oclusivas, são complexos proteicos localizados na região mais apical da interface entre a célula e o lúmen, cuja função é selar o espaço intercelular entre as células. Essas junções regulam a permeabilidade paracelular de íons e solutos, criando uma barreira que evita o vazamento de substâncias entre as células. Tais junções também são responsáveis por manter a função de barreira epitelial, garantindo que apenas moléculas selecionadas possam passar pelo espaço intercelular (Zihni et al, 2016)

As junções de aderência ou junções aderentes são outro tipo de junção celular que desempenha um papel essencial na adesão celular e na integridade do tecido. Essas junções são formadas principalmente pelas proteínas da classe das caderinas e cateninas, que estão localizadas nas superfícies das células epiteliais em regiões de contato célula-célula, formando assim a junção aderente. As junções de aderência são essenciais para a formação de tecidos durante o desenvolvimento e desempenham um papel na polarização e diferenciação celular (Gordon, 1995; De Santa Barbara; Van Den Brink; Roberts, 2003; Hermiston).

Os desmossomos são estruturas de ancoragem encontradas entre células adjacentes em tecidos sujeitos a estresse mecânico, como a pele e o músculo cardíaco. Compostos por proteínas de ancoragem, como desmogleínas e desmocollinas, os desmossomos conectam os filamentos intermediários de citoesqueleto entre células, proporcionando resistência mecânica e estabilidade aos tecidos (Kowalczyk; Green, 2013). Os hemidesmossomos

são estruturas semelhantes aos desmossomos, mas estão localizados na interface entre células e a matriz extracelular. Compostos por integrinas e outras proteínas de ancoragem, os hemidesmossomos ancoram filamentos intermediários do citoesqueleto à matriz extracelular, proporcionando estabilidade e adesão das células à matriz (Walko; Castañón; Wiche, 2015). Por fim, as junções célula-matriz ligadas à actina são estruturas que conectam as células à matriz extracelular por meio de proteínas de adesão, como integrinas e talina, ligadas a filamentos de actina do citoesqueleto. Essas junções desempenham um papel importante na adesão das células à matriz extracelular e na transmissão de sinais mecânicos entre as células e o ambiente extracelular (Cartagena-Rivera *et al.*, 2017). As junções comunicantes, ou gap junctions, facilitam a comunicação direta entre o citoplasma de células adjacentes, permitindo a rápida troca de íons e moléculas pequenas. Junções comunicantes são formadas por dois canais pareados entre si (conexons), que por sua vez são formados por um hexâmero de conexinas, desempenhando um papel crucial na coordenação de atividades celulares, especialmente em tecidos como o sistema nervoso e o tecido muscular (Beyer; Berthoud, 2018). A **Figura 1** mostra um esquema geral de como se dispõem as junções celulares.

Figura 1: representação geral das junções celulares

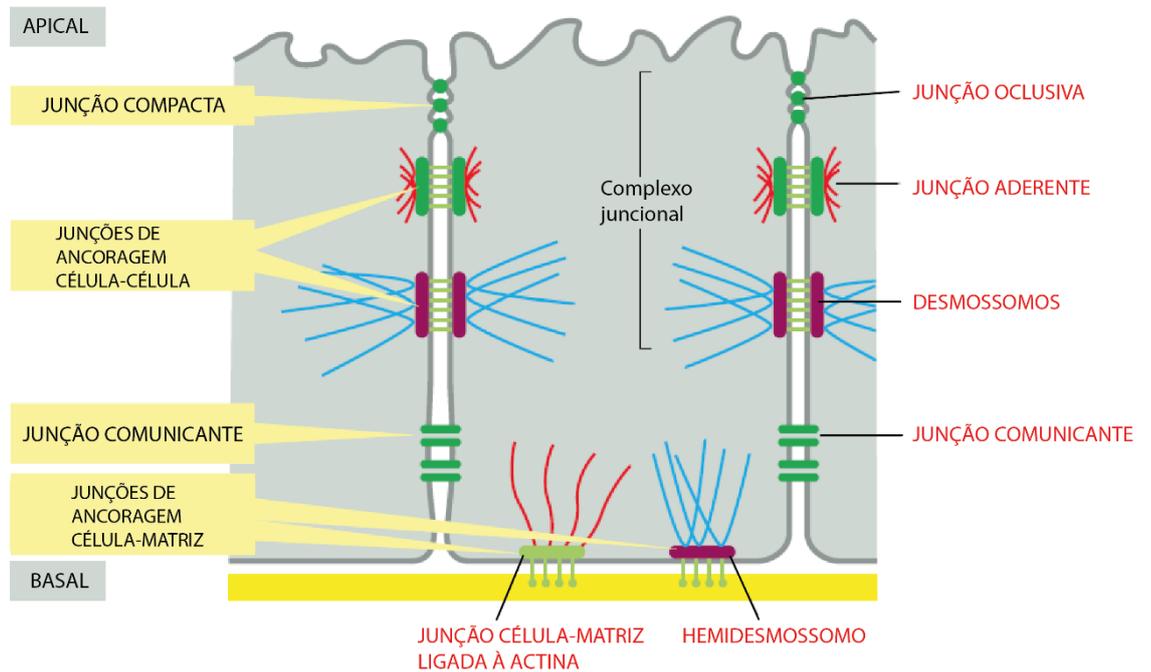
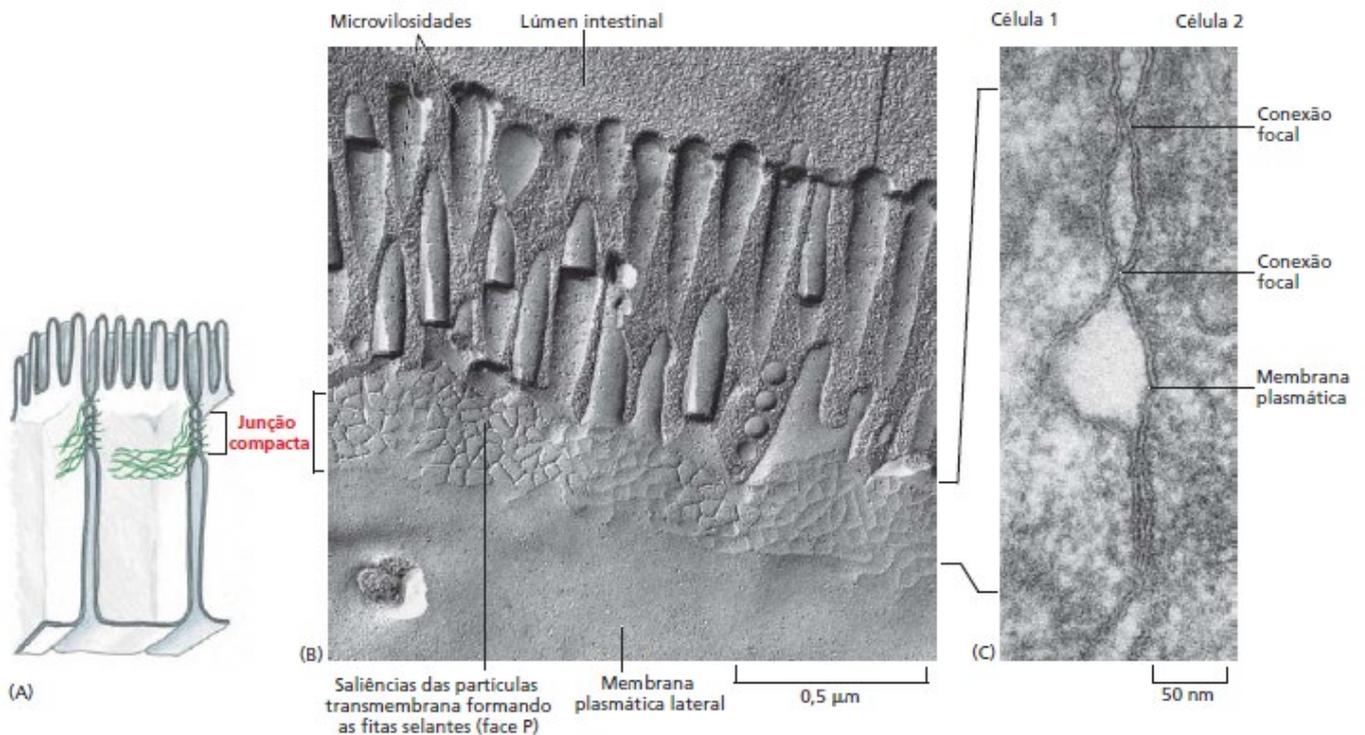


Ilustração descritiva das junções celulares. Essa descrição é baseada nas células epiteliais do intestino delgado. Adaptado de (Biologia molecular da célula, 2021).

1.1.1 Junções oclusivas

Para que haja uma separação entre as interfaces do lúmen e o organismo do indivíduo, faz-se necessário o selamento do espaço paracelular a partir das junções oclusivas (**figura 2**). Essas junções, conhecidas também como Tight junctions (TJ) interligam o espaço entre duas membranas plasmáticas de células vizinhas, selando o espaço entre as células adjacentes, impedindo a passagem de substâncias e microrganismos que estão localizadas na região apical para a região basolateral do tecido em questão.

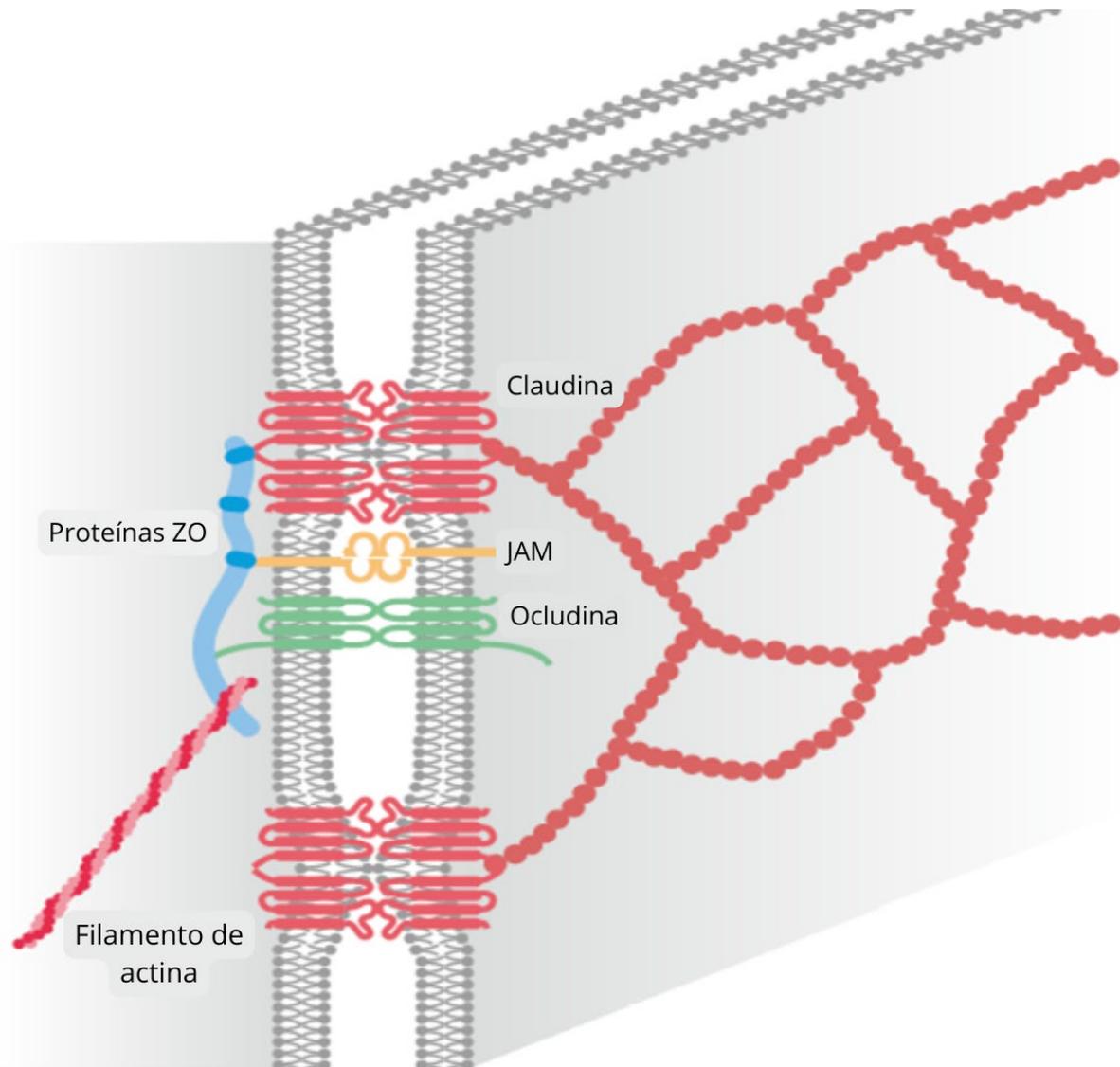
Figura 2: estrutura de junção oclusiva em células epiteliais de intestino delgado



As junções são mostradas esquematicamente em (A), em microscopia eletrônica de transmissão de uma criofratura em (B) e em uma microscopia eletrônica de transmissão convencional em (C). Na eletromicrografia de criofratura (B), o plano da imagem é paralelo ao plano da membrana, mostrando as junções oclusivas como uma banda, semelhante a um cinturão de fitas selantes que circundam cada célula da camada. Já na microscopia eletrônica de transmissão convencional (C), a junção é visualizada como uma série de conexões focais entre a camada externa de duas membranas plasmáticas interagindo, sendo que cada conexão corresponde a uma fita selante em secção transversal. (Biologia molecular da célula, 2021)

A estrutura das junções oclusivas é composta por uma rede de ramificação de filamentos de vedação, cada filamento atuando independentemente dos outros (Furuse *et al.*, 1996; Tsukita; Furuse; Itoh, 1996; Wong; Gumbiner, 1997). Cada filamento é formado a partir de uma linha de proteínas transmembranares incorporadas em ambas as membranas plasmáticas, com domínios extracelulares unindo-se diretamente uns aos outros, conforme mostrado na **Figura 3** (Cereijido; Meza; Martínez-Palomo, 1981).

Figura 3: estrutura organizacional de uma junção oclusiva.



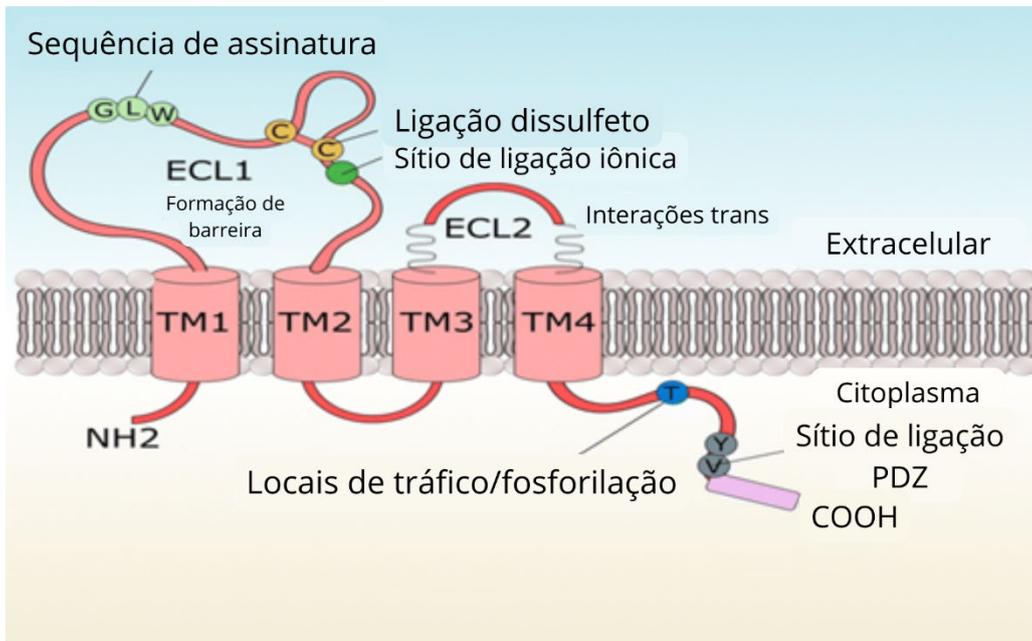
Organização molecular das TJs. As claudinas, a ocludina e as moléculas de junção de adesão (JAMs) são as principais proteínas integrais de membrana das TJs. As claudinas formam cadeias de TJ, correspondendo a pontos de contacto com a membrana. As proteínas de membrana associadas às TJs estão localizadas nas junções célula-célula apicais através da interação com a família ZO de proteínas de suporte, servindo como ligações entre as TJs e o citoesqueleto de actina (Otani; Furuse, 2020).

As claudinas são proteínas transmembranares que são encontradas em muitos organismos, incluindo o ser humano, apresentando uma estrutura semelhante entre si, mesmo em diferentes espécies. As claudinas atravessam a membrana celular 4 vezes, com a extremidade N-terminal e a extremidade C-terminal ambas localizadas no citoplasma, e dois loops extracelulares que mostram o maior grau de conservação, o que sugere um papel importante em sua funcionalidade, conforme evidenciado na **Figura 4** (Elkouby-Naor; Ben-Yosef, 2010; Simske, 2013).

As claudinas têm interações cis e trans entre as membranas celulares, sendo fundamentais para a formação e manutenção das junções oclusivas. As interações cis ocorrem quando as claudinas na mesma membrana interagem entre si. Uma maneira pela qual elas interagem é através do domínio transmembranar que tem interações moleculares. Essas interações cis ajudam a organizar as claudinas na membrana e a formar a estrutura das junções oclusivas (Lal-Nag; Morin, 2009).

Por outro lado, as interações trans ocorrem quando as claudinas de células vizinhas interagem através de seus loops extracelulares. Essas interações trans são essenciais para a formação de uma barreira eficaz entre as células e para manter a integridade do tecido. Elas permitem que as células se unam de maneira que forma uma barreira quase impermeável que impede a passagem de moléculas, agentes biológicos e íons através do espaço paracelular (Lal-Nag; Morin, 2009; Tsukita; Furuse, 2000).

Figura 4: estrutura da claudina



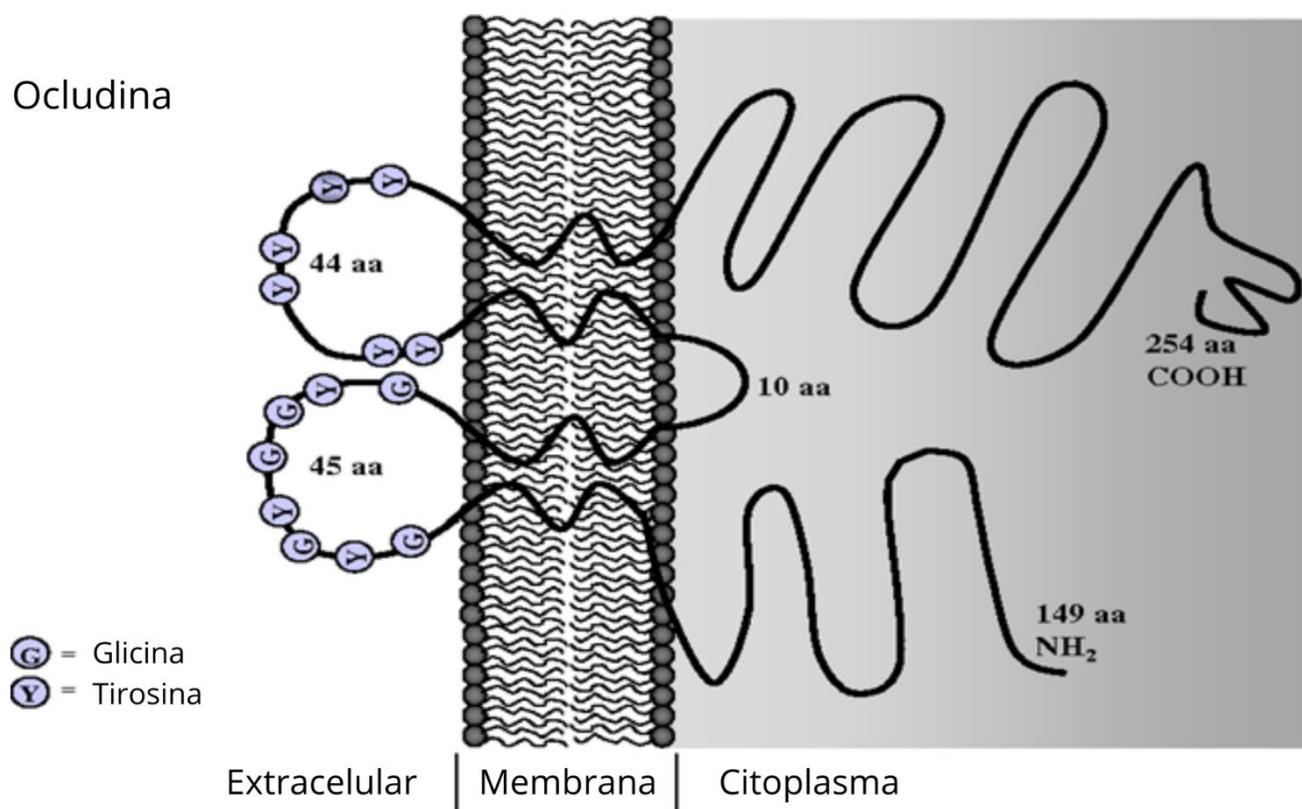
A claudina é constituída por 4 domínios transmembranares (TM), um terminal NH2 curto, duas alças extracelulares, uma alça intracelular curta e um terminal COOH mais longo. O terminal COOH mais longo contém o ponto de ligação PDZ para interações com as proteínas de *scaffolding*, incluindo ZO-1, ZO-2 e ZO-3. (Greene; Hanley; Campbell, 2019)

A ocludina é uma proteína transmembranar que desempenha um papel fundamental na estrutura e função das junções oclusivas (Cerejido; Meza; Martínez-Palomo, 1981). Ela foi a primeira proteína integral de membrana a ser identificada nas junções oclusivas e tem um peso molecular de aproximadamente 60kDa. A ocludina atravessa a membrana celular quatro vezes, formando dois loops extracelulares e um loop intracelular. Ambas as extremidades N-terminal e C-terminal da proteína estão localizadas no citoplasma (Li *et al.*, 2005).

A estrutura da ocludina é crucial para a sua função, tendo em vista que os loops extracelulares da ocludina interagem com as ocludinas de células vizinhas, ajudando a formar a barreira estreita que caracteriza as junções oclusivas (Furuse *et al.*, 1996). Além disso, a extremidade C-terminal da ocludina interage com várias proteínas do citoesqueleto, ajudando a ancorar a junção oclusiva à estrutura da célula (Feldman; Mullin; Ryan, 2005; Nusrat *et al.*, 2005).

A função da ocludina nas junções oclusivas é complexa e multifacetada, desempenhando um papel na regulação da permeabilidade paracelular, ajudando a prevenir a passagem de moléculas e íons através do espaço entre as células (Li *et al.*, 2005; Van Itallie; Anderson, 1997). Além disso, a ocludina também está envolvida na sinalização celular e pode desempenhar um papel na regulação da proliferação e diferenciação celular (Bauer *et al.*, 1999; Saitou *et al.*, 1998).

Figura 5: representação esquemática da estrutura da ocludina



A ocludina é formada por quatro domínios transmembranares, duas alças extracelulares longas, uma alça intracelular pequena, uma cauda longa aminoterminal e uma cauda longa carboxiterminal (Feldman; Mullin; Ryan, 2005).

As Proteínas de Junção de Adesão (JAM) são uma família de proteínas que desempenham um papel crucial na formação e manutenção das *Tight Junctions* (Mandicourt *et al.*, 2007; Mochida *et al.*, 2010; Otani *et al.*, 2019). As JAMs são proteínas transmembranares que possuem dois domínios extracelulares de imunoglobulina, um domínio transmembranar e uma cauda citoplasmática curta (Otani; Furuse, 2020). Elas estão envolvidas em

várias funções celulares, incluindo adesão celular, migração celular, diferenciação celular e polaridade celular (Ebnet *et al.*, 2003; Martin-Padura *et al.*, 1998; Otani *et al.*, 2019). As JAMs interagem com outras proteínas nas junções oclusivas, incluindo as claudinas e a ocludina, para formar a barreira apertada que caracteriza as junções oclusivas. Além disso, as JAMs também interagem com proteínas do citoesqueleto, como a zonula occludens-1 (ZO-1), para ancorar as junções oclusivas à estrutura da célula. Essas interações são essenciais para a formação e manutenção das junções oclusivas e para a função das JAMs na regulação de várias funções celulares (Bazzoni *et al.*, 2000).

A tricelulina é outra proteína que desempenha um papel importante nas junções oclusivas. A tricelulina é uma proteína transmembranar que é encontrada nas junções oclusivas tricelulares, onde três células epiteliais se juntam (Ikenouchi *et al.*, 2008; Krug *et al.*, 2009; Mariano *et al.*, 2011). A tricelulina interage com outras proteínas nas junções oclusivas, incluindo as claudinas e a ocludina, para formar a barreira apertada que caracteriza as junções oclusivas (Ikenouchi *et al.*, 2008). Além disso, a tricelulina também interage com proteínas do citoesqueleto para ancorar as junções oclusivas à estrutura da célula (Cho *et al.*, 2022).

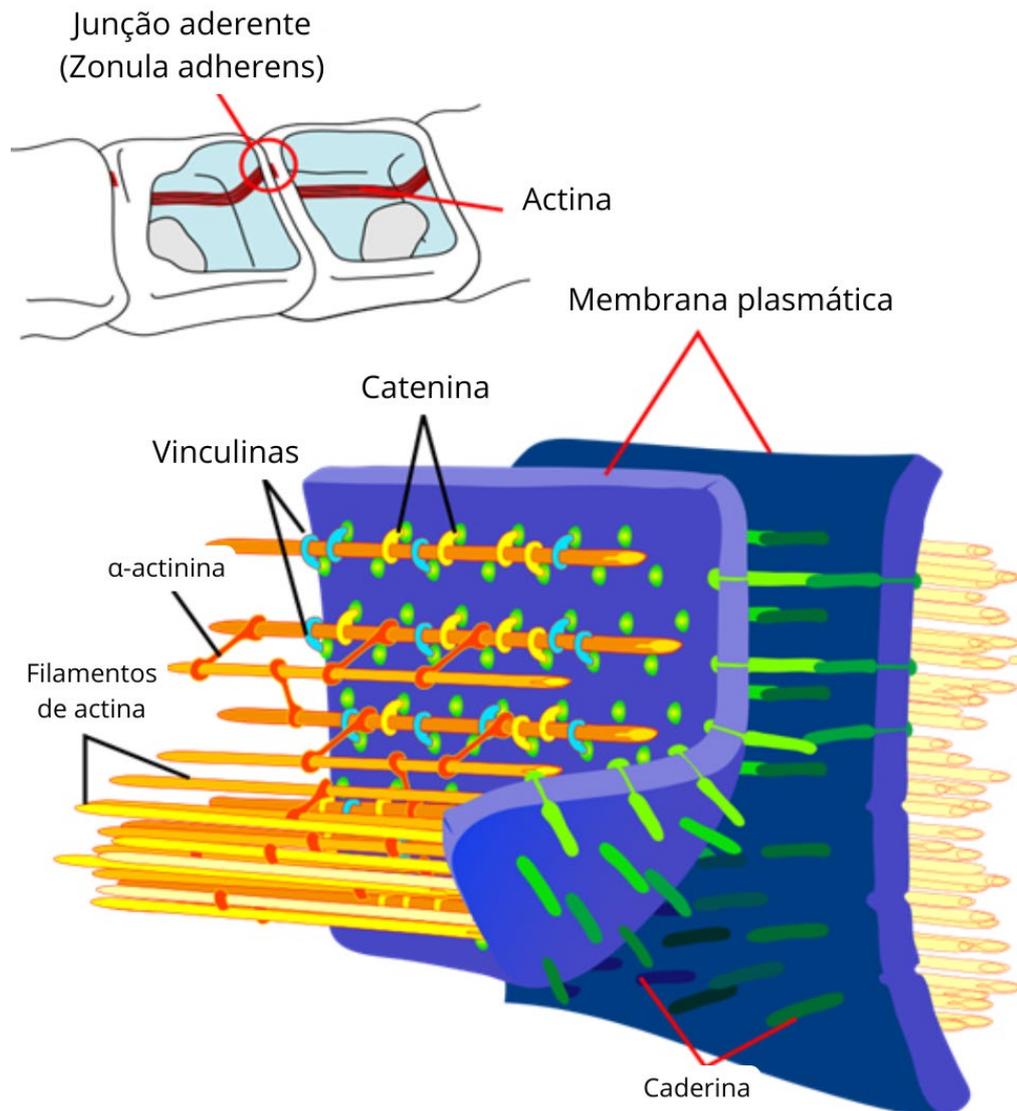
As proteínas da família Zonula Occludens (ZO) são proteínas de ancoragem que fornecem a base estrutural para a montagem de complexos multiproteicos na superfície citoplasmática das junções intercelulares (McNeil; Capaldo; Macara, 2006). Elas desempenham um papel crucial na formação e manutenção das junções oclusivas, estando localizadas na interface intracelular da membrana, permitindo a interação entre as proteínas de junção oclusiva e os microfilamentos de actina. Dentre as proteínas das junções oclusivas, as proteínas ZO ancoram as claudinas, a ocludina e as moléculas de adesão de junção (JAM), ajudando a unir os citoesqueletos de células adjacentes. Além disso, as proteínas ZO também estão envolvidas na sinalização celular e podem desempenhar um papel na regulação do crescimento e diferenciação celular (Fanning; Anderson, 2009).

1.1.2 Junções aderentes

As junções aderentes são estruturas celulares especializadas que desempenham um papel crucial na adesão intercelular e na manutenção da integridade dos tecidos (Tepass, 2002). Elas são caracterizadas por sua capacidade de formar uma espécie de cinturão em torno da célula, unindo-a a outras células adjacentes para formar barreiras contínuas. Tais barreiras são essenciais para promover resistência mecânica tecidual (Niessen, 2007). A estrutura básica de uma junção aderente é formada por caderinas, que são as moléculas que de fato irão promover a interação de adesão entre duas células vizinhas ao interagir entre si; as cateninas que se ligam às caderinas intracelularmente, ancorando o complexo de junção aderente aos filamentos de actina; e as vinculininas que estabilizam as junções aderentes.

Dentre as proteínas mais proeminentes que formam a estrutura de junções aderentes, destacam-se as proteínas da família das caderinas e cateninas. As caderinas são proteínas de adesão transmembrana que garantem a união das membranas adjacentes, enquanto as cateninas se conectam às caderinas e formam complexos de adesão que ligam a actina do citoesqueleto das células adjacentes (Harrison *et al.*, 2011) (**Figura 6**). Além de sua função estrutural, as junções aderentes também desempenham um papel crucial na sinalização celular. Elas permitem a comunicação entre células vizinhas, o que é essencial para a coordenação de várias funções celulares, incluindo a proliferação, diferenciação e migração celular (Tepass, 2002). Além das funções citadas, as junções aderentes também estão envolvidas na transdução de sinais mecânicos, permitindo que as células respondam a forças físicas em seu ambiente (Yonemura *et al.*, 2010).

Figura 6: representação esquemática de uma junção aderente.



Esquema ilustrativo de uma junção aderente, que demonstra todas as interações entre as proteínas que a forma. (Villareal, 2006).

As caderinas são proteínas de adesão transmembrana formadas por 700 a 750 aminoácidos, composta por diferentes domínios funcionais, permitindo a interação com outras moléculas de caderina e com íons de cálcio que garantem a união das membranas adjacentes (Nose; Tsuji; Takeichi, 1990). Dentre os domínios que compõem a estrutura das caderinas, foi descrito um domínio extracelular, que corresponde a maior parte da cadeia de aminoácidos e normalmente é diferenciada em cinco domínios, denominados EC (EC1-EC5) Esses domínios formam loops que permitem a ligação

com outras moléculas de caderina na célula adjacente, um processo conhecido como adesão homofílica. Além do domínio extracelular, as caderinas possuem um domínio transmembranar disposto na forma de α -hélice, assim como um domínio intracelular voltado para a interface citoplasmática, que se liga a outras proteínas intracelulares, como as cateninas que por sua vez se ligam ao citoesqueleto, promovendo assim a interação indireta com o citoesqueleto de duas células adjacentes (Nagafuchi; Takeichi, 1988).

As cateninas são uma família de proteínas intracelulares encontradas em complexos com moléculas de adesão de células caderinas de células animais. Elas desempenham um papel crucial na formação de junções aderentes, estruturas celulares que permitem a adesão entre células vizinhas (McCrea; Gu, 2010). A estrutura base das cateninas contém de 745 a 906 aminoácidos, apresentando um domínio N-terminal, um domínio de repetição de *armadillo* e um domínio C-terminal (Nicholl *et al.*, 2018; Pokutta; Weis, 2000).

O domínio de repetição de *armadillo* é composto por repetições de uma sequência de aminoácidos, cada sequência formando uma α -hélice. Este domínio é responsável pela ligação da catenina às caderinas e às outras cateninas (Huber; Nelson; Weis, 1997). A α -catenina pode se ligar à β -catenina e a filamentos de actina, enquanto a β -catenina liga-se diretamente à cauda citoplasmática das caderinas. A principal função das cateninas é conectar caderinas aos filamentos de actina, como as junções de adesão das células epiteliais (McCrea; Gu, 2010), permitindo a formação de um de cinturão em torno da célula, que faz com que ela se una a outras à sua volta, formando a junção aderente que forma parte do complexo de aderência (McCrea; Gu, 2010).

Dentre as classes de cateninas descritas na literatura, as α -cateninas e β -cateninas são as mais estudadas. A β -catenina é particularmente interessante, pois desempenha um papel duplo na célula, pois pode se ligar aos domínios da cauda citoplasmática intracelular do receptor da caderina, exercendo papel na sinalização celular, principalmente na via canônica de Wnt (Grigoryan *et al.*, 2008; Phillips; Kimble, 2009), assim como pode atuar como um componente do complexo de proteínas nas junções aderentes que

ajudam as células a manterem as camadas epiteliais (McCrea; Gu, 2010). A β -catenina atua ancorando o citoesqueleto de actina às junções e pode auxiliar na sinalização de inibição de contato dentro da célula (Basan *et al.*, 2010).

1.2 Toxoplasmose e *Toxoplasma gondii*

Toxoplasma gondii, agente causador da toxoplasmose é um protozoário intracelular obrigatório do filo Apicomplexa. A principal forma de contração dessa infecção é a partir da ingestão de alimentos contaminados com os cistos do parasito, que afeta tanto o homem, como também outros animais homeotermos e heterotermos (Jones; Korcsmaros; Carding, 2017; Tenter; Heckeroth; Weiss, 2000). De forma geral, a toxoplasmose é assintomática entre 80 e 90% dos indivíduos infectados pelo parasito (Aguirre *et al.*, 2019; Dubey *et al.*, 2012). Entretanto, mesmo considerando a grande proporção de pacientes assintomáticos nos casos totais, a toxoplasmose acomete cerca de 30% da população mundial, sendo um caso clínico relativamente frequente (Aguirre *et al.*, 2019). No Brasil, entretanto, a estimativa é que uma a cada 1000 crianças nasça infectada com o protozoário e cerca de 50 a 80% das mulheres que estão em idade fértil apresentam sorologia positiva para anticorpos de *Toxoplasma gondii* (Remington *et al.*, 2011).

Nos hospedeiros intermediários que contraíram o parasito, ocorre a reprodução assexuada, gerando um quadro agudo até a instauração do *T. gondii* no tecido alvo, podendo levar a formação de cistos teciduais. Tais cistos presentes na carne de animais representam riscos significativos para o ser humano caso a carne do animal infectado seja consumida crua ou sem o processo adequado de cozimento (Montoya; Liesenfeld, 2004; Teutsch *et al.*, 1979). Entretanto, no hospedeiro definitivo, que atualmente, o único conhecido são os felinos, ocorre a reprodução sexuada do parasito em seu intestino, gerando a liberação de milhares de oocistos de *Toxoplasma gondii* no ambiente, contaminando o solo, água e animais potencialmente consumíveis (Bahia-Oliveira *et al.*, 2003).

Apesar da principal forma de contração da toxoplasmose ser a partir da alimentação, destacam-se também outras formas de se contrair a patologia em questão, como o contato direto com fezes de animais infectados, contato com solo infectado, ingestão de água contaminada, consumo de leite contaminado e não pasteurizado, transplantes e transfusão de sangue, acidentes laboratoriais e transmissão vertical (Boughattas, 2017; Derouin; Peloux, 2008; Dubey; Lindsay; Speer, 1998; Foroutan-Rad *et al.*, 2016; Hide, 2016).

Figura 7: representação gráfica da cadeia de transmissão da toxoplasmose.



Os felinos podem contrair o parasita ao ingerir animais, água ou vegetais contaminados. Por sua vez, esses felinos podem contaminar animais silvestres e domésticos, resultando na infecção humana. O homem, ao propagar a infecção, pode fazê-lo através da contaminação de órgãos e sangue transferidos, bem como por meio de gestantes via transplacentária, levando, assim, a infecção ao feto. (Mitsuka-Breganó; Lopes-Mori; Navarro, 2010).

1.2.1 Aspectos celulares

O ciclo evolutivo do *Toxoplasma gondii* é caracterizado por apresentar três formas distintas e infectivas, mesmo que em graus distintos de virulência. A forma taquizoíta ocorre na fase aguda de infecção e apresenta capacidade de transmissão transplacentária; a forma bradizoíta ocorre na fase crônica ou latente da doença e é encontrado na forma de pseudocistos principalmente em tecidos musculares e cerebrais infectados; a forma esporozoíta, exclusiva de seu hospedeiro definitivo, os felinos, são encontrados na forma de oocistos formados em seus intestinos (Mercier *et al.*, 2005; Blader *et al.*, 2015; Attias *et al.*, 2020).

A infecção por *T. gondii* ao atingir a sua fase crônica, pode se manter por toda a vida do indivíduo infectado sob a forma de pseudocistos teciduais, que podem ou não se manifestarem clinicamente em hospedeiros imunocomprometidos (Holliman, 1997).

O protozoário apresenta três cepas distintas, classificadas de acordo com sua virulência e prevalência. A cepa do tipo I possui a maior patogenicidade, mas é o genótipo mais raro dentre as cepas; o tipo II é o genótipo mais frequente, apresenta baixa virulência e está associado com a reagudização da toxoplasmose em indivíduos imunocomprometidos devido a sua alta capacidade de formação de cistos teciduais, bem como está associado com a forma ocular da doença; o tipo III está relacionado com a incidência da toxoplasmose em animais (Sibley, 2011).

A principal fonte de energia utilizada pelo *Toxoplasma gondii* é a glicose, que é oxidada a partir da glicólise. O açúcar sofre conversão em ácido láctico e ácido acético, entre outros. O oxigênio fornece CO₂ durante esse processo, levando à oxidação do NADH através do sistema citocromo. Tanto os parasitas livres quanto os intracelulares possuem reservas semelhantes ao glicogênio na forma de pequenos grânulos; essas reservas são mais volumosas quando os parasitas são encistados (Rey, 2001).

O *T. gondii* faz parte do filo Apicomplexa, cuja principais características são a presença do apicoplasto (uma organela envolvida na via metabólica de ácidos graxos, síntese do radical heme, dentre outros) e do complexo

apical. A estrutura geral do *T. gondii* é composta por organelas secretoras chamadas micronemas e roptrias, bem como a presença de anéis polares próximos aos micronemas e um conjunto microtubular em forma espiral, denominado conoide, cuja presença, dentro dos integrantes do filo Apicomplexa é exclusiva ao *Toxoplasma gondii* (Dubey; Lindsay; Speer, 1998).

1.2.1.1 Forma esporozoíta

O oocisto é a forma resistente do *Toxoplasma gondii*. Encontrada no meio ambiente, essa forma confere resistência aos mais diversos ambientes, como no solo e em águas doces ou salgadas, mantendo sua viabilidade e infectividade por mais de um ano (Tenter; Heckerth; Weiss, 2000). O oocisto se deriva em duas formas: a esporulada e a não esporulada. O oocisto não esporulado possui formato esférico com uma parede de duas camadas que medem de 10 a 12 µm de diâmetro. O oocisto esporulado, por sua vez apresenta uma forma subesférica a elipsoidal, variando de 11 a 13 µm de diâmetro, possuindo três camadas de densidades distintas (Dubey; Lindsay; Speer, 1998; Dubey; Miller; Frenkel, 1970; Sibley, 2011)

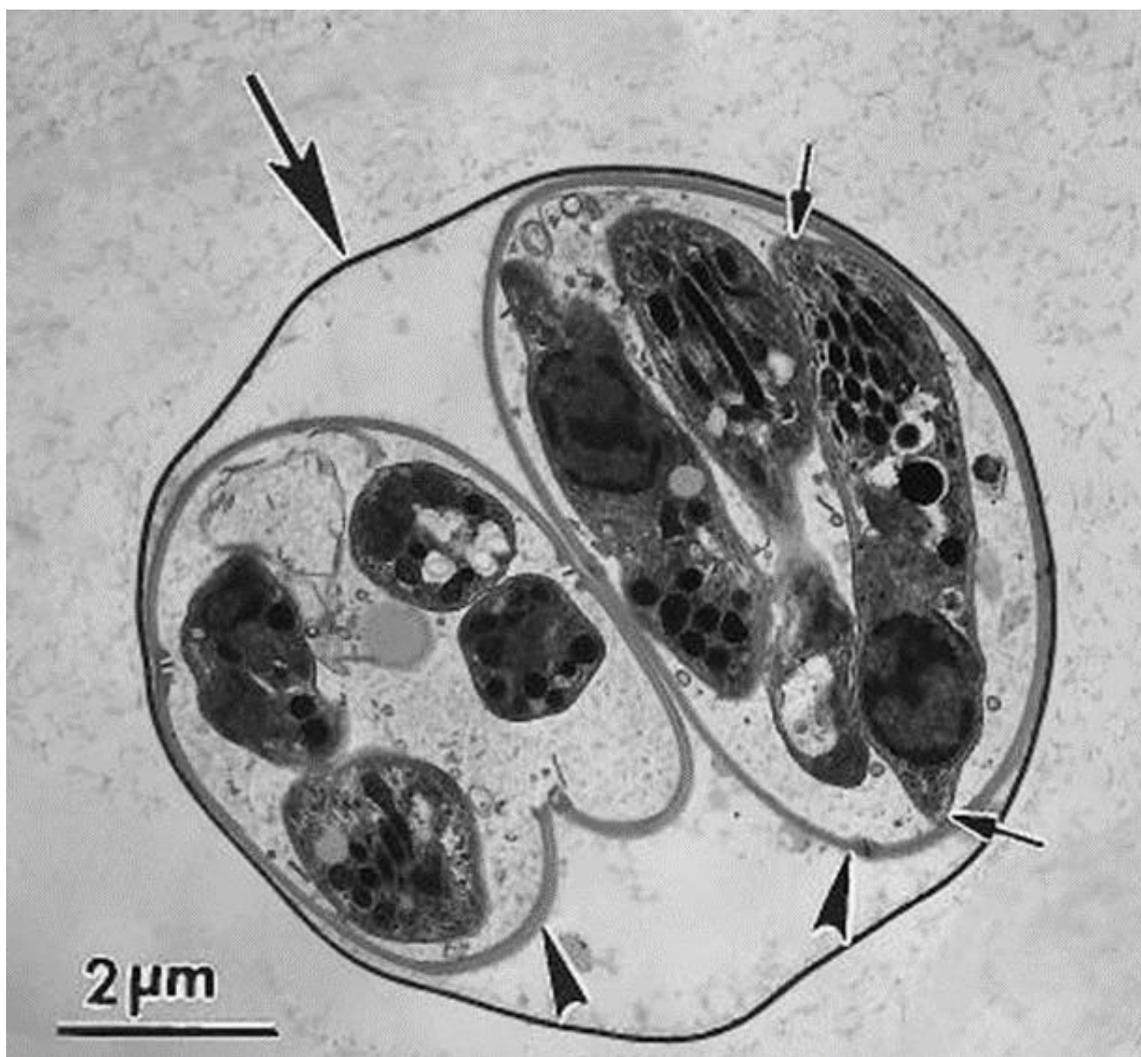
No oocisto esporulado, a camada intermédia é composta por dois resquícios membranares formados entre as camadas interna e externa durante a esporulação do oocisto. O oocisto contém dois esporocistos em forma de elipse, medindo 6 a 8 µm cada. Por sua vez, cada esporocisto contém quatro esporozoítos, totalizando oito esporozoítos contidos em um oocisto, conforme mostrado na **Figura 8** (Dubey; Lindsay; Speer, 1998; Sibley, 2011).

Durante a formação do esporozoíto, o citoplasma contém um núcleo grande que possui um nucléolo distinto, um nucleoplasma amorfo e o zigoto é limitado apenas por uma única membrana que contém poucos microporos. Então, o núcleo divide-se duas vezes, produzindo quatro núcleos, dividido em pares, localizados na periferia deste zigoto. A partir daí, forma-se uma segunda membrana limitante para que em seguida, ocorra a divisão do citoplasma, para que, em última análise, resulte em dois esporoblastos esféricos binucleados.

Após a formação dos esporoblastos esféricos, estes são alongados e formam os esporocistos, cuja parede interna é formada pelas duas membranas externas dos esporoblastos. Durante o desenvolvimento deste esporocisto, quatro placas curvas formam sua camada interna e, por sua vez, quando duas placas densas surgem nas extremidades desses esporocistos, inicia-se a formação dos esporozoítos. A partir daí, o núcleo divide-se em dois e incorpora-se ao esporozoíto alongado, originando quatro esporozoítos em cada esporocisto (Ferguson, D. J. *et al.*, 1978). Esse processo de

esporulação do *Toxoplasma gondii* dura de 1 a 5 dias após a excreção do seu hospedeiro definitivo, variando conforme as condições ambientais, como temperatura, salinidade, PH, entre outros (Sibley, 2011).

Figura 8: microscopia eletrônica de transmissão de um oocisto esporulado.

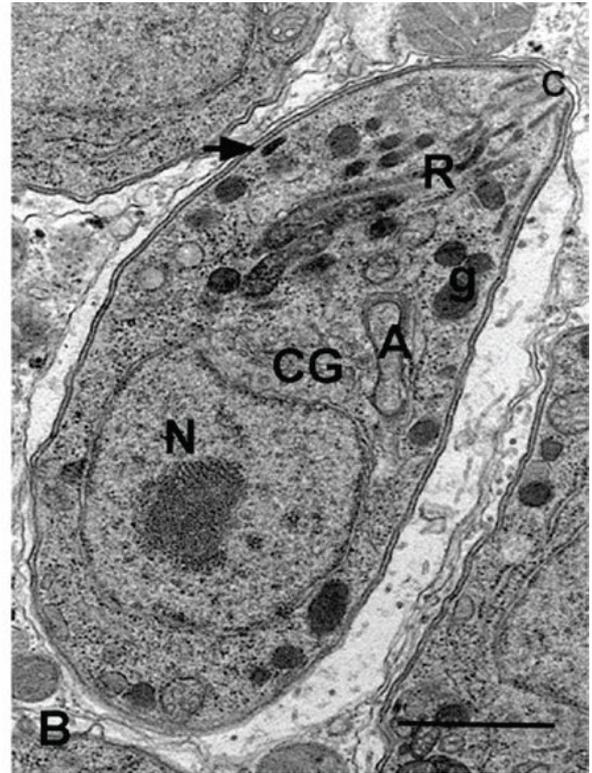
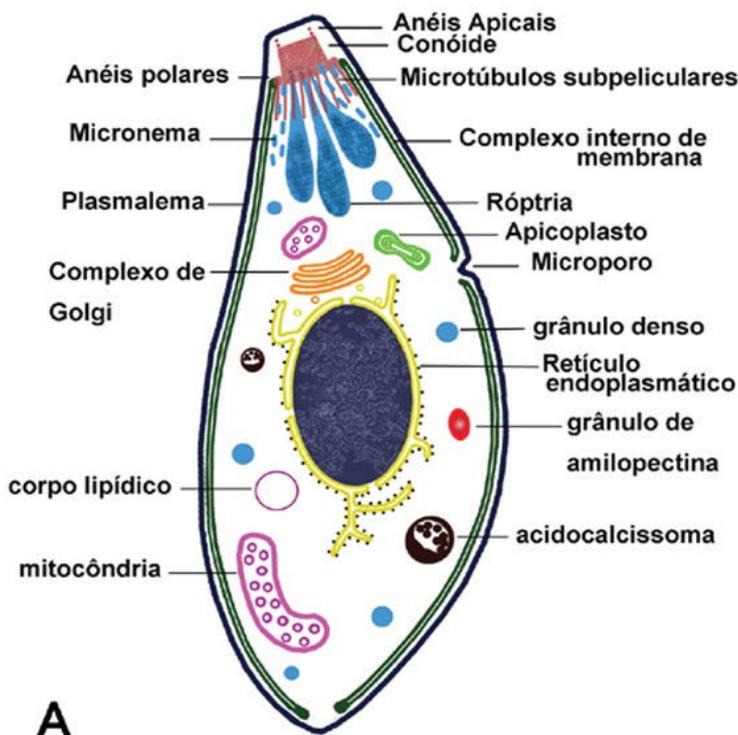


Eletromicrografia de transmissão no qual é possível observar um oocisto esporulado. A seta grande indica a parede fina do oocisto, enquanto as pontas das setas apontam para os dois esporocistos. As setas pequenas destacam um esporozoíto cortado longitudinalmente (Dubey; Lindsay; Speer, 1998)

1.2.1.2 Forma taquizoíta

A forma taquizoíta do *Toxoplasma gondii* caracteriza a fase aguda da doença, possuindo a comprimento aproximado de 5 μm e largura aproximada de 2 μm . O taquizoíto possui morfologia polarizada e alongada, apresentando a sua região anterior em formato delgado, enquanto a sua região posterior apresenta-se de forma arredondada (Black; Boothroyd, 2000). O complexo apical do *T. gondii* taquizoíta localiza-se na porção anterior da célula e são estas: os anéis polares, as roptrias, os micronemas e o conoide. Na região medial da célula, localiza-se o núcleo, logo abaixo do complexo de Golgi do apicoplasto. O retículo endoplasmático estende-se a partir do envoltório nuclear e ramifica-se pelo citosol tendo o núcleo como centro. Além disso, a célula possui uma única mitocôndria ramificada. O citoplasma do *T. gondii* em sua forma taquizoíta também possui outras estruturas celulares variáveis em quantidade e localização, como os grânulos densos, acidocalcissomas e os grânulos de amilopectina. Partindo do anel polar posterior, irradiam-se os microtúbulos subpeliculares que percorrem o corpo celular no eixo longitudinal até cerca de dois terços de sua extensão (**Figura 9**) (Souza, Wanderley de *et al.*, 2010).

Figura 9: Morfologia geral da forma taquizoíta de *Toxoplasma gondii*.



(A) Representação esquemática do taquizoíta do *Toxoplasma gondii*. O esquema foi construído a partir de corte aleatórios do parasito observados em microscopia eletrônica de transmissão. (B) Corte longitudinal onde várias das estruturas representadas em (A) estão assinaladas: N - núcleo, c - conóide, R - róptrias, A - apicoplasto, CG - Complexo de Golgi, g - grânulo denso, seta - micronema, VP - vacúolo parasitóforo. Barra: 1 μ m (de Souza, *et al.*, 2010).

As estruturas do complexo apical do taquizoíta, como as róptrias, o conóide, os micronemas e os microporos podem estar associados com os mecanismos de entrada do parasito na célula-alvo, assim como podem estar envolvidas com a criação de um ambiente ótimo para o desenvolvimento e crescimento deste protozoário (Dubey; Lindsay; Speer, 1998).

A forma taquizoíta do *T. gondii* é limitada por uma configuração trimembranar denominada película, constituída pelo complexo de membranas interno somado a sua membrana plasmática. Sua locomoção se dá a partir da associação da película com elementos do citoesqueleto lábil (Souza, Wanderley de *et al.*, 2010), caracterizando um movimento que pode ser composto por deslizamento, movimentos rotatórios ou por flexão ondulante, visto

que o taquizoíto não possui estruturas locomotoras visíveis como cílios, flagelos ou pseudópodes (Dubey; Lindsay; Speer, 1998).

O *T. gondii* em sua forma taquizoíta possui dois mecanismos de entrada na célula-alvo e são esses, a fagocitose, que engloba e internaliza o parasito em um endossomo e a penetração ativa propriamente dita através da membrana plasmática (Dubey; Lindsay; Speer, 1998). Para que o *Toxoplasma gondii* entre na célula-alvo, o parasito precisa aderir-se a membrana plasmática da célula-alvo formando uma ancoragem firme entre o parasito e a célula que está prestes a ser parasitada. Então, ocorre a secreção de substâncias presentes no complexo apical do taquizoíto de modo que as proteínas de membrana da célula-alvo sejam clivadas e facilite a entrada do parasito a partir da formação de uma estrutura denominada junção móvel, que por sua vez, move-se da porção apical até a extremidade posterior do parasito, gerando assim a sua internalização em um vacúolo parasitóforo (Besteiro; Dubremetz; Lebrun, 2011).

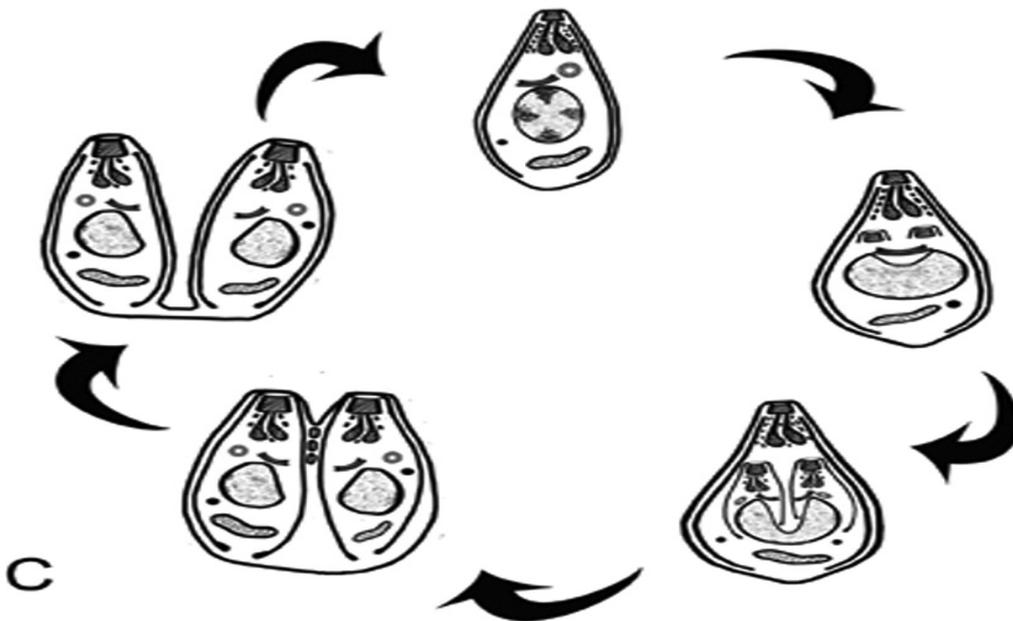
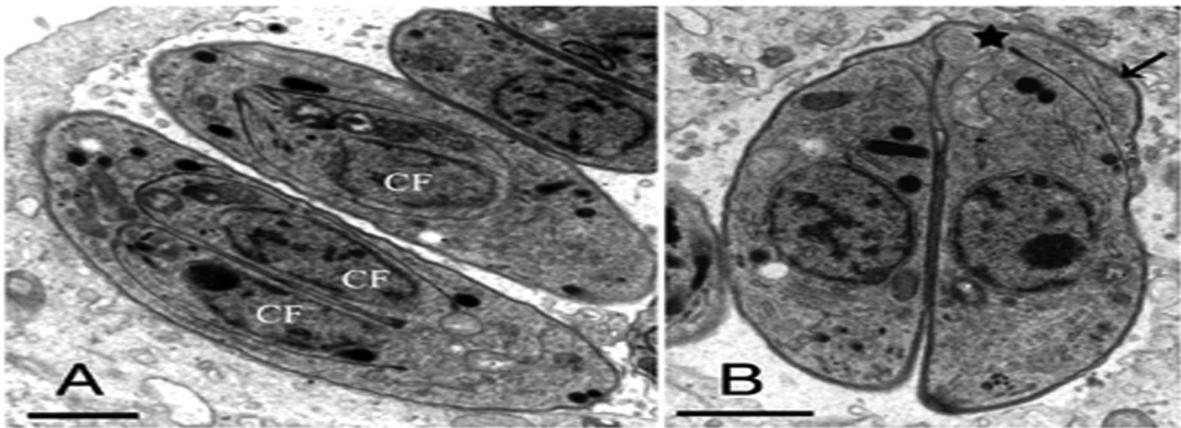
Após a invasão bem-sucedida da célula parasitada, dentro do vacúolo, ocorre a secreção de substâncias em vesículas que irão se fundir com a sua membrana (Souza, Wanderley de *et al.*, 2010), modificando a sua conformação de uma forma redonda para uma conformação elíptica, além de conferir característica não-fusogênica, evitando a exocitose do vacúolo a partir da fusão de sua membrana com lisossomos da célula infectada (Dubey; Lindsay; Speer, 1998).

Após o estabelecimento do parasito no vacúolo parasitóforo, o taquizoíta reproduz-se de maneira assexuada em um processo denominado endodiogenia (Dubey; Lindsay; Speer, 1998). A endodiogenia é o processo reprodutivo assexuado do *T. gondii* que forma duas células-filhas a partir da célula originária. Tal processo se dá, inicialmente, a partir do alongamento do apicoplasto e o complexo de Golgi, para que ocorra então logo em seguida a divisão do centróssomo na porção posterior ao núcleo. Então, formam-se dois complexos apicais rudimentares formados por anéis apicais, anel posterior e conoide, guiando a formação do complexo interno de membranas e os microtúbulos subpelículaes, iniciando assim a definição das

duas células-filhas a partir do parasito originário (Souza, Wanderley de *et al.*, 2010).

A divisão nuclear se dá a partir da endomitose fechada, caracterizada por manter o envelope nuclear intacto, com duas pontas se direcionando aos conoides, adquirindo um formato em U característico dessa fase. Ao mesmo tempo, ocorre o crescimento das estruturas membranosas que envolvem cada núcleo separadamente, bem como as organelas de cada célula a ser gerada (Black; Boothroyd, 2000). Por fim, a mitocôndria é incorporada e cada célula-filha prossegue com seu processo de maturação até que todo o conteúdo citoplasmático esteja dividido irremediavelmente entre as células geradas a partir dessa divisão, conforme indicado na **Figura 10** (Black; Boothroyd, 2000; de Souza, *et al.*, 2010).

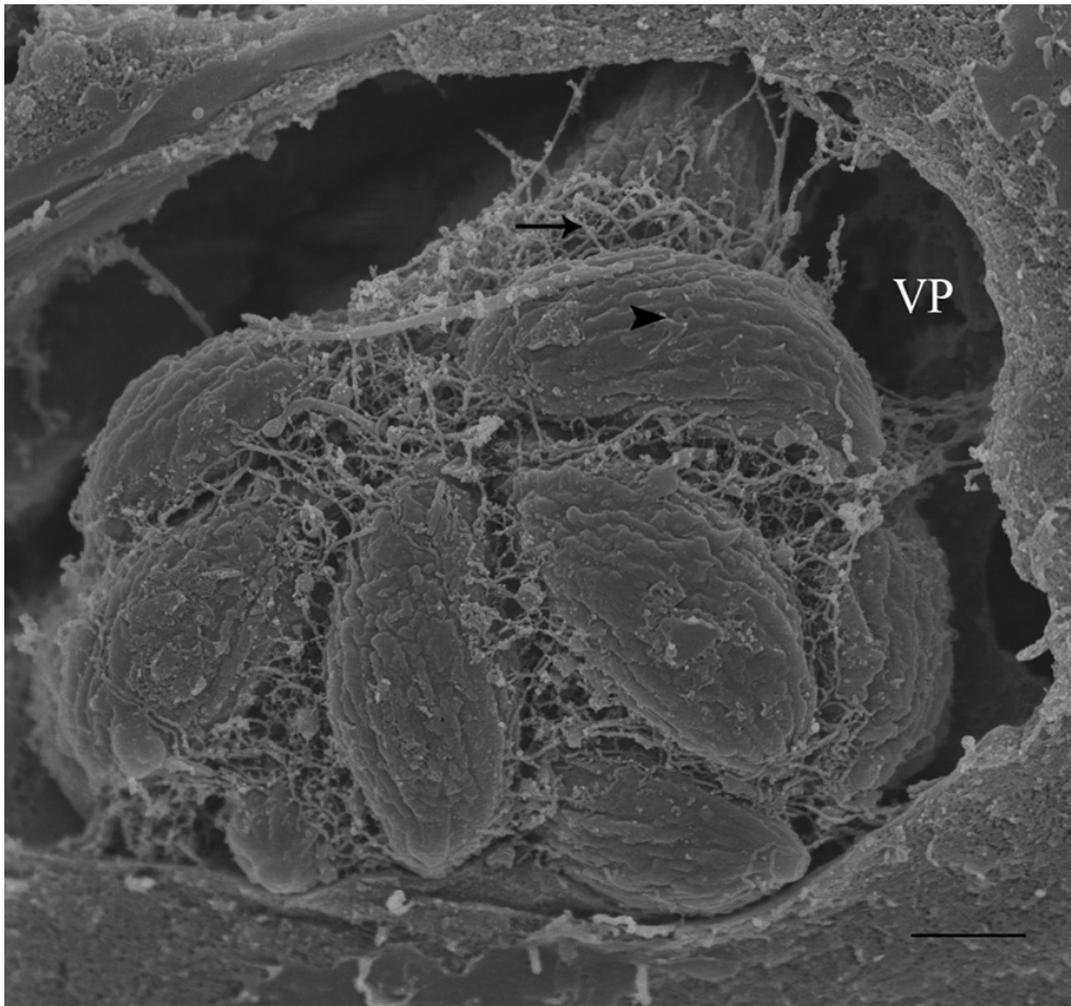
Figura 10: etapas da endodiogenia.



(A) Dois taquizoítos em processo de endodiogenia. Apenas no mais inferior observam-se os perfis das duas células filhas (CF). No que se encontra acima deste, apenas uma das células filhas é observada. (B) Final do processo de endodiogenia onde se observam apenas as células filhas. Remanescentes da película mais externa da célula mãe estão assinalados pela seta e o corpo residual com uma estrela. (C) Representação ilustrada do processo de endodiogenia (de Souza, *et al.*, 2010)

Após o processo da endodiogenia, os parasitos gerados continuam com suas extremidades superiores unidas por um tempo. Os parasitos recém gerados organizam-se em rosetas e então, transpassam a membrana do vacúolo parasitóforo, rompendo a membrana da célula e se encontrando livres na corrente sanguínea para infectar novas células, caracterizando a fase aguda da infecção, conforme indicado na **Figura 11** (Black; Boothroyd, 2000; Souza, Wanderley de *et al.*, 2010).

Figura 11: microscopia eletrônica de varredura de uma roseta de taquizoítos.



Microscopia eletrônica de varredura de alta resolução onde se observa no interior de um vacúolo parasitóforo (VP) a conformação em roseta dos taquizoítos após sucessivos ciclos de divisão endodigênica. Uma rede de nanotúbulos (seta) contribui na estabilidade do conjunto. Cabeça de seta: microporo de um taquizoíto. Barra: 1µm. (de Souza, et al., 2010).

1.2.1.3 Forma bradizoíta

Após a fase aguda da infecção, em torno de 7 a 10 dias pós infecção, ocorre a diferenciação dos taquizoítas em bradizoítas, que por sua vez, formam cistos teciduais, caracterizando a fase crônica ou latente da toxoplasmose (Black; Boothroyd, 2000). Apesar do formato parecido, o bradizoíta possui núcleo localizado em sua porção posterior, se comparado ao taquizoíta que apresenta núcleo centralizado. Além disso, o bradizoíta é menos susceptível a enzimas proteolíticas e tem o formato mais alongado, conforme indicado na **Figura 12** (Dubey; Lindsay; Speer, 1998).

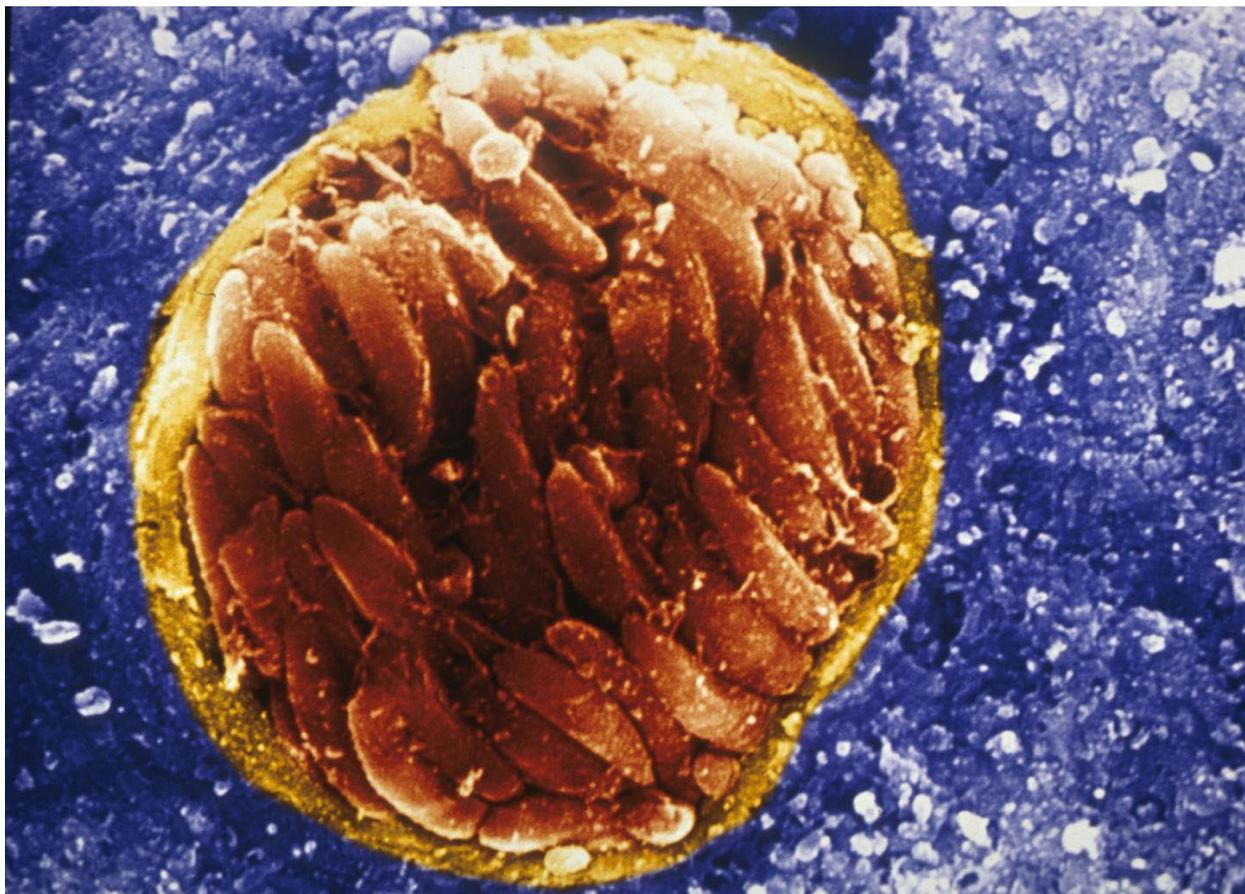
Figura 12: Microscopia eletrônica de transmissão de um bradizoíta de *T. gondii*.



Imagem de Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) mostrando o Bradizoíta dentro do cisto tecidual. Onde: Co, conóide; Dg, grânulo eletrodenso; Mn, micronema; Rh, rópatria; Pm, plasmalema; Am, grânulo de amilopectina; Im, complexo de membrana interna; Go, complexo de Golgi; Ga, adjunto de Golgi (apicoplasto); Mi, mitocôndria; Ce, centríolos; Nu, núcleo (Dubey; Lindsay; Speer, 1998).

O tamanho do cisto tecidual formado pelos bradizoítas é variável, crescendo a partir de um processo de endodiogenia mais lento se comparado a endodiogenia do taquizoíto. Um cisto antigo contendo centenas de bradizoítos será bem maior que um cisto novo, contendo poucos bradizoítos (Dubey; Frenkel, 1976). O *Toxoplasma gondii* apresenta tropismo para tecido neural e muscular, como o cérebro, olhos e músculos estriados esqueléticos e cardíacos, denotando uma prevalência de detecção nesses tecidos. No entanto, também podem ser encontrados em órgãos como pulmões, fígado e rins. Os cistos teciduais dispõem-se de formato esférico, chegando a um máximo de 70 µm de diâmetro, enquanto os cistos localizados em tecido muscular são alongados e podem atingir até 100 µm de comprimento (**Figura 13**). Em um indivíduo imunocompetente, os cistos teciduais raramente causarão algum tipo de dano ao seu hospedeiro, permanecendo intactos durante anos ou até mesmo durante toda a vida do indivíduo infectado, não provocando quaisquer respostas inflamatórias (Black; Boothroyd, 2000; Dubey; Lindsay; Speer, 1998).

Figura 13: cisto tecidual de *Toxoplasma gondii*.



Micrografia eletrônica de varredura colorida artificialmente do protozoário *Toxoplasma gondii* em um cisto tecidual no cérebro de camundongo infectado. Imagem de David Ferguson (TOXOPLASMA GONDII TISSUE CYST, [s. d.]).

1.2.2 Ciclo de vida do *Toxoplasma gondii*

O ciclo de vida do *Toxoplasma gondii* é heteroxênico, ou seja, possui dois ou mais hospedeiros em sua composição. Por entrar na fase reprodutiva sexuada apenas nos felinos, esses são considerados os seus hospedeiros definitivos. Essa fase permite a criação dos oocistos e, conseqüentemente, a sua liberação no ambiente, bem como a sua esporulação (Hill, Dubey, 2002).

No que diz respeito a toxoplasmose humana, o felino é considerado por especialistas no assunto, o hospedeiro mais importante, tendo em vista a proximidade do gato (*Felis catus*) com o ser humano, bem como a sua adaptação ao meio urbano e pelo fato de ser o hospedeiro definitivo do *T. gondii* (Hill, Dubey, 2002). Além disso, o gato doméstico possui uma

soroprevalência de *T. gondii* estimada entre 30 e 40% em todo o mundo, corroborando com a ideia de que de fato o gato doméstico é o principal vetor da toxoplasmose humana (Elmore *et al.*, 2010).

No ciclo de vida do *Toxoplasma gondii*, este pode assumir três formas distintas a depender da etapa em que ele se encontra: a forma esporozoíta, que é a sua forma esporulada, localizada nos oocistos presentes no intestino do vetor ou liberados no ambiente principalmente a partir das fezes do gato; a forma bradizoíta, localizada nos cistos teciduais do hospedeiro intermediários; e a forma taquizoíta, localizada principalmente em células recém infectadas ou na corrente sanguínea do hospedeiro intermediário durante a toxoplasmose aguda (Dubey; Lindsay; Speer, 1998).

A fase reprodutiva assexuada do *T. gondii* ocorre no hospedeiro intermediário e ocorre tanto na fase aguda, quanto na fase crônica da toxoplasmose. Durante a fase aguda, o protozoário está em sua forma taquizoíta, denotando alta taxa proliferativa e infectividade, enquanto na fase crônica da toxoplasmose, o parasito está em sua forma bradizoíta e apresenta taxa de proliferação muito mais lenta (Souza, Wanderley de *et al.*, 2010).

O início do ciclo de vida do *Toxoplasma gondii* no hospedeiro intermediário normalmente se dá a partir da ingestão da forma infectiva do parasito, seja pelos bradizoítas contidos nos cistos teciduais de carnes malcozidas, pelo consumo de alimentos e/ou água contaminados e sem o devido tratamento, ou pelos esporozoítas contidos nos oocistos das fezes do gato (Dubey; Lindsay; Speer, 1998; Rey, 2001). Após o consumo do cisto tecidual, o parasito se desloca por todo o trato gastrointestinal até chegar ao intestino, onde ocorre a liberação dos bradizoítas ingeridos. Ao serem liberados, ambas as formas do *Toxoplasma gondii* diferenciam-se na sua forma mais infectiva: o taquizoíta. Este, por sua vez, invade as células intestinais e atravessam com facilidade a barreira intestinal, levando ao quadro agudo da toxoplasmose (Dubey; Lindsay; Speer, 1998; Ferreira da Silva *et al.*, 2008).

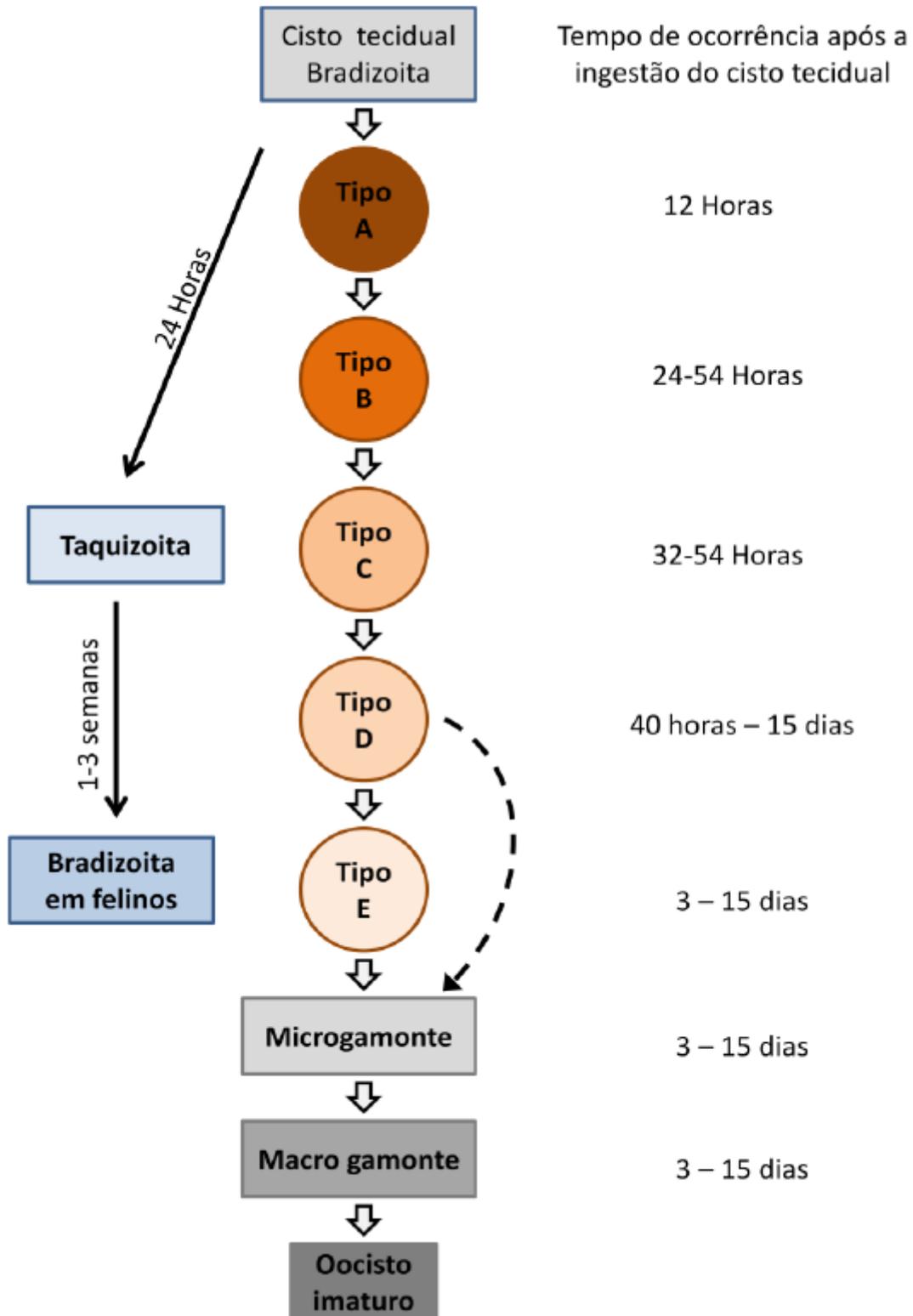
Em contrapartida, o oocisto esporulado quando consumido, libera a forma esporozoíta do *T. gondii* no intestino, que também atravessa a barreira intestinal, difundindo-se pela circulação sanguínea e linfática, diferenciando-se para a forma taquizoíta, levando novamente ao quadro agudo da

toxoplasmose. Após a invasão da primeira célula, o parasito se multiplicará de forma assexuada e acelerada, levando a um acúmulo de taquizoítas intracelulares até que a célula se rompa e gere a liberação de mais taquizoítas na circulação do hospedeiro com o intuito de infectar novas células (Attias *et al.*, 2020).

As células circulantes, como monócitos e macrófagos estão envolvidas na circulação da forma taquizoíta do *Toxoplasma gondii* pelo organismo do hospedeiro (Hide, 2016). Essa forma também é responsável pela transmissão vertical transplacentária, no qual gera o quadro de toxoplasmose congênita no feto da mãe infectada. Entretanto, a ação do sistema imune contém os taquizoítos liberados na corrente sanguínea, que apesar de ter metabolismo mais lento, são mais resistentes a resposta imunológica e alojam-se em cistos teciduais em diversas partes do organismo, dando-se início a fase crônica da toxoplasmose (Dubey; Lindsay; Speer, 1998; Ferreira da Silva *et al.*, 2008; de Souza, *et al.*, 2010).

Já no felino, o ciclo sexual do parasito se inicia, ao ingerir cistos teciduais de animais ou carne infectada, bem como ao ingerir oocistos esporulados a partir do ambiente, o parasito é liberado em seu intestino. O *Toxoplasma gondii* é capaz de infectar os enterócitos para que se multipliquem e se diferenciem-se nos cinco tipos com diferentes morfologias do parasito (tipo A, B C D e E), caracterizando a fase enteroepitelial, que se estende desde o rompimento do cisto no intestino do felino até a etapa anterior a gametogonia. O ciclo sexual do *T. gondii* está indicado na **Figura 14** (Dubey; Frenkel, 1976; Dubey; Lindsay; Speer, 1998; Dubey; Miller; Frenkel, 1970; Hill, Dubey, 2002).

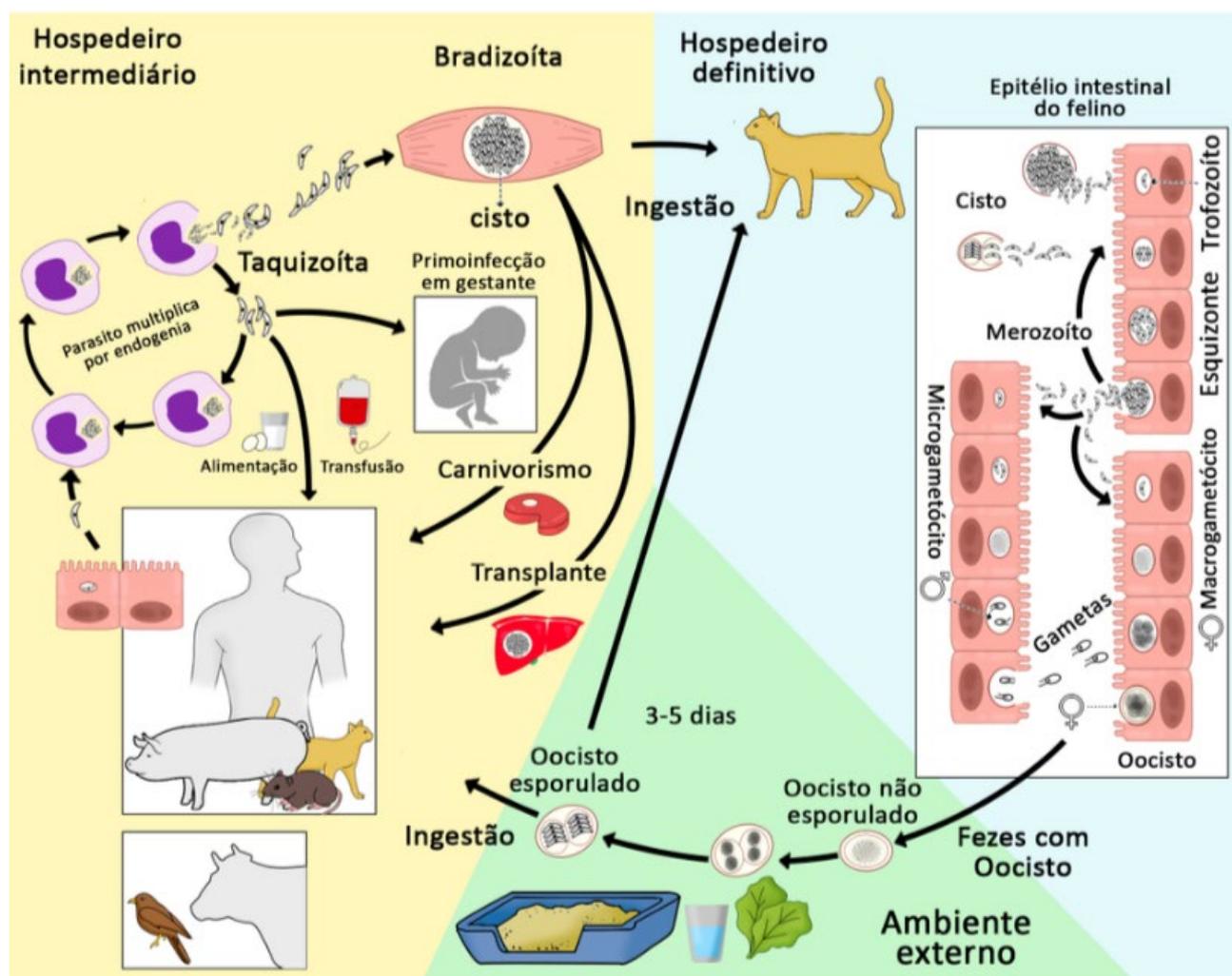
Figura 14: ciclo sexual do *Toxoplasma gondii*.



Esquema do estágio enteroepitelial do ciclo sexual do *T. gondii* demonstrando os estágios de diferenciação A, B, C, D e E, culminando na origem do microgametócito que por sua vez originará os oocistos adultos (Carvalho, 2017)

Após a liberação dos bradizoítas dos cistos, estes invadem as células do intestino delgado e sofrem uma diferenciação, transformando-se em esquizontes. Dentro dos enterócitos, os esquizontes se proliferam de forma assexuada através do ciclo coccidiano clássico, seguido pela diferenciação em macro e microgamontes, que são os estágios dimórficos do desenvolvimento sexual. Os microgamontes fertilizam os macrogamontes, resultando na formação de zigotos diplóides. Estes, por sua vez, desenvolvem-se em oocistos não esporulados, que são excretados nas fezes do gato. A fase sexual prossegue dentro do oocisto, onde ocorre a meiose, seguida de mitose, culminando na produção de esporozoítos infecciosos, conforme indicado na **Figura 15** (Hehl *et al.*, 2015).

Figura 15: o ciclo de vida do *Toxoplasma gondii*.



Representação esquemática do ciclo de vida do *Toxoplasma gondii*. A partir do consumo dos cistos teciduais ou do oocisto, a ocorrerá a liberação de bradizoítas no estômago do hospedeiro ou de esporozoítos em seu intestino, respectivamente. No hospedeiro definitivo, ocorre a diferenciação

entre taquizoítos e gametócitos. Os gametócitos por sua vez, sofrem fusão, gerando o zigoto que amadurecerá em um oocisto que posteriormente será eliminado pelas fezes do hospedeiro. Já no hospedeiro intermediário, entretanto, os bradizoítas ou esporozoítas diferenciam-se em taquizoítos e invadem o tecido epitelial do trato digestório, em especial, o intestinal. Realizada a invasão, os taquizoítos se multiplicam por endodiogenia, resultando na lise do vacúolo parasitóforo e posteriormente da célula parasitada inicialmente, ocorre a liberação dos taquizoítas na corrente sanguínea do hospedeiro intermediário. Após a intervenção do sistema imune do hospedeiro, os taquizoítas diferenciam-se em bradizoítas, se conformando em cistos teciduais (ATLAS VIRTUAL DE PARASITOLOGIA, [s. d.]).

1.2.3 Manifestações clínicas da toxoplasmose

Apesar da toxoplasmose ser uma patologia de alta prevalência em todo o mundo, as manifestações clínicas da doença são raras, visto que após a fase aguda, o parasito é capaz de encistar-se nos tecidos do hospedeiro tendendo a evitar resposta imunológica, impedindo então na maioria das vezes, o aparecimento de sintomas em indivíduos imuno competentes (Hui Goh et al, 2022).

Gestantes que contraíram a toxoplasmose apresentam cerca de 40% de chance de realizar a transmissão vertical para o feto, através da passagem do parasito pela barreira placentária (Boyer, 2000; Hide, 2016). Vale ressaltar que a chance de transmissão da toxoplasmose congênita é diretamente proporcional a idade gestacional a partir do momento que a gestante é infectada, conforme mostrado na **Tabela 1**, apresentando em média 17% de chance de transmissão vertical durante o primeiro trimestre de gestação, 25% no segundo trimestre e 65% no terceiro trimestre. Entretanto, as chances de manifestação clínica são inversamente proporcionais a idade gestacional, bem como a agressividade da doença, variando de 75% a 12% em 12 semanas e 40 semanas de gestação, respectivamente (Boyer, 2000).

Tabela 1: taxa de transmissão transplacentária a partir da idade gestacional em que ocorreu a infecção.

Idade Gestacional na qual ocorreu a soroconversão (semanas)	Chance de transmissão transplacentária	Risco de desenvolvimento de sinais clínicos antes dos três anos de idade
12	6%	75%
16	15%	55%
20	18%	40%
24	30%	33%
28	45%	21%
32	60%	18%
36	70%	15%
40	80%	12%

Adaptado de Pinard; Leslie; Irvine, 2003.

Cerca de 85% dos recém-nascidos que contraíram a toxoplasmose congênita não apresentam sintomas aparentes durante o nascimento, apesar de que, após uma análise aprofundada, é possível evidenciar alterações como restrição no crescimento intrauterino, cicatrizes de retinocoroidite, prematuridade e anormalidades liquóricas (Remington *et al.*, 2011). Quando manifestados, os sinais clínicos podem ser encontrados durante o período neonatal e durante os primeiros meses de vida, tendo a possibilidade de surgirem sequelas da toxoplasmose não diagnosticada durante a adolescência ou fase adulta do indivíduo. Essas manifestações podem ocorrer de maneira diversa e inespecífica, indo desde hidrocefalia e calcificações cerebrais a retinocoroidite e surdez (Aleixo *et al.*, 2016; Remington *et al.*, 2011).

Estima-se que aproximadamente 70% dos indivíduos que nasceram com a toxoplasmose congênita irão apresentar lesões oculares em algum momento de sua vida, visto que normalmente essa variação da toxoplasmose apresenta-se de forma subaguda ou crônica, de modo que o parasito se instala em todos os órgãos, mas apresentando uma tendência maior de tropismo para tecidos nervosos e retinianos (Aleixo *et al.*, 2016; Remington *et al.*, 2011).

É interessante ressaltar que as características clínicas apresentadas neste estudo foram descritas a partir de estudos originários da Europa ou dos Estados Unidos da América. Entretanto, estudos voltados ao público

brasileiro demonstram que a manifestação de lesões oftalmológicas é frequentemente vista já a partir do nascimento, atingindo em média 80% dos recém-nascidos. Ademais, as manifestações clínicas observadas apresentam uma agressividade maior que as observadas em estudos norte-americanos e europeus e isso se deve, provavelmente, ou a exposição a cepas mais virulentas do *T. gondii* ou a maior suscetibilidade da população à doença. Por conta disso, nos últimos anos, está sendo priorizada a detecção precoce de manifestações clínicas oftalmológicas, bem como ao acompanhamento clínico de longo prazo das crianças infectadas pelo parasito (Phan *et al.*, 2008).

1.3 Toxoplasmose x Junções celulares

Dentro do espectro de infecções parasitárias, a toxoplasmose se destaca, particularmente no que tange às junções celulares (de Carvalho *et al.*, 1998). O parasita *Toxoplasma gondii*, ao invadir as células, induz modificações que promovem sua própria preservação (Seabra; De Souza; DaMatta, 2002). Pesquisas indicaram que o complexo juncional, especificamente as junções de adesão, sofre alterações em células epiteliais retinianas em resposta à infecção por *Toxoplasma gondii*, evidenciando as perturbações na homeostase celular provocadas pelo organismo parasitário (Nogueira *et al.*, 2016)

Pesquisas atuais revelaram que a infecção por *T. gondii* resulta na redução das microvilosidades na superfície das células Caco-2, que são derivadas de adenocarcinoma colorretal, durante a análise de alterações morfológicas e fisiológicas. Observou-se também uma queda nos níveis de Claudina-1 e Zonula Occludens-1 (ZO-1), além de padrões irregulares na expressão de Ocludina em células afetadas. Esses achados sugerem que a infecção pelo *Toxoplasma gondii* pode comprometer a integridade da mucosa intestinal, afetando a função de barreira e reduzindo a resistência elétrica transepitelial nas células Caco-2 após 24 horas de infecção, reforçando a ideia de que o parasito provoca alterações na homeostase celular (Briceño *et al.*, 2016).

Além disso, o *T. gondii* é capaz de afetar também as junções comunicantes, conforme descrito por de Carvalho e colaboradores em 2021. Nesse estudo foi realizada a análise morfológica e de expressão da conexina-43 em células da linhagem macrofágica J774-G8. Nesse estudo foi possível observar a diminuição da localização da conexina-43 na membrana plasmática do modelo celular estudado após 72 horas de infecção, porém com diminuição significativa em sua expressão já observada em 24 e 48 horas após a interação parasitária.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivos gerais

Analisar e sintetizar as evidências científicas disponíveis sobre os efeitos do parasita *Toxoplasma gondii* nas junções oclusivas e aderentes, com o intuito de contribuir para o entendimento da patologia no que tange aos seus efeitos em junções do complexo de adesão.

2.2 Objetivos específicos

De modo que se cumpram os objetivos gerais da presente dissertação, foram traçados os seguintes objetivos específicos:

- Identificar e catalogar os principais estudos que descrevem os efeitos do *Toxoplasma gondii* nas junções oclusivas e aderentes em diferentes tipos celulares e tecidos;
- Examinar as metodologias utilizadas nos estudos selecionados para avaliar os efeitos do *T. gondii*, com foco em técnicas de imagem, bioquímica e análise molecular;
- Comparar e contrastar os resultados dos estudos para determinar padrões consistentes e discrepâncias nas alterações induzidas pelo *T. gondii* nas junções oclusivas e aderentes.

3 METODOLOGIA

Para a parte introdutória e de revisão de literatura do presente trabalho, foi utilizada a modalidade de revisão narrativa, no qual, o autor do trabalho escolhe quais artigos serão utilizados para compor o referencial teórico deste. A modalidade de estudo de revisão narrativa, ao contrário da revisão integrativa não requer uma abordagem de pesquisa sistemática e não possui uma estratégia de busca específica voltada para a identificação de estudos de interesse (Demiris; Oliver; Washington, 2019).

Para o embasamento do presente trabalho, foi realizada a revisão integrativa da literatura, descrita em seis etapas (**Figura 16**). Esta modalidade de revisão de literatura requerem uma abordagem sistemática transparente e rigorosa (Toronto; Remington, 2020). Tais revisões consistem em metodologia ampla e amostragem diversificada, que pode incluir estudos experimentais, teóricos, ou ambos, para que se obtenha uma compreensão abrangente do tema em estudo (de Souza; Silva; Carvalho, 2010). Neste caso, a escolha da modalidade de revisão integrativa da literatura proporciona uma análise ampla dos efeitos do *Toxoplasma gondii* em junções do complexo de adesão, mais especificamente, junções oclusivas e aderentes.

Uma revisão integrativa analisa um fenômeno de interesse de forma mais ampla do que uma revisão sistemática e permite pesquisas diversas, que podem conter literatura teórica e metodológica para abordar o objetivo da revisão. Esta abordagem apoia uma ampla gama de investigações, tais como definição de conceitos, revisão de teorias ou análise de questões metodológicas (Toronto; Remington, 2020).

Figura 16: As seis etapas do processo de revisão integrativa.



(Adaptado de: Toronto; Remington, 2020)

3.1 Descrição das etapas da revisão integrativa segundo Toronto, et al. (2020)

3.1.1 Formulação do objetivo e/ou questões de revisão

O começo do processo de revisão integrativa se dá pela identificação clara de um problema ou lacuna na literatura. Tal conceito de interesse relacionado a pesquisa precisa ser claramente definido, assim como o contexto em que se encontra o objeto de interesse dessa pesquisa, com o intuito de trazer justificativa e relevância para a questão. É de vital importância que tanto o propósito da pesquisa, quanto o questionamento em si sejam amplos e bem definidos, uma vez que informam os padrões de investigação e os procedimentos de recolha de dados utilizados na revisão.

Para a formulação da questão da presente revisão, foi utilizada a estratégia PICO. O método PICO é um acrônimo das palavras 'População', 'Intervenção', 'Comparação' e 'Resultado' (do inglês 'Outcome') (**Quadro 1**). (Santos; Pimenta; Nobre, 2007)

Quadro 1: definição do acrônimo PICO

Acrônimo	Definição	Descrição
P	Paciente ou problema	Pode ser um único paciente, um grupo de pacientes com uma condição particular ou um problema de saúde.
I	Intervenção	Representa a intervenção de interesse, que pode ser terapêutica, preventiva, diagnóstica, prognóstica, administrativa ou relacionada a assuntos econômicos.
C	Controle ou comparação	Definida como uma intervenção padrão, a intervenção mais utilizada ou nenhuma intervenção.
O	Resultado ("outcomes")	Resultado esperado.

(Adaptado de: Santos; Pimenta; Nobre, 2007)

Tendo em vista que a presente revisão possui o objetivo de entender o comportamento das junções aderentes e oclusivas mediante a interação com *T. gondii*, a seguinte pergunta foi formulada: Como se comportam as junções oclusivas e aderentes em diversas linhagens celulares mediante

interação direta e/ou indireta por *Toxoplasma gondii*? Dentro da proposta do método PICO, a população, intervenção, comparação e resultados foram definidas conforme o **Quadro 3**, assim como seus respectivos descritores de acordo com os tesouros e as bases de dados selecionadas aos quais estão relacionadas.

Quadro 2: estratégia PICO aplicada a pergunta "Como se comportam as junções oclusivas e aderentes em diversas linhagens celulares mediante infecção por *Toxoplasma gondii*?"

Como se comportam as junções oclusivas e aderentes em diversas linhagens celulares mediante infecção por <i>Toxoplasma gondii</i> ?				
Acrônimo	Termos relacionados a pergunta	Descritores (Base de dados / tesouro)		
		BVS / DeCS	PubMed / MeSH	Science Direct / MeSH
P - População	Linhagens celulares	Principal: Linhagem celular Alternativo: Linhagens celulares	Principal: Cell line Alternativo: Cell lines	Principal: Cell line Alternativo: Cell lines
I - Intervenção	Infecção por <i>Toxoplasma gondii</i>	Principal: Toxoplasmose Alternativo: Infecção por <i>Toxoplasma gondii</i>	Principal: Toxoplasmosis Alternativo: <i>Toxoplasma gondii</i> infection	Principal: Toxoplasmosis Alternativo: <i>Toxoplasma gondii</i> infection
C - Comparação	Controle e Infectado	Não se aplica	Não se aplica	Não se aplica
O - Resultado	Comportamento das junções oclusivas e aderentes	Principal: Junções Íntimas Alternativo: Junções Estreitas, Junções Oclusivas, Zônula de Oclusão Principal: Junções Aderentes Alternativo: Zônula Aderente, Zônula Adherens, Zônula Intermediária	Principal: Tight Junctions Alternativo: Tight Junction, Zonula Occludens, Zonula Occluden, Occluding Junctions, Occluding Junction Principal: Adherens Junctions Alternativo: Adherens Junction, Zonula Adherens	Principal: Tight Junctions Alternativo: Tight Junction, Zonula Occludens, Zonula Occluden, Occluding Junctions, Occluding Junction Principal: Adherens Junctions Alternativo: Adherens Junction, Zonula Adherens

3.1.2 Pesquisa e seleção sistemática da literatura

Para o desenvolvimento da presente revisão integrativa, foram utilizadas para a pesquisa de literatura, o total de 3 bibliotecas de base de dados: Biblioteca Virtual em Saúde (BVS), PubMed e ScienceDirect. Os descritores foram utilizados conforme o **Quadro 2**, tendo como base seus descritores principais e alternativos. Também foram utilizados os operadores lógicos “OR” quando o objetivo é integrar descritores de uma mesma categoria e “AND” para categorias diferentes. Isto possibilitou as seguintes sentenças de busca para a BVS e PubMed: ("cell line" OR "cell") AND (Toxoplasmosis OR "Toxoplasma gondii infection" OR "Toxoplasma gondii" OR "T. gondii") AND ("Tight junction" OR ZO OR claudin OR occludin OR tricellulin OR "Zonula Occluden" OR "Occluding junction") para pesquisas focadas em junções oclusivas e ("cell line" OR "cell") AND (Toxoplasmosis OR "Toxoplasma gondii infection" OR "Toxoplasma gondii" OR "T. gondii") AND (“Adherens junctions” OR “Adherens junction” OR “Zonula adherens” OR Cadherin OR Catenin) para pesquisas focadas em junções aderentes. Para a biblioteca de base de dados ScienceDirect foram formadas as seguintes sentenças de

busca: ("cell") AND ("Toxoplasma gondii") AND ("Tight junction" OR ZO OR claudin OR occludin OR tricellulin OR "Zonula Occluden" OR "Occluding junction") para pesquisas focadas em junções oclusivas e ("cell") AND ("Toxoplasma gondii") AND ("Adherens junctions" OR "Adherens junction" OR "Zonula adherens" OR Cadherin OR Catenin) para pesquisas focadas em junções aderentes.

Cada biblioteca de bases de dados demandou um tipo de filtro de busca próprio para que fossem atendidos os critérios de inclusão e exclusão. Para a BVS, foi utilizado o filtro 'Texto Completo'; para a PubMed, foi utilizado o filtro 'Free Full Text'; enquanto para a ScienceDirect foram utilizados os filtros 'Research Articles' e 'Open Access & Open Archive'.

Para o presente estudo foram adotados os seguintes critérios de inclusão: 1) estudos experimentais in vitro; 2) apenas artigos científicos; 3) publicação no idioma inglês ou português; 4) textos completos de acesso aberto e gratuito. Quanto aos critérios de exclusão para o estudo, foram usados: 1) artigos duplicados da mesma biblioteca ou de bibliotecas distintas; 2) quaisquer tipos de estudos revisionais; 3) capítulos de livros, dissertações, teses e outros trabalhos acadêmicos que não sejam artigos científicos; 4) estudos que não incluem o tema de interesse no título ou resumo; 5) estudos que não contenham modelos que sejam células em cultura.

3.1.3 Análise e síntese

Uma revisão integrativa requer uma análise e integração de uma grande quantidade de dados descritos na literatura a fim de gerar uma nova perspectiva sobre um determinado tópico ou assunto. Para tal, se faz necessário o uso de métodos que objetivam extrair o conteúdo dos trabalhos e correlacioná-los, de modo que sejam evidenciados similaridades e contrastes entre estes. Na presente revisão, serão utilizados tabelas e quadros para análise do conteúdo dos artigos incluídos, objetivando a síntese dos conhecimentos obtidos durante a pesquisa da literatura. As duplicatas serão removidas com a utilização do software organizador de referências Zotero.

3.1.4 Discussão e conclusão

Os achados de uma revisão integrativa primeiramente devem ser discutidos de forma comparativa com a literatura. Neste tópico, será evidenciado a presença de lacunas e padrões encontrados durante a pesquisa, sendo feitas observações acerca das limitações do presente estudo, assim como recomendações para que as lacunas encontradas durante a investigação sejam preenchidas futuramente. Já a conclusão, consiste em um resumo conciso sobre todos os achados do trabalho, evidenciando a sua contribuição para a comunidade científica, assim como mostrar perspectivas futuras sobre o assunto de interesse.

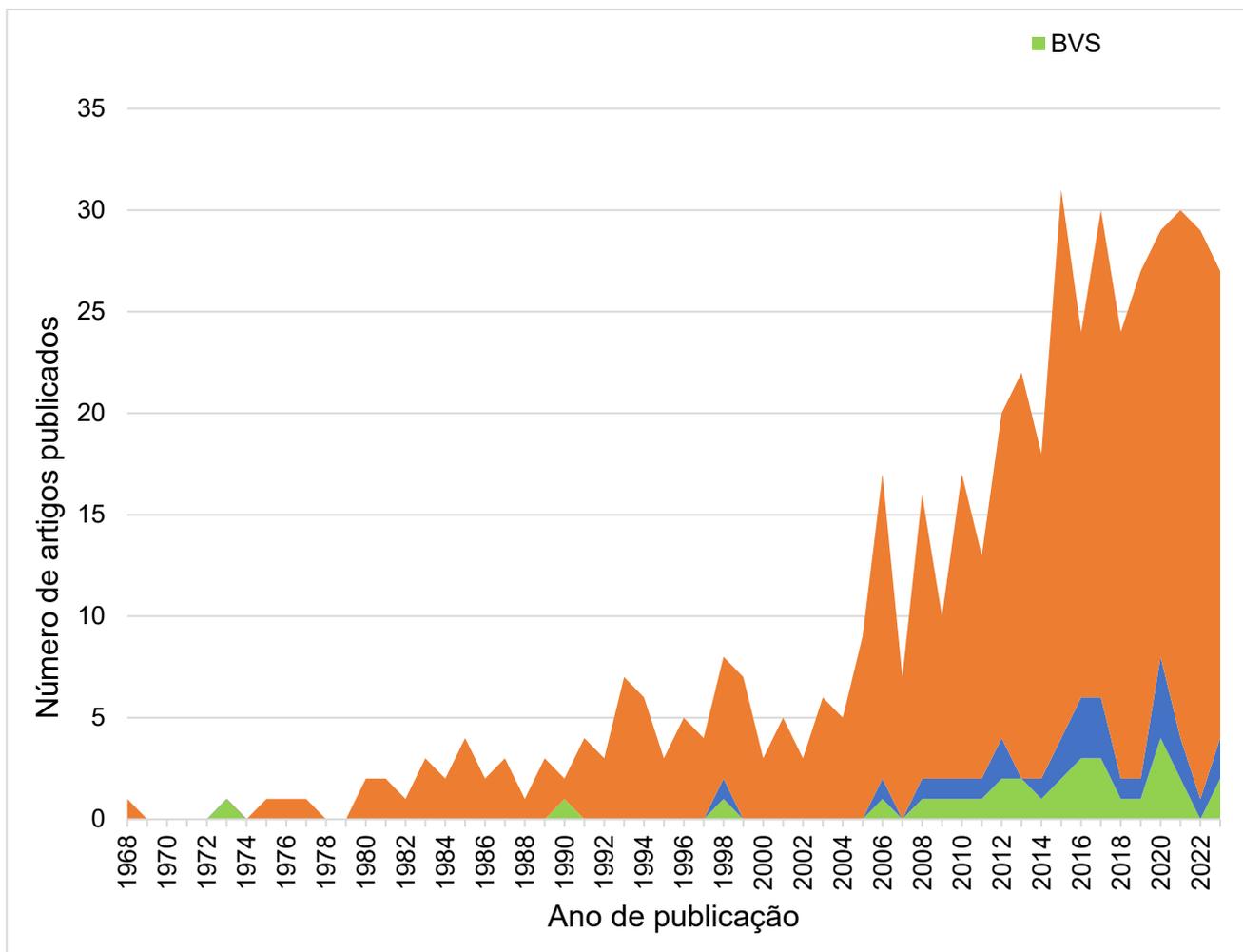
No presente trabalho, a discussão e conclusão abordaram uma comparação entre os efeitos do *T. gondii* sobre junções oclusivas e aderentes em relação aos efeitos causados por outros protozoários nestas mesmas junções.

4 RESULTADOS

A partir da inclusão das sentenças de busca nas bibliotecas de bases de dados, foi possível observar um crescimento do número de publicações científicas ao decorrer do tempo em ambos os temas de busca (célula e *T. gondii* mais junções oclusivas ou junções aderentes). **(Gráfico 1 e Gráfico 2)**

As publicações com foco em junções ocludentes começaram a partir do ano de 1968, com uma publicação na ScienceDirect, tendo seu primeiro grande aumento de publicações em 2006, com um total de 17 publicações nas três bibliotecas, atingindo seu ápice em 2015, com 31 publicações nas três bibliotecas, sendo 27 artigos publicados na ScienceDirect, 2 artigos publicados no PubMed e 2 artigos publicados na BVS. Até o presente momento, 2023 teve um total de 27 publicações, sendo 23 na ScienceDirect, 2 no PubMed e 2 na BVS. Vale ressaltar que apenas em 1973 houve a primeira publicação da BVS, enquanto somente em 1998 teve a primeira publicação no PubMed. **(Gráfico 1)**

Gráfico 1. Número de artigos com foco em junções ocludentes encontrados no período de 1968 a 2023, após a inclusão das sentenças de busca nas bibliotecas de bases de dados do PubMed, BVS e ScienceDirect.

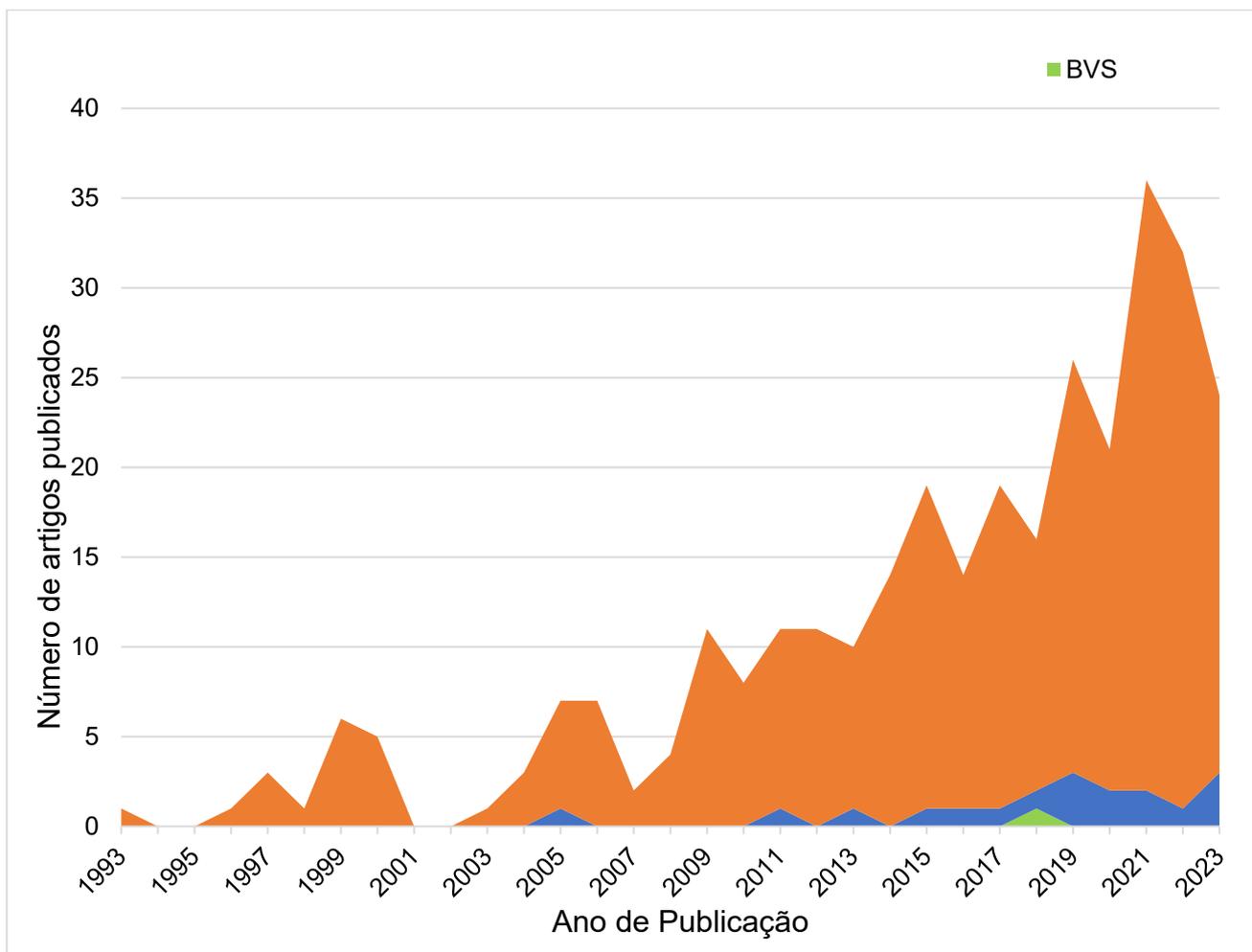


É possível verificar que a biblioteca de base de dados ScienceDirect obteve o maior número de publicações e demonstrou uma tendência de aumento nas três bibliotecas de bases de dados a partir do ano de 2006, apresentando três aumentos significativos de publicações: no ano de 2006 com 17 publicações, no ano de 2012, com 20 publicações e em 2015, com 31 publicações.

As publicações com foco em junções aderentes começaram a partir do ano de 1993, com uma publicação na ScienceDirect, tendo seu primeiro grande aumento de publicações em 2015, com um total de 19 publicações nas três bibliotecas, atingindo seu ápice em 2021, com 32 publicações nas três bibliotecas, sendo 34 artigos publicados na ScienceDirect e 2 artigos publicados no PubMed. Até o presente momento, 2023 teve um total de 24 publicações, sendo 21 na ScienceDirect e 3 no PubMed. Vale ressaltar que

apenas em 2005 houve a primeira publicação no PubMed, enquanto somente em 2018 teve a primeira e única publicação na BVS. **(Gráfico 2)**

Gráfico 2: Número de artigos com foco em junções aderentes encontrados no período de 1993 a 2023, após a inclusão das sentenças de busca nas bibliotecas de bases de dados do PubMed, BVS e ScienceDirect.



É possível verificar que a biblioteca de base de dados ScienceDirect obteve o maior número de publicações e demonstrou uma tendência de aumento nas três bibliotecas de bases de dados a partir do ano de 2008, apresentando um aumento gradual, com aumento expressivo a partir de 2020, com 21 publicações nas três bibliotecas, atingindo seu ápice em 2022, com 32 publicações totais.

A partir do uso das sentenças de busca e seus respectivos filtros a partir das bibliotecas de bases de dados escolhidas, no que tange os estudos focados em junções oclusivas, foi obtido um total de 267 publicações, sendo 31 originários da BVS, 28 do PubMed e 208 da ScienceDirect. Após aplicar os critérios de inclusão, foi obtido um total de 97 estudos, 21 da BVS, 19 do PubMed e 57 da ScienceDirect, totalizando 170 artigos excluídos. Após a

leitura do título e resumo, aplicando-se critérios de exclusão para selecionar as publicações relevantes para o presente estudo, obteve-se um valor total de 47 publicações, sendo 16 da BVS, 14 do PubMed e 16 da ScienceDirect. Então foi realizada a exclusão de duplicatas, gerando um total de 27 publicações das três bibliotecas de bases de dados a serem analisadas para leitura completa. Por fim, após a leitura completa dos artigos, aplicando os mesmos critérios de exclusão, foram selecionados um total de 7 estudos, gerando assim a amostra final de artigos para a constituição da presente revisão integrativa (**Tabela 2**).

Bibliotecas de base de dados	Estudos encontrados	Estudos disponíveis gratuitamente	Estudos encontrados após leitura de título e resumo	Estudos encontrados após leitura completa
BVS	31	21	16	6
PubMed	28	19	14	5
ScienceDirect	208	57	16	2
Total	267	97	46	7

Onde: BVS: Biblioteca Virtual em Saúde.

A partir do uso das sentenças de busca e seus respectivos filtros a partir das bibliotecas de bases de dados escolhidas, no que tange os estudos focados em junções aderentes, foi obtido um total de 125 publicações, sendo 1 originária da BVS, 18 do PubMed e 106 da ScienceDirect. Após aplicar os critérios de inclusão, foi obtido um total de 54 estudos, sendo apenas 1 da BVS, 14 do PubMed e 39 da ScienceDirect, totalizando 71 artigos excluídos. Após a leitura do título e resumo, aplicando-se critérios de exclusão para selecionar as publicações relevantes para o presente estudo, obteve-se um valor total de 23 publicações, sendo 1 da BVS, 11 do PubMed e 11 da ScienceDirect. Então foi realizada a exclusão de duplicatas, gerando um total de 22 publicações das três bibliotecas de bases de dados a serem analisadas para leitura completa. Por fim, após a leitura completa dos artigos, aplicando os mesmos critérios de exclusão, foram selecionados um total de 3 estudos, gerando assim a amostra final de artigos para a constituição da presente revisão (**Tabela 3**).

Após a aplicação das sentenças de busca nas bibliotecas de bases de dados, dos critérios de inclusão e exclusão, 7 publicações com foco em

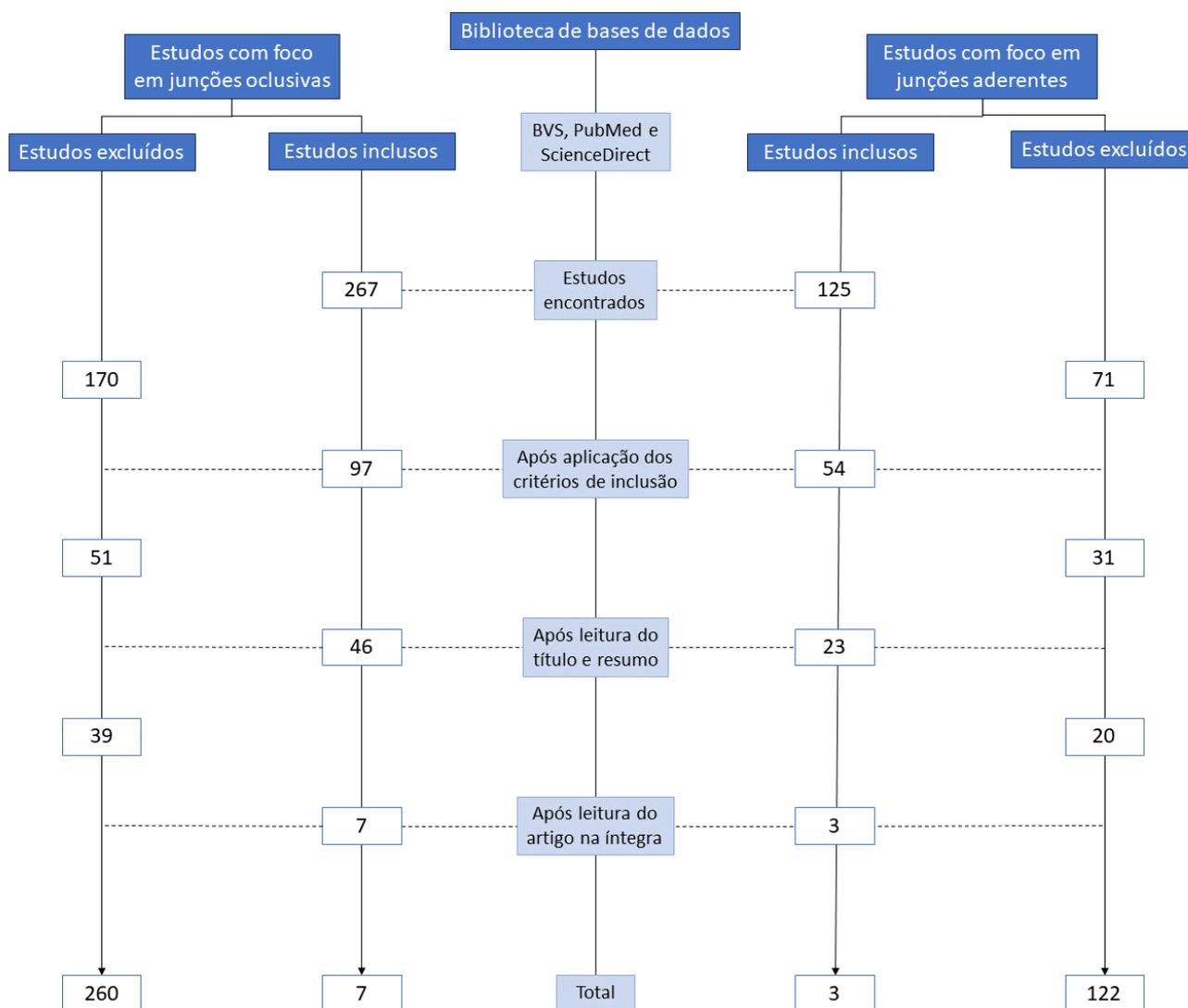
junções oclusivas e 3 publicações com foco em junções aderentes foram escolhidas para compor a amostra final do presente trabalho. O **Quadro 3** contém todos os estudos eleitos com foco em junções oclusivas, enquanto o **Quadro 4** contém os estudos eleitos com foco em junções aderentes. Estes quadros contém os modelos experimentais usados diante a infecção por *T. gondii*, a cepa do parasito, os métodos aplicados nos trabalhos, as condições de exposição ao parasito, assim como os principais resultados que evidenciam os efeitos nas junções oclusivas e aderentes nas células utilizadas no estudo em questão, desprezando quaisquer outros resultados abordados nos respectivos estudos.

Bibliotecas de base de dados	Estudos encontrados	Estudos disponíveis gratuitamente	Estudos encontrados após leitura de título e resumo	Estudos encontrados após leitura completa
BVS	1	1	1	0
PubMed	18	14	11	2
ScienceDirect	106	39	11	1
Total	125	54	23	3

Onde: BVS: Biblioteca Virtual em Saúde.

Na figura abaixo (**Figura 17**) são ilustrados em um fluxograma todos os processos de inclusão e exclusão dos artigos selecionados para o presente estudo.

Figura 17: Fluxograma do processo de seleção dos artigos do presente estudo, dividido pelo enfoque principal.



Para a seleção dos artigos utilizados no presente estudo, foram utilizadas 3 bibliotecas de bases de dados. São elas: BVS, PubMed e ScienceDirect. A busca se dá a partir da inserção das sentenças de busca, seguida da aplicação dos critérios de inclusão, leitura do título e resumo e, por fim, a seleção dos artigos após leitura na íntegra.

Quadro 3: Estudos *in vitro* evidenciando os efeitos da infecção por *Toxoplasma gondii* em junções ocludentes

Estudo	Células ou animais utilizados	Cepa <i>T. gondii</i>	Métodos	Condições de exposição	Principais resultados
(Briceño <i>et al.</i> , 2016)	Caco-2	2F1	Microscopia óptica confocal a laser; Imunofluorescência; Imunoblotting.	Infecção após 24h de condicionamento do meio DMEM + 2% SFB; Proporção parasito:célula de 5:1; Incubação inicial de 3h, seguida de incubação com DMEM fresco por 24h após lavagem das células.	Imunofluorescência: Redução de claudina-1, ZO-1 e ocludina e descontinuidade de padrão de rede após 24h de infecção; Parasitas observados dentro das células, próximas a proteínas de TJ e em áreas colocalizadas com o padrão descontínuo de TJs; Acúmulo de proteínas de TJ na região citoplasmática da célula. Imunoblotting: Redução da expressão de ocludina e ZO-1 após 24h de infecção; Níveis de claudina-1 similares ao controle não-infectado após 24h de infecção.
(El Saffawy <i>et al.</i> , 2023)	90 camundongos suíços de 10 a 12 semanas de idade, com peso entre 60 e 80g; Seções seriadas da região íleo 1 do intestino delgado.	ME-49	Imuno-histoquímica	Inoculação de 10 ² oocistos/2ml; Eutanásia dos camundongos infectados depois de uma semana pós-infecção.	No grupo controle saudável, a claudina-1 foi amplamente expressa no epitélio entérico; Em comparação ao grupo controle, os subgrupos infectados e não tratados apresentaram baixo valor médio de células positivas para marcação de claudina-1;

					<p>Nos subgrupos infectados e não tratados, as células epiteliais positivas para claudina-1 foram encontradas espalhadas;</p> <p>A expressão de claudina-1 mostrou uma correlação inversa a carga parasitária.</p>
(Geiller <i>et al.</i> , 2023)	ARPE-19 U-118 MG HMC3 Células de Muller	RH	Microscopia óptica confocal a laser.	<p>Proporção de infecção parasito:célula de 1:1;</p> <p>Não foi especificado o tempo de incubação com o parasito para a análise de ZO-1 para os experimentos de microscopia óptica confocal a laser.</p>	<p>Infecção por <i>T. gondii</i> no modelo de barreira hemato-retina externa demonstrou o aumento de expressão localizada de ZO-1;</p> <p>A infecção pelo parasito também gerou um padrão descontínuo de ZO-1, sugerindo a reorganização do perfil juncional da membrana mediante a infecção por <i>Toxoplasma gondii</i>.</p>
(Holthaus <i>et al.</i> , 2020)	Monocamadas de organoides intestinais derivados de células-tronco isoladas de criptas intestinais de camundongos.	RH	<p>Imunofluorescência;</p> <p>Microscopia óptica confocal a laser;</p> <p>RT-qPCR</p>	<p>Proporção de infecção parasito:célula de 25:1;</p> <p>Tempo de incubação de 48 horas</p>	<p>No ensaio de RT-qPCR, a infecção por <i>T. gondii</i> não demonstrou mudanças transcricionais significativas de ZO-1, Ocludina, Claudina-1, Claudina 2 e Claudina-7 em ODMs de camundongos;</p> <p>A imunofluorescência das proteínas de TJ infectadas <i>T. gondii</i> não mostraram efeito aparente nas proteínas de TJ de ODMs derivados de camundongos.</p>
(Marcos <i>et al.</i> , 2020)	bEnd.3	ME-49	<p>Imunofluorescência;</p> <p>Visualização em microscopia de contraste</p>	Após atingir confluência, as células endoteliais foram tratadas com meio	Nas células controle, ZO-1 estava distribuído uniformemente, com maior concentração nas áreas de contato célula-célula;

			interferencial diferencial com o sistema Apotome de fluorescência.	condicionado de glia radial (RG-CM) não infectado, infectado após 22 horas (Inf-RG-CM) e Inf-RG-CM conjugado a TGF- β 1, incubados por 24 horas.	<p>Observou-se um aumento de 36% na intensidade de marcação de ZO-1 e 90% de aumento na taxa de organização de TJ após incubação com RG-CM por 24 horas;</p> <p>Nas células incubadas com Inf-RG-CM, observa-se uma diminuição de 40% na intensidade de marcação, bem como um padrão descontínuo de marcação, se comparado com o controle. Não foi observada diferença significativa no grau de organização de TJ;</p> <p>Células tratadas controle tratadas com TGF-β1 apresentaram maior intensidade de marcação se comparadas ao controle não tratado;</p> <p>Nas células tratadas com Inf-RG-CM + TGF-β1 apresentaram um resgate da marcação de ZO-1 se comparado às células apenas tratadas com Inf-RG-CM.</p>
(Ramírez-Flores et al., 2021)	MDCK	RH	<p>Imunofluorescência;</p> <p>Microscopia óptica confocal a laser;</p> <p>Microscopia eletrônica de varredura;</p> <p>Microscopia eletrônica de transmissão;</p>	As células em monocamada foram expostas a Produtos excretados e secretados por <i>T. gondii</i> (ESPs) a uma concentração de 10 μ g/ml nos intervalos de tempo	Observa-se redução significativa de marcação de ZO-1, claudina e ocludina após o tratamento com os ESPs, bem como uma descontinuação no padrão dessas proteínas na membrana e acúmulo de ZO-1 na região citoplasmática;

			<p>Western Blotting.</p> <p>de 30 minutos, 1, 2 e 4 horas;</p> <p>Para a avaliação dos efeitos de inibidores de protease, EGTA e Fenantrolina foram utilizados como tratamento prévio ao tratamento com as ESPs</p> <p>Para a avaliação dos efeitos de inibidores de endocitose, dois inibidores de dinamina foram utilizados como tratamento prévio ao tratamento às ESPs: Dyngo e Dynasore</p>	<p>Os ESPs induzem o erro de localização das proteínas que compõem as TJ;</p> <p>O tratamento prévio com os inibidores de protease bloqueia a ruptura das proteínas de TJ após o tratamento com as ESPs</p> <p>O tratamento prévio com os inibidores de endocitose impediu as modificações de localização nas proteínas de TJ causadas pelas ESPs, mantendo-as em seu local morfofuncional: na região periférica das células.</p>	
(Song <i>et al.</i> , 2017)	ARPE-19; THP-1.	PTG	<p>Imunofluorescência;</p> <p>Western Blotting;</p> <p>Inibição da ativação de FAK.</p>	<p>Taquizoítos foram adicionados a cultura de THP-1 a uma densidade de 10^6 células/ml a uma proporção de 2:1 parasito:célula;</p> <p>THP-1 infectada e o sobrenadante resultante da infecção da THP-1 foram aplicadas ao modelo barreira hemato-retiniana constituída por células de linhagem ARPE-19 cultivada em transpoços.</p>	<p>A exposição de ARPE-19 aos monócitos infectados resultou na ruptura de ZO-1, denotando um padrão granular se comparado ao controle;</p> <p>A imunomarcação de ZO-1 revelou que o padrão de localização de ZO-1 associado à membrana foi preservado em células RPE tratadas com sobrenadantes de células THP-1 não infectadas ou com <i>T. gondii</i> inativado pelo calor, mas perdido em células RPE tratadas com sobrenadantes de células THP-1 infectadas;</p> <p>A imunomarcação de ZO-1 na monocamada de</p>

					<p>RPE mostrou que o padrão de expressão de ZO-1 associado à membrana foi preservado em células RPE tratadas com inibidor FAK;</p> <p>A adição do inibidor FAK atenuou a perda de integridade em células RPE causada pela adição de sobrenadante de células THP-1 infectadas e restaurou a diminuição da expressão das proteínas de ZO-1 e ocludina causadas pela interação da ARPE-19 com as THP-1 infectadas</p>
--	--	--	--	--	--

A partir da elaboração do quadro 4, é possível extrair quatro gráficos, que analisam 4 pontos presentes nos 7 artigos selecionados após a leitura completa: o modelo utilizado, tal qual a origem desses modelos, a cepa de *Toxoplasma gondii* e as metodologias empregadas nos respectivos estudos. Abaixo é possível observar os modelos utilizados nos estudos destacados (**Gráfico 3**). No total, foram utilizados 10 modelos diferentes para os estudos dos efeitos de *T. gondii* em proteínas de TJ, sendo o mais prevalente, a célula de linhagem de retina ARPE-19 (n=2).

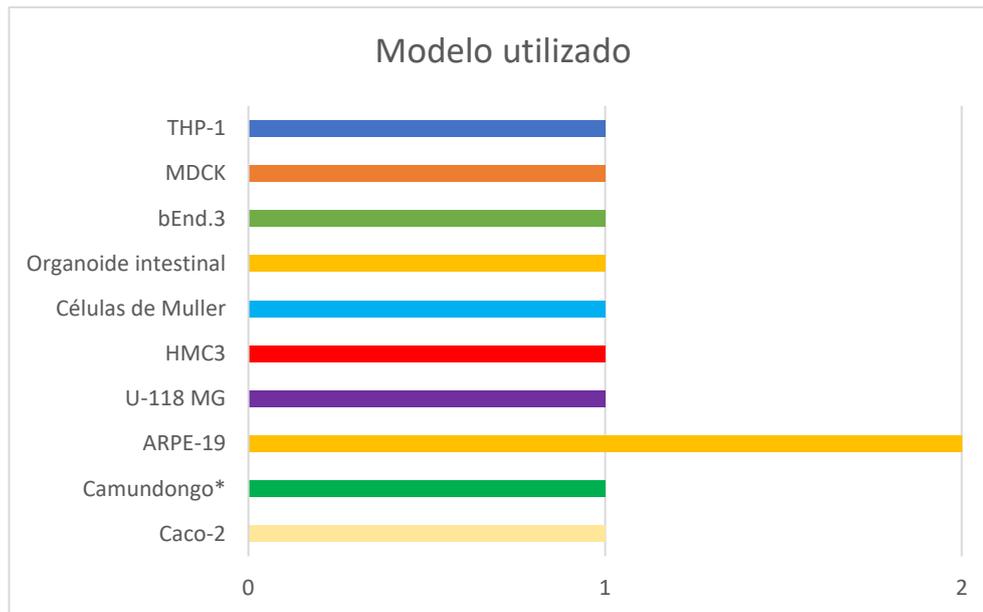


Gráfico 3: Modelos utilizados no estudo de proteínas de junções oclusivas mediante infecção por *T. gondii*.

Neste gráfico é possível observar os modelos utilizados nos estudos com foco em junções oclusivas recuperados das bibliotecas de bases de dados, sendo a mais prevalente, a linhagem ARPE-19. Onde: THP1 – célula de linhagem de monócito isolado do sangue periférico de um paciente humano com leucemia monocítica aguda; MDCK – célula de linhagem isolada de tecido renal normal de um cocker spaniel fêmea adulto normal; bEnd.3 – linhagem celular endotelial isolada de tecido cerebral derivado de camundongo com endotelioma; organoide intestinal – derivado de células-tronco da cripta intestinal de camundongos; células de Müller – células gliais retiniais obtidas a partir de camundongos; HMC3 – célula microglial macrófaga isolada do cérebro de paciente humano; U-118 MG - linhagem celular de morfologia mista isolada de gliomas malignos de um homem de 50 anos com glioblastoma Grau IV; ARPE-19 – linhagem celular de epitélio pigmentar da retina de origem espontânea derivada de olhos normais de um homem de 19 anos que morreu de traumatismo cranioencefálico em um acidente de automóvel; Camundongo* – seções seriadas da região íleo 1 do intestino delgado; Caco-2 – linhagem celular epitelial isolada de tecido de cólon derivada de um homem branco, de 72 anos, com adenocarcinoma colorretal.

Também foi verificada as cepas de *Toxoplasma gondii* utilizadas nos estudos selecionados, conforme o **Gráfico 4** indica. Dentre as cepas usadas, destaca-se a cepa RH, que corresponde a 3 dos 7 estudos selecionados, seguido da cepa ME-49 (n=2).

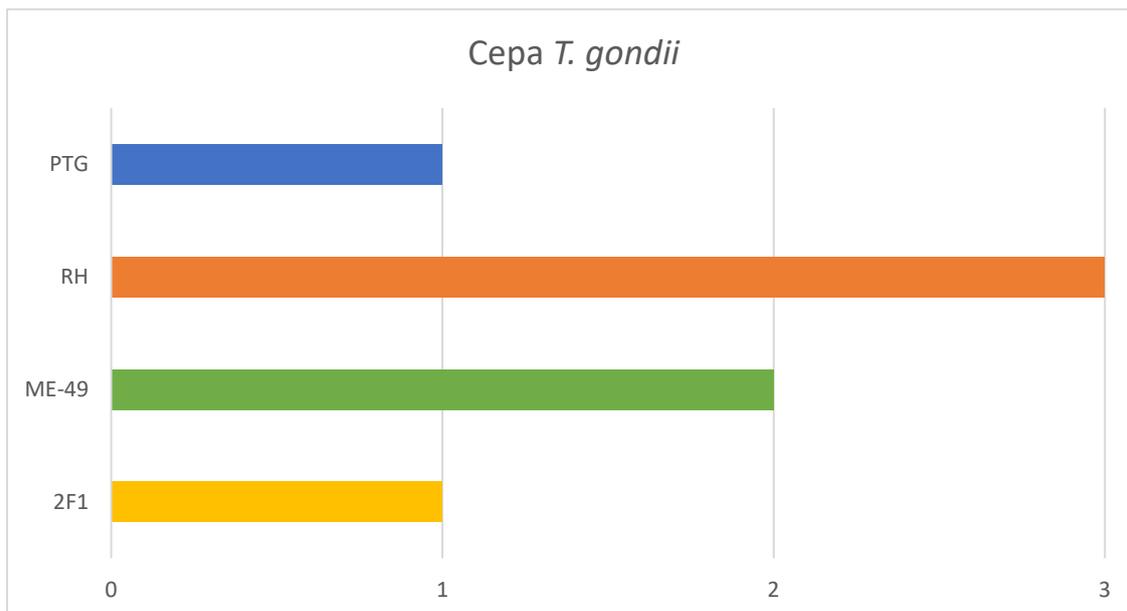
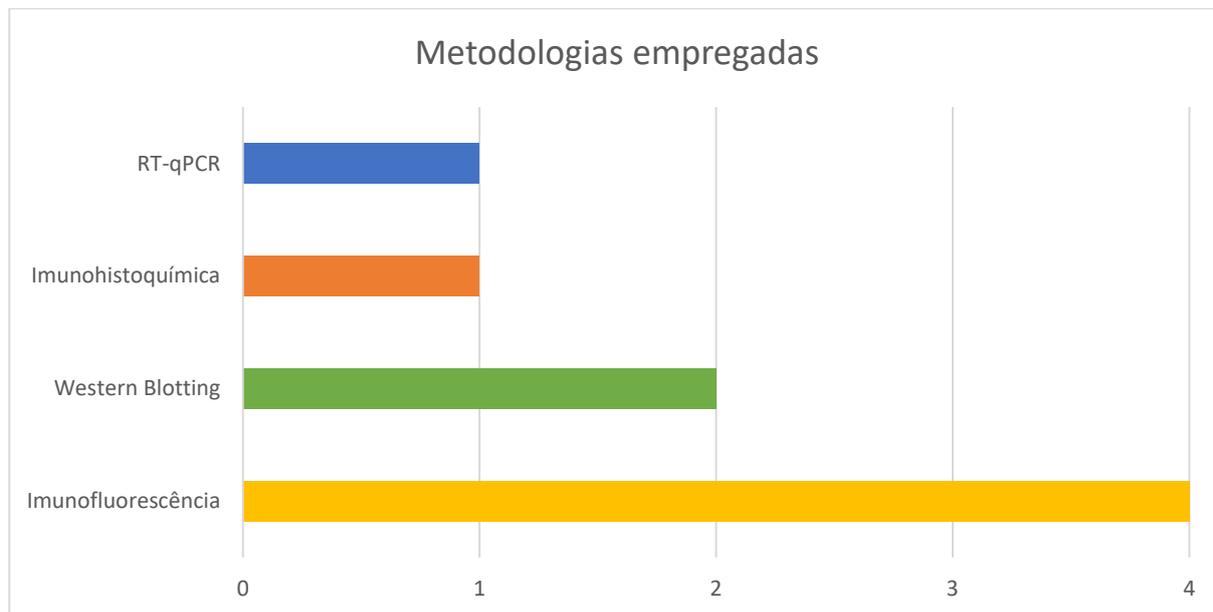


Gráfico 4: cepas de *Toxoplasma gondii* utilizadas no estudo de junções oclusivas

No gráfico estão representadas as cepas de *T. gondii* utilizadas nos estudos que avaliam o efeito do parasito em proteínas de junções oclusivas, tendo destaque para a cepa RH, seguida da cepa ME-49.

Tendo em vista as cepas e as células utilizadas nos estudos recuperados das bibliotecas de bases de dados, a etapa conseguinte foi constituída pelos métodos empregados nesses 7 artigos cujo objetivo é analisar o efeito do parasito em proteínas de junções oclusivas. Dentre as metodologias utilizadas (**Gráfico 5**), destacam-se a imunofluorescência (n=4), que é capaz de elucidar os padrões morfológicos da localização e integridade das proteínas de interesse e Western Blotting (n=2), cujo objetivo é avaliar a expressão dessas proteínas de interesse em questão.

Gráfico 5: Metodologias empregadas no estudo do efeito do *Toxoplasma gondii* em proteínas de junções oclusivas



No gráfico é possível observar as metodologias utilizadas no estudo do efeito do parasito *Toxoplasma gondii* nas proteínas de junções oclusivas, sendo a imunofluorescência a mais utilizada, seguida de Western Blotting. Onde: RT-qPCR – Reação de polimerização da cadeia por transcrição reversa em tempo real.

Ao observar as metodologias empregadas nos estudos do efeito do parasito *Toxoplasma gondii* em proteínas de junção oclusivas, faz-se necessário um estudo de origem dos modelos utilizados nessas metodologias na presente revisão, com o intuito de evidenciar quais os sistemas ou tipos de célula foram mais estudados dentro do tema. O **Gráfico 6** mostra a prevalência dos tipos celulares estudados, tendo como enfoque o órgão ou sistema de origem ao qual este fora isolado. Dentre a origem dos modelos utilizados, destaca-se o sistema imunológico (n=3), compreendendo células de linhagem macrófágica e monocítica, assim como células de epitélio intestinal (n=3).

Vale ressaltar que dentre as células de epitélio intestinal, uma tem origem de célula-tronco da cripta intestinal (Holthaus *et al.*, 2020) e, portanto, se encaixa em duas categorias de origem, que são 'epitélio intestinal' e 'células-tronco'. Outra via de origem que se destaca das demais, inclui o epitélio pigmentar de retina (n=2).

Das vias de origem que mais se destacam, o sistema imunológico faz-se presente pois o parasito é capaz de burlar o sistema imune, infectando as células de defesa do organismo, incluindo células da glia, também é capaz de secretar produtos que afetam células de demais sistemas, assim como também é afetado pelas citocinas secretadas pelas células do sistema imune (Sethi *et al.*, 1975). Já o epitélio intestinal possui destaque, pois a forma mais comum de contrair o parasito é pelo sistema digestório e, por ser um tecido fixo e que constitui uma barreira do organismo para com o meio externo, tal tecido apresenta em destaque as junções oclusivas, que são afetadas diretamente pelo *Toxoplasma gondii*, principalmente no seu processo de entrada na célula intestinal (Briceño *et al.*, 2016).

Quanto às células de origem epitelial pigmentar de retina, o seu estudo se dá pelo fato de além de ser um tecido epitelial e, portanto, rico em proteínas do complexo juncional, incluindo junções ocludentes (Konari *et al.*, 1995), também é um dos alvos do parasito no que se diz respeito a sintomatologia da toxoplasmose, que também é capaz de gerar danos oculares graves, podendo levar à cegueira em fetos cujas mães contraíram a toxoplasmose, tendo maior destaque ainda para a contração da toxoplasmose nos primeiros estágios de desenvolvimento do embrião (Boyer, 2000; Nogueira *et al.*, 2016).

Gráfico 6: análise de origem das células estudadas nos artigos que analisam o efeito do *Toxoplasma gondii* nas junções oclusivas

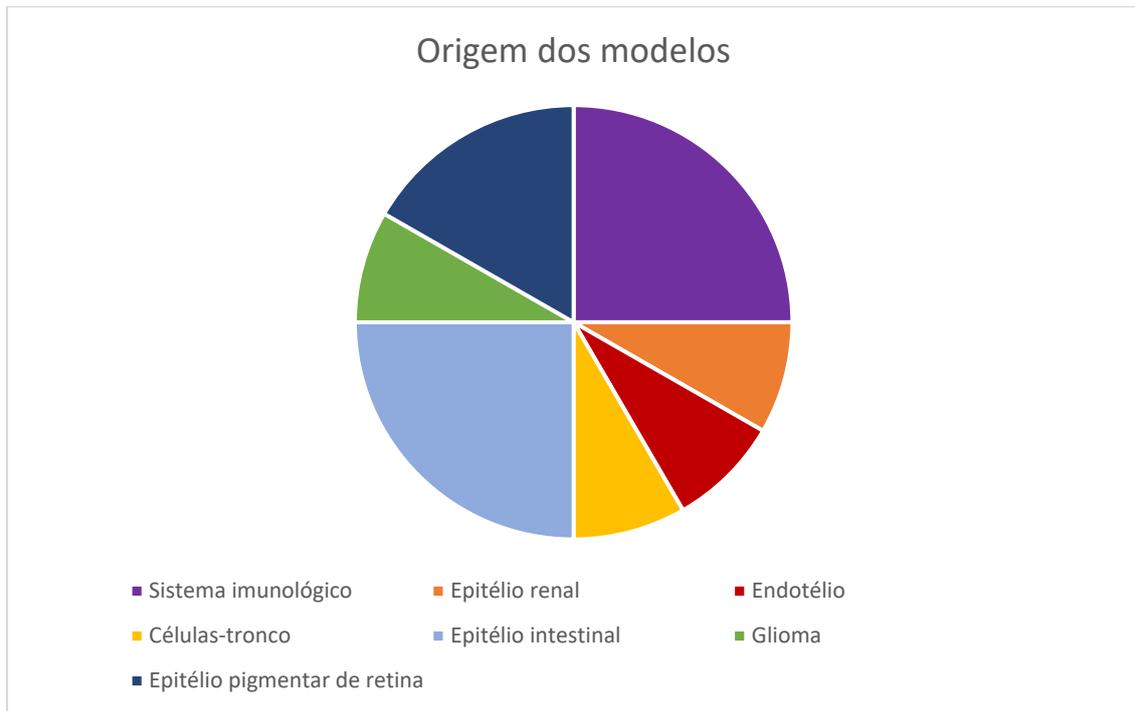


Gráfico que expõe as principais origens das células utilizadas no estudo do efeito do parasito *T. gondii* em junções oclusivas. Quanto maior a fatia representada, maior a quantidade de estudos realizados contendo uma célula proveniente da origem em questão.

Quadro 4: Estudos *in vitro* evidenciando os efeitos da infecção por *Toxoplasma gondii* em junções aderentes

Estudo	Modelo utilizado	Cepa <i>T. gondii</i>	Métodos	Condições de exposição	Principais resultados
(Franklin-Murray <i>et al.</i> , 2020)	HUVEC	<i>Prugniaud</i> Taquizoítos tipo II que expressam GFP e tdTomato	Imunofluorescência; Western Blotting;	Infecção por 18 horas, com índice de multiplicidade de infecção igual a 1 ou 2	<p>A infecção por <i>T. gondii</i> leva à diminuição da localização da caderina-VE na periferia celular, afetando a integridade das barreiras endoteliais;</p> <p>As células não infectadas mostraram marcação contínua com caderina-VE e β-catenina, enquanto as células infectadas com <i>T. gondii</i> apresentaram redução da caderina-VE e β-catenina na periferia celular e lacunas na coloração;</p> <p>A infecção parasitária de <i>T. gondii</i> resultou em uma redução de 18,7% nos níveis da proteína VE-caderina nas células endoteliais.</p> <p>Entretanto, não foram observadas mudanças na expressão de β-catenina após a infecção</p>

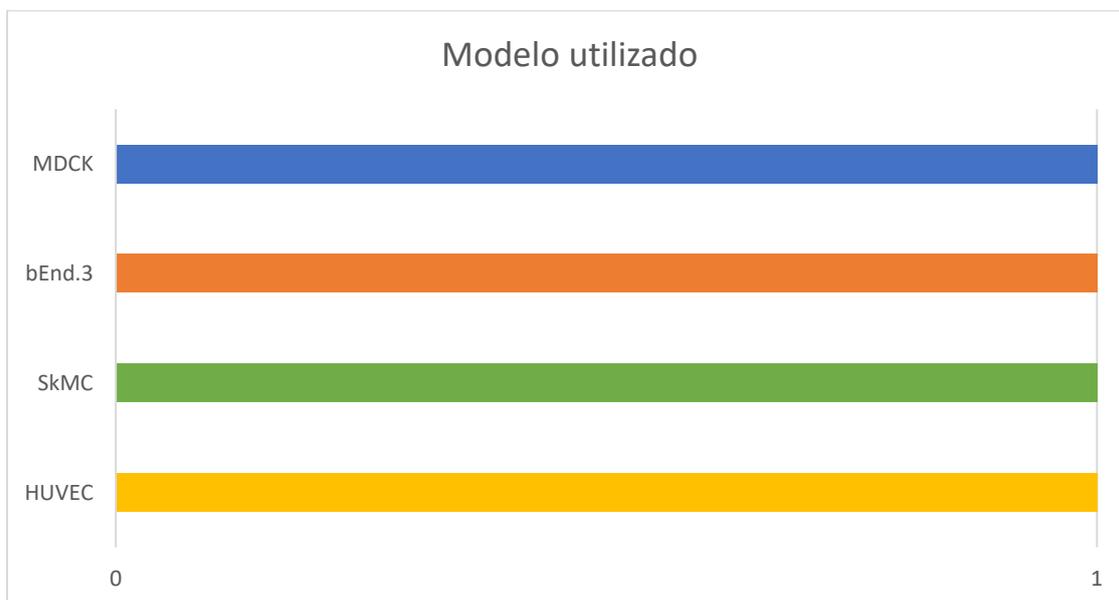
					das HUVEC por <i>T. gondii</i> .
(Gomes <i>et al.</i> , 2011)	SkMC (cultura primária de músculo esquelético de camundongo)	Taquizoítas de cepa RH	Imunofluorescência; Western Blotting; RT-PCR	Culturas de SkMC de dois dias de duração foram infectados por 24 horas com os taquizoítas na proporção de 1:1 parasito:célula.	<p>A presença de um único parasita recém-internalizado não afetou a distribuição da M-caderina nas células hospedeiras. No entanto, após 24 horas da infecção, foi possível observar a M-caderina desorganizada e formando agregados ao redor e dentro do vacúolo parasitóforo;</p> <p>Após 24 horas de interação entre o parasito e a SkMC, foi observado uma redução significativa da expressão de M-caderina, atingindo uma redução de 54%, se comparado ao grupo controle;</p> <p>Após 3 horas de infecção por <i>T. gondii</i>, os níveis de mRNA da M-caderina foram significativamente reduzidos, após 12 horas não houve alteração e, após 24 horas, os</p>

					níveis de m-RNA de E-caderina foi regulado negativamente em comparação ao grupo controle.
(Marcos <i>et al.</i> , 2020)	bEnd.3	ME-49	Imunofluorescência; Visualização em microscopia de contraste interferencial diferencial com o sistema Apo-tome de fluorescência.	Após atingir confluência, as células endoteliais foram tratadas com meio condicionado de glia radial (RG-CM) não infectado e infectado após 22 horas (Inf-RG-CM).	De forma similar à ZO-1, a β -catenina é encontrada de maneira uniforme e localizada na membrana da célula, enquanto com RG-CM, observa-se uma retenção da β -catenina em seu citoplasma. Já nas células expostas ao Inf-RG-CM, observa-se um padrão descontínuo com marcação muito mais branda se comparada ao controle, evidenciando apenas pontos de marcação mais intensa, ao invés de uma linha contínua com alta intensidade de fluorescência.
(Ramírez-Flores <i>et al.</i> , 2021)	MDCK	RH	Imunofluorescência; Microscopia óptica confocal a laser;	As células em monocamada foram expostas a Produtos excretados e secretados por <i>T. gondii</i> (ESPs) a uma concentração de	Na imunofluorescência foi possível observar no modelo tratado com as ESPs, a formação de agregados de E-caderina ao invés do

			<p>Microscopia eletrônica de varredura;</p> <p>Microscopia eletrônica de transmissão;</p> <p>Western Blotting.</p>	<p>10 µg/ml nos intervalos de tempo de 30 minutos, 1, 2 e 4 horas;</p> <p>Para a avaliação dos efeitos de inibidores de protease, EGTA e Fenantrolina foram utilizados como tratamento prévio ao tratamento com as ESPs</p> <p>Para a avaliação dos efeitos de inibidores de endocitose, dois inibidores de dinamina foram utilizados como tratamento prévio ao tratamento às ESPs: Dyngo e Dynasore</p>	<p>padrão mais contínuo observado no controle tratado com DMEM.</p> <p>Nos modelos pré-tratados com os inibidores de protease, foi observada apenas uma proteção parcial contra a ruptura da E-caderina, ao contrário do que foi descrito nas proteínas de junção oclusiva.</p> <p>A expressão de E-caderina demonstrou uma queda a partir de 1 hora após a exposição às ESPs que mostrou uma recuperação a partir de 2 horas e retornou aos níveis iniciais após 4 horas de exposição às ESPs.</p>
--	--	--	--	--	---

A partir da elaboração do quadro 5, é possível extrair quatro gráficos, que analisam 4 pontos presentes nos 3 artigos selecionados após a leitura completa: o modelo utilizado, tal qual a origem desses modelos, a cepa de *Toxoplasma gondii* e as metodologias empregadas nos respectivos estudos. Abaixo é possível observar os modelos utilizados nos estudos destacados (**Gráfico 7**). No total, foram utilizados 4 modelos diferentes para os estudos dos efeitos de *T. gondii* em proteínas de junções aderentes.

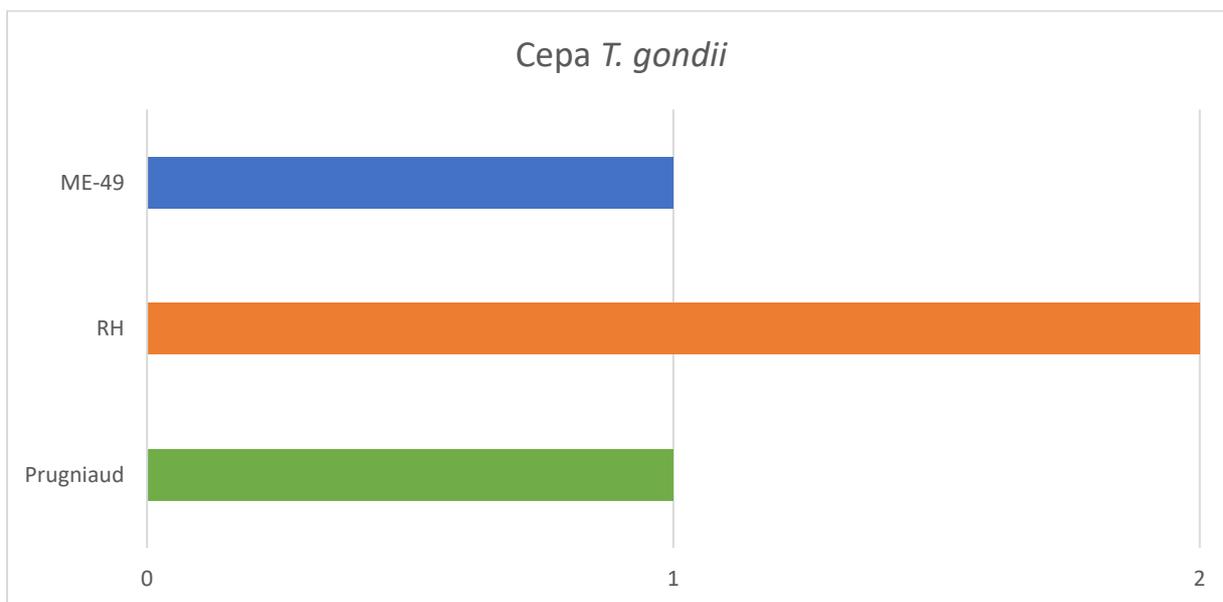
Gráfico 7: Modelos utilizados no estudo de proteínas de junções aderentes mediante infecção por *T. gondii*.



Neste gráfico é possível observar os modelos utilizados nos estudos com foco em junções oclusivas recuperados das bibliotecas de bases de dados. Onde: MDCK – célula de linhagem isolada de tecido renal normal de um cocker spaniel fêmea adulto normal; bEnd.3 – linhagem celular endotelial isolada de tecido cerebral derivado de camundongo com endotelioma; SkMC – cultura primária de músculo esquelético de camundongo; HUVEC – célula endotelial isolada de endotélio de veia de cordão umbilical.

Também foi verificada as cepas de *Toxoplasma gondii* utilizadas nos estudos selecionados, conforme o **Gráfico 8** indica. Das cepas utilizadas, a que se destacou foi a cepa RH (n=2).

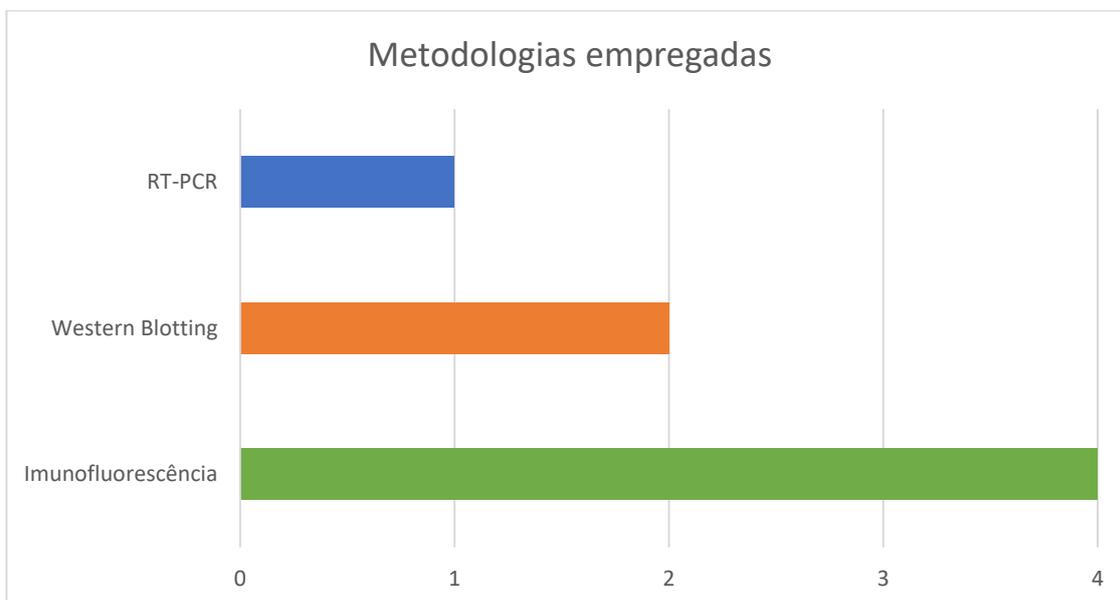
Gráfico 8: cepas de *Toxoplasma gondii* utilizadas no estudo de junções aderentes.



No gráfico estão representadas as cepas de *T. gondii* utilizadas nos estudos que avaliam o efeito do parasito em proteínas de junções aderentes. Tendo a cepa RH com a maior representação nos estudos selecionados

Tendo em vista as cepas e as células utilizadas nos estudos recuperados das bibliotecas de bases de dados, a etapa conseguinte foi constituída pelos métodos empregados nesses 3 artigos cujo objetivo é analisar o efeito do parasito em proteínas de junções oclusivas. Dentre as metodologias utilizadas (**Gráfico 9**), destaca-se a imunofluorescência (n=4), que é capaz de elucidar os padrões morfológicos da localização e integridade das proteínas de interesse e está presente em todos os estudos.

Gráfico 9: Metodologias empregadas no estudo do efeito do *Toxoplasma gondii* em proteínas de junções aderentes



No gráfico é possível observar as metodologias utilizadas no estudo do efeito do parasito *Toxoplasma gondii* nas proteínas de junções aderentes, sendo a imunofluorescência a mais utilizada. Onde: RT-PCR – Reação de polimerização da cadeia por transcrição reversa.

Ao observar as metodologias empregadas nos estudos do efeito do parasito *Toxoplasma gondii* em proteínas de junção aderente, faz-se necessário um estudo de origem dos modelos utilizados nessas metodologias na presente revisão, com o intuito de evidenciar quais os sistemas ou tipos de célula foram mais estudados dentro do tema. O **Gráfico 10** mostra a prevalência dos tipos celulares estudados, tendo como enfoque o órgão ou sistema de origem ao qual este fora isolado. Dentre a origem dos modelos utilizados, destaca-se o sistema epitelial, mais especificamente o endotélio (n=2), que corresponde a camada epitelial mais interna do vaso sanguíneo. Em ambos os casos que abordam o epitélio como modelo de estudo, destaca-se a importância do endotélio como barreira tanto na patologia do indivíduo infectado (Dejana; Orsenigo; Lampugnani, 2008; Franklin-Murray *et al.*, 2020; Michiels, 2003), quanto na transmissão vertical do parasito (Ferguson, David J. P. *et al.*, 2013; Marcos *et al.*, 2020).

Gráfico 10: análise de origem das células estudadas nos artigos que analisam o efeito do *Toxoplasma gondii* nas junções aderentes

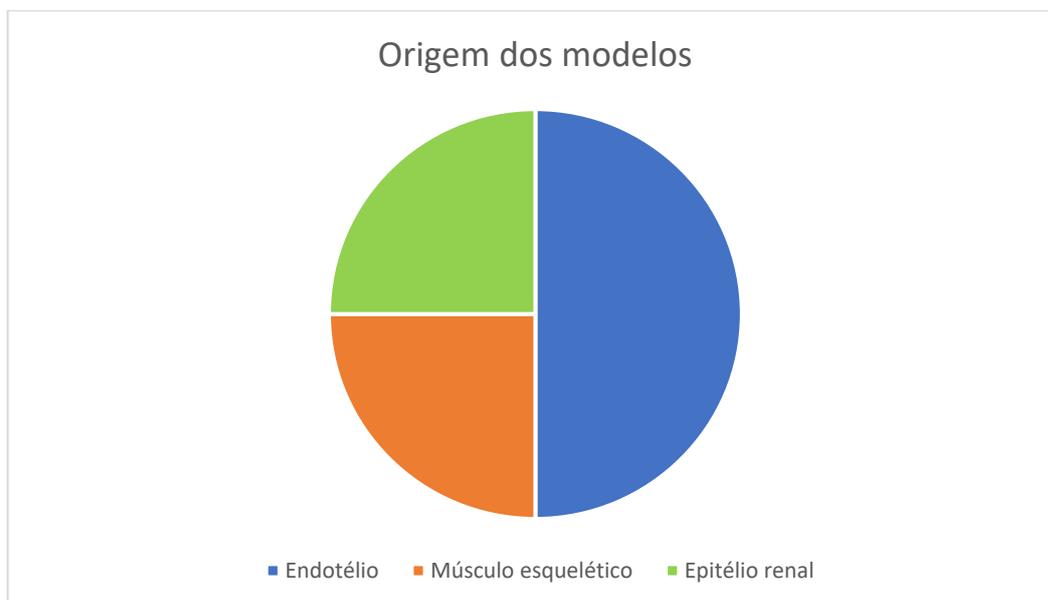


Gráfico que expõe as principais origens das células utilizadas no estudo do efeito do parasito *T. gondii* em junções aderentes. Quanto maior a fatia representada, maior a quantidade de estudos realizados contendo uma célula proveniente da origem em questão.

5 DISCUSSÃO

A toxoplasmose é uma patologia que afeta indivíduos em todo o mundo, comprometendo sua qualidade de vida e podendo causar mortalidade (Aguirre *et al.*, 2019). Em seu ciclo biológico, o *Toxoplasma gondii* em sua forma taquizoíta é capaz de infectar células hospedeiras e prejudicar estruturas de membrana, assim como complexos juncionais (de Carvalho *et al.*, 2021), visto que o parasito é capaz de remodelar o citoesqueleto mediante seu processo invasivo que ocorre em uma junção parasito-hospedeiro denominada junção móvel (Besteiro *et al.*, 2009; Bichet *et al.*, 2014). Dentre as junções que foram descritas na literatura e que são afetadas pelo *T. gondii*, destacam-se as junções oclusivas, as junções comunicantes e as junções aderentes.

Tanto a infecção direta por *T. gondii*, quanto seus efeitos indiretos apresentaram efeitos muito similares em junções oclusivas nos mais diferentes tipos celulares. Na linhagem epitelial de cólon intestinal, Caco-2, mediante a infecção pela cepa 2F1 na proporção parasito:célula de 5:1 foi possível observar a descontinuidade de padrão em rede tanto de claudina-1, quanto de ZO-1 e ocludina após 24 horas de infecção, assim como apresentou co-localização do parasito com este padrão descontínuo de proteínas de TJ. Além disso, observa-se o acúmulo de proteínas de TJ em região citoplasmática. Quanto a expressão dessas proteínas de interesse, apenas ocludina e ZO-1 foram reduzidas, ao contrário da claudina-1 que apesar de ter seu padrão quebrado e acúmulo em região citoplasmática, manteve seus níveis de expressão mesmo após 24 horas de infecção se comparado ao controle não infectado (Briceño *et al.*, 2016).

Já no modelo de barreira hemato-retina composto por quatro linhagens celulares (ARPE-19, U-118 MG, HMC3 e células de Muller), a infecção do *T. gondii* da cepa RH na proporção parasito:célula de 1:1, foi capaz de também gerar um padrão descontínuo de ZO-1 e um aumento de expressão localizada dessa mesma proteína (Geiller *et al.*, 2023).

Entretanto, em monocamadas de organoides intestinais derivados de células-tronco de criptas intestinais de camundongos, após 48 horas de

infecção por *T. gondii* da cepa RH, na proporção de 25:1 parasito:célula, não foi possível observar mudanças transcricionais significativas de ZO-1, Occludina, Claudina-1, Claudina 2 e Claudina-7, assim como não ocorreu efeito morfológico aparente nestas proteínas de TJ (Holthaus *et al.*, 2020).

Em seções seriadas da região íleo 1 do intestino delgado de 90 camundongos suíços, após uma semana de infecção da cepa ME-49 de *T. gondii* a partir de uma inoculação de 10^2 oocistos/2ml, a expressão de claudina-1 foi reduzida se comparar o grupo saudável com os subgrupos infectados e não tratados, demonstrando uma relação inversa entre a carga de infecção e a expressão de claudina-1. Além disso, nos subgrupos infectados, as células do epitélio intestinal positivas para claudina-1 foi encontrado em um padrão mais espalhado (El Saftawy *et al.*, 2023).

Na literatura também foram descritos efeitos indiretos do *T. gondii* sobre as junções oclusivas das células estudadas. Marcos e colaboradores avaliaram em 2020 o efeito do tratamento com meio condicionado de glia radial (RG-CM) sobre a proteína de junções oclusivas ZO-1 em células de linhagem endotelial bEnd.3. Esse meio condicionado pode ser proveniente de células de glia radial infectadas (Inf-RG-CM) com 22 horas de incubação após 2 horas de interação parasito-célula ou não infectadas. Seus resultados demonstraram que primeiramente, nas células controle não tratadas, ZO-1 apresentava distribuição uniforme com maior concentração na área de contato entre as células. Em células cultivadas com RG-CM por 24 horas, observa-se um aumento de intensidade da marcação de ZO-1 em 36% e 90% do aumento da taxa de organização de TJ. Já em células incubadas com Inf-RG-CM, foi observada uma redução de 40% na intensidade de marcação, enquanto não houve alteração significativa no nível organizacional de TJ das células observadas.

Tendo em vista tais resultados, também foi realizada uma comparação entre células controle tratadas com TGF- β 1 e células incubadas com Inf-RG-CM + TGF- β 1. Nas células controle tratadas com TGF- β 1, observa-se um aumento de intensidade na marcação de ZO-1 em comparação ao grupo controle não tratado e nas células tratadas com Inf-RG-CM + TGF- β 1, foi

possível observar um resgate da marcação de ZO-1 se comparado ao grupo tratado apenas com Inf-RG-CM.

Em células de epitélio renal (MDCK) foi realizado um estudo que avalia os efeitos de produtos excretados e secretados por *Toxoplasma gondii* (ESPs) de cepa RH sobre as proteínas ZO-1, claudina-1 e ocludina. As amostras foram subdivididas em controle não tratado, células tratadas com ESPs, células tratadas com ESPs após tratamento prévio com inibidores de protease (EGTA e fenantrolina) e células tratadas com ESPs após tratamento prévio com inibidores de dinamina (Dyngo e Dynasore). Após o tratamento com as ESPs, foi notada uma redução de marcação e expressão das 3 proteínas estudadas, assim como a indução do erro de localização delas. Já com o tratamento prévio com inibidores de protease, foi relatado que houve o bloqueio da ruptura das proteínas de TJ causado pelo tratamento com as ESPs, enquanto no grupo com tratamento prévio com inibidores de endocitose, as proteínas claudina-1, ocludina e ZO-1 mantiveram-se em seu local morfofuncional após o tratamento com as ESPs (Ramírez-Flores *et al.*, 2021).

Por fim, dentre os manuscritos selecionados no presente estudo que estudam o efeito do parasito *Toxoplasma gondii* sobre proteínas de junções oclusivas, Song *et al.* (2017) avaliaram os efeitos causados na proteína ZO-1 em células de linhagem epitelial de retina (ARPE-19) cultivada em transpoços, após a exposição de monócitos (THP-1) infectados por *T. gondii* da cepa PTG na proporção de 2:1 parasito:célula, assim como o sobrenadante proveniente desta cultura. A exposição do modelo de barreira hemato-retiniana aos monócitos infectados resultou na ruptura do complexo de junção oclusiva, mostrando um padrão descontínuo e granular na marcação de ZO-1. Também houve prejuízo no padrão de localização das células ARPE-19 tratadas com o sobrenadante de células THP-1 infectadas em comparação aos grupos tratados com sobrenadantes de THP-1 não infectado ou com *T. gondii* inativado por calor. A inibição prévia de FAK preservou o padrão de ZO-1 associados à membrana, assim como foi possível observar a atenuação da perda de integridade das células expostas ao sobrenadante dos

monócitos infectados, assim como atenuou a diminuição da expressão de ZO-1 e ocludina.

Dito isto, nos manuscritos selecionados para o presente trabalho, foi possível observar que de maneira geral, tanto de maneira direta quanto indireta, o *Toxoplasma gondii* é capaz de afetar negativamente o padrão organizacional de proteínas de junções oclusivas nas células estudadas, bem como tende a reduzir a expressão dessas proteínas, com exceção do estudo de Marcos *et al.* (2020) que relatou que não houve diferença significativa observada no grau de organização de proteínas de TJ das células endoteliais incubadas com Inf-RG-CM, apesar de marcarem menor intensidade de marcação se comparadas com o grupo controle.

Em junções aderentes, é possível observar um efeito semelhante ao que ocorre em junções oclusivas. Em linhagem endotelial de cordão umbilical humano (HUVEC) foi realizada a infecção de *Toxoplasma gondii* de cepa *prugniaud* por 18 horas com índice de multiplicidade de 1 ou 2. Seus resultados mostraram que as células endoteliais não infectadas apresentaram padrão de marcação contínua de caderina-VE e β -catenina, enquanto as células infectadas mostraram um padrão descontínuo de marcação. Além disso, a infecção resultou num decréscimo de 18,7% nos níveis de VE-caderina (Franklin-Murray *et al.*, 2020).

Em cultura primária de músculo esquelético de camundongo (SkMC) dois dias de duração, foi realizada a infecção com taquizoítos de *T. gondii* de cepa RH por 24 horas na proporção 1:1 parasito:célula. Os resultados indicaram que após 24 horas de infecção, foi possível a observação de desorganização da M-caderina se comparado ao controle, além da formação de agregados de caderina ao redor do vacúolo parasitóforo. Além disso, após 24 horas foi observada uma redução de 54% na expressão de M-caderina (Gomes *et al.*, 2011).

Na linhagem bEnd.3 foi realizada uma exposição ao meio condicionado de glia radial de monócitos (THP-1) infectados e não infectados. Semelhantemente à ZO-1 também avaliada no estudo, a β -catenina é encontrada de maneira uniforme na membrana plasmática. Entretanto, com a aplicação de RG-CM, a β -catenina foi visualizada retida no citoplasma da célula.

Já após a aplicação de Inf-RG-CM foi observado que ocorre um padrão descontínuo de marcação de β -catenina, além de uma marcação mais branda com pontos de maior intensidade de marcação, se comparado ao controle não tratado com o meio condicionado (Marcos *et al.*, 2020).

Com isto, é possível inferir que o *Toxoplasma gondii* apresenta capacidade de alterar a organização das proteínas que compõem a estrutura de junções aderentes, bem como a tendência de reduzir sua expressão. Os resultados apresentados nos manuscritos que estudam o efeito do *T. gondii* sobre junções aderentes em modelos celulares, selecionados para o presente estudo, mostram um efeito semelhante entre os efeitos causados em junções oclusivas e aderentes, com a tendência de padrão que em condições fisiológicas é encontrado de forma uniforme por toda a área de membrana da célula, enquanto sob infecção ou efeito indireto do parasito, apresenta padrão descontínuo se comparado ao controle. Além disso, observa-se redução de expressão tanto das proteínas de junção aderente quanto de junções oclusivas ao realizar experimentos que estudam os efeitos diretos e indiretos do *Toxoplasma gondii* sobre essas junções celulares.

Foram descritos na literatura, efeitos de outros protozoários semelhantes aos causados por *T. gondii* em junções aderentes e oclusivas. *Plasmodium spp.* é um gênero de protozoários de relevância clínica que são responsáveis por causar a doença da malária e fazem parte do filo *Apicomplexa*, o mesmo do *Toxoplasma gondii*. Foi descrito por Susomboon *et al.* (2006) que células de linhagem HUVEC podem sofrer alterações de expressão de mRNA que codificam proteínas de junções oclusivas (ZO-1, ocludina e vinculina) se cultivadas em co-cultura com eritrócitos infectados por *Plasmodium falciparum* originários de pacientes com malária. Entretanto, a mudança transcricional depende da fonte do qual foi obtido o parasito: nas células endoteliais cultivadas com eritrócitos infectados provenientes de pacientes com malária sem complicações, observou-se um aumento na expressão de mRNA codificantes para moléculas de TJ com o decorrer do tempo de co-cultura; nas células endoteliais cultivadas com eritrócitos infectados provenientes de pacientes com malária grave, não foi observada mudança significativa nos níveis de expressão de mRNA das moléculas de junção

oclusiva ao decorrer do tempo de co-cultura; já em células endoteliais cultivadas com eritrócitos infectados provenientes de pacientes que adquiriram malária cerebral, foi observada uma diminuição da expressão de mRNA codificante de moléculas de TJ.

Gillrie e colaboradores (2007) examinaram o efeito de isolados da cepa 3D7 de *P. falciparum* em células endoteliais microvasculares dérmicas humanas (HDMEC). Neste trabalho foram examinadas as alterações morfológicas e bioquímicas das proteínas de junção ocludente (ZO-1 e claudina-5) e aderente (VE-caderina) causadas pela infecção de HDMEC pelos isolados de *P. falciparum* obtidos a partir de sonicação de eritrócitos parasitados. Nas amostras incubadas com sonificados do parasito, foi observada a presença de lacunas na marcação tanto de ZO-1, claudina-5 e VE-caderina que são marcadas como um padrão contínuo nos seus respectivos controles. Também foi evidenciada uma desassociação de ZO-1 com o microfilamento de F-actina, bem como um aumento de marcação citosólica de ZO-1. Também foi evidenciada uma redistribuição de ZO-1 da fração de citoesqueleto para outras frações subcelulares a partir de Western-blotting de lisado celular fracionado em citoesqueleto, membrana, citosol e núcleo. Além disso, a quantidade de proteínas totais foi observada diminuída apenas em claudina-5, mas não em VE-caderina ou ZO-1. Tais resultados mostram que, assim como o *T. gondii*, *P. falciparum* é capaz de afetar a localização e distribuição de ZO-1 conforme descrito por Briceño *et al.* (2016), apesar de manter a expressão dessa proteína semelhante ao controle.

Wichapoon *et al.* (2014) avaliaram as mudanças estruturais de ZO-1 associadas à infecção por *P. falciparum* em células de linhagem de endotélio umbilical venoso humano (HUVEC), bem como a sua expressão a partir da técnica do complexo avidina-biotina peroxidase análoga à imuno-histoquímica de tecido renal de pacientes mortos de malária causada por *P. falciparum*. A análise morfológica de ZO-1 foi obtida a partir de imunofluorescência de HUVEC em co-cultura com células vermelhas infectadas com *P. falciparum* (EC-PRBC) em comparação com os controles, seja da HUVEC cultivada apenas em contato com o meio de cultura ou em co-cultura com eritrócitos não infectados (EC-RBC). Nos dois controles (HUVEC + meio e EC-

RBC), observa-se uma continuidade no padrão de ZO-1, enquanto nas EC-PRBC, observa-se um padrão descontínuo com a presença de lacunas na marcação de ZO-1. No que diz respeito a expressão de ZO-1, foi observada uma correlação negativa entre o número percentual de células positivas para ZO-1 e nível de creatinina sérica, um marcador de lesão renal. Essa correlação indica que quanto maior for a lesão, menores os níveis de ZO-1 encontrados no tecido renal. Tais resultados, tanto do padrão morfológico, quanto na sua redução de expressão de ZO-1 são consistentes com os resultados encontrados dos efeitos causados por *T. gondii* em células de linhagem renal (MDCK) (Ramírez-Flores *et al.*, 2021) e em células de linhagem retiniana (ARPE-19) (Song *et al.*, 2017).

Marin *et al.* (2023) avaliaram a expressão de proteínas de junções ocludente e aderente em célula endotelial de cérebro humano (HBEC) mediante interação por 48 horas com *P. falciparum* a partir de co-cultura com pRBC na proporção de 1:50 pRBC:célula. A imunofluorescência quantitativa mostrou que as proteínas de junção oclusiva ocludina-1, JAM-A e a proteína de junção aderente VE-caderina apresentaram uma redução significativa em sua expressão ao comparar com a célula controle. O padrão de redução de expressão de ocludina mediante infecção com *P. falciparum* observados nos resultados desse trabalho também é observado nos manuscritos de Briceño *et al.* (2016), Ramírez-Flores *et al.* (2021) e Song *et al.* (2017) que estudaram os efeitos da influência de *T. gondii* sobre a proteína de TJ ocludina. Já a redução de VE-caderina foi observada no estudo de Franklin-Murray *et al.* (2020) ao avaliar os efeitos de *T. gondii* sobre essa proteína de junção aderente.

De Melo *et al.* (2008) analisaram a distribuição e expressão das proteínas de junção aderente Pan-caderina, N-caderina e β -catenina em cultura primária de cardiomiócitos originários de embriões de camundongo mediante interação com *T. cruzi* de cepa Y durante os horários de 24 horas e 72 horas pós-infecção na proporção 20:1 parasito:célula após 24 horas de interação prévia. Nos controles, foi observada a partir de microscopia óptica confocal a laser a alta marcação das 3 proteínas na região de contato célula-célula, sendo possível observar a co-localização entre N-caderina e β -catenina

através da dupla marcação dos cardiomiócitos com seus respectivos anticorpos. Após 24 horas de infecção, a distribuição dessas proteínas permaneceu a mesma se comparado ao controle. Entretanto, após 72 horas de infecção, foi revelada uma redução expressiva na marcação de pan-caderina, N-caderina e β -catenina. No que diz respeito a expressão das proteínas de junção aderente, foi realizado Western-blotting de N-caderina e β -catenina e os resultados mostraram que não houve alteração significativa na expressão de ambas as proteínas após 24 horas de infecção, mas atingindo uma redução de até 46% após 72 horas de infecção, sendo consistentes com a redução de marcação apresentados nos resultados de imunofluorescência. O padrão de marcação observado nesse estudo, apesar de demonstrar uma certa descontinuidade, o que foi observado nos cardiomiócitos infectados foram amplas regiões que não houve marcação, sugerindo que ao invés de gerar descontinuidade nas células em que o parasito infecta, gera perda total da marcação da célula infectada como um todo, ao contrário do que foi analisado tanto nos resultados que estudaram efeitos de *T. gondii*, quanto por *Plasmodium falciparum*.

Além das junções de oclusão e adesão, o *Toxoplasma gondii* é capaz de afetar também as junções comunicantes de células infectadas, como descrito por de Carvalho e colaboradores, que utilizaram células da linhagem macrófaga J774-G8 e avaliaram que em 72 horas de infecção, foi possível observar a diminuição da localização de conexina-43 na membrana plasmática, bem como a diminuição em sua expressão após 24 e 48 horas de infecção.

De acordo com os resultados do presente estudo, também foi possível observar uma relação de descontinuidade do padrão de marcação e de expressão de proteínas de junções oclusivas em modelos celulares infectados diretamente ou afetados indiretamente pelo *T. gondii*. Nos estudos abordados, houve uma tendência para a diminuição na continuidade, porém com tendência a internalização dessas proteínas de membrana (Briceño et al., 2016; Ramírez-Flores et al., 2021). Entretanto, em discordância com os resultados levantados, Holthaus e colaboradores demonstraram que nos

modelos de claudina estudados nos organoides intestinais, manteve-se a continuidade do padrão de marcação mesmo após a infecção, bem como as suas expressões que mantiveram em semelhança com o controle antes da interação com o parasito.

Já nos trabalhos abordados que avaliam os efeitos do *T. gondii* em junções aderentes, em quase todos os estudos abordados observa-se descontinuidade no padrão de marcação, bem como a sua expressão, após interação do *Toxoplasma gondii* com o modelo de estudo. No entanto, expressão de E-caderina em células MDCK mantém-se igual ao controle mesmo após a interação parasitária, mesmo denotando descontinuidade na imunomarcação.

6 CONCLUSÃO

No presente estudo foi realizada a síntese das evidências científicas sobre os efeitos do *Toxoplasma gondii* nas junções oclusivas e aderentes, destacando as alterações induzidas nas proteínas-chave dessas junções celulares em diferentes modelos celulares e teciduais, bem como as metodologias empregadas nesses estudos. Com isso, foi possível comparar os resultados dos estudos encontrados na literatura e traçar um padrão de consistência diante dos resultados demonstrados, contribuindo para uma melhor compreensão dos efeitos do *T. gondii* sobre junções oclusivas e aderentes.

Diante dos resultados expostos na presente revisão integrativa, é possível concluir que o padrão morfológico de proteínas de junções aderentes e ocludentes, bem como a sua expressão, podem variar de acordo com o modelo estudado, seja a partir de interações diretas ou indiretas com o *Toxoplasma gondii*. Entretanto, nos estudos selecionados para o presente estudo, observa-se a tendência de descontinuidade no padrão de proteínas de junção oclusiva e aderente, assim como a internalização dessas proteínas em alguns casos.

Também é possível observar uma tendência de redução na expressão de proteínas de junção oclusiva e aderente, apesar de em alguns estudos estarem em discordância, a maior parte dos estudos abordados denotam essa redução na expressão de junções oclusivas e aderentes após o processo infeccioso do *T. gondii*. Vale ressaltar que em nenhum dos estudos abordados, foi observado aumento na expressão dessas proteínas de interesse, apesar de haver recuperação após intervenções terapêuticas, em nenhum dos casos relatados, o nível de expressão dessas proteínas foi maior ou igual aos seus respectivos controles.

A mesma tendência no padrão de expressão e localização de proteínas de junção aderente e ocludente foi relatado em estudos que envolvem a interação de *Trypanosoma cruzi* e *Plasmodium falciparum* com modelos celulares *in vitro*. Entretanto, o número de estudos disponíveis na literatura é muito reduzido se comparados aos estudos de junções aderentes e oclusivas diante interação com *T. gondii*.

Por fim, ainda existem lacunas a serem preenchidas no que diz respeito aos efeitos que o *Toxoplasma gondii* pode causar nessas junções celulares, como o porquê de haver diferenças de comportamento de ZO-1 em modelo de organoide intestinal e Caco-2, visto que ambos têm origem no mesmo órgão. Além disso, poucos estudos abordaram concomitantemente o comportamento de junções oclusivas e aderentes, apesar de haver estudos demonstrando a clara relação entre essas duas junções, bem como sua relação íntima. Para isso, mais estudos precisarão ser realizados com o objetivo de integrar os padrões de comportamento dessas junções nos diferentes modelos, bem como investigar melhor a relação que as junções oclusivas e aderentes possuem no processo infeccioso do *Toxoplasma gondii*.

7 REFERÊNCIAS

AGUIRRE, A. A. *et al.* The One Health Approach to Toxoplasmosis: Epidemiology, Control, and Prevention Strategies. *Ecohealth*, [S. l.], v. 16, n. 2, p. 378–390, 2019.

ALEIXO, A. L. Q. do C. *et al.* Toxoplasmic Retinochoroiditis: Clinical Characteristics and Visual Outcome in a Prospective Study. *PLoS neglected tropical diseases*, [S. l.], v. 10, n. 5, p. e0004685, maio 2016.

ATLAS VIRTUAL DE PARASITOLOGIA. [s. d.]. Disponível em: http://atlasparasitologia.sites.uff.br/?page_id=9925. Acesso em: 25 maio 2024.

ATTIAS, M. *et al.* The life-cycle of *Toxoplasma gondii* reviewed using animations. *Parasites & Vectors*, [S. l.], v. 13, n. 1, p. 588, 23 nov. 2020.

BAHIA-OLIVEIRA, L. M. G. *et al.* Highly endemic, waterborne toxoplasmosis in north Rio de Janeiro state, Brazil. *Emerging Infectious Diseases*, [S. l.], v. 9, n. 1, p. 55–62, jan. 2003.

BASAN, M. *et al.* A Reaction-Diffusion Model of the Cadherin-Catenin System: A Possible Mechanism for Contact Inhibition and Implications for Tumorigenesis. *Biophysical Journal*, [S. l.], v. 98, n. 12, p. 2770–2779, 16 jun. 2010.

BAUER, H. *et al.* Astrocytes and neurons express the tight junction-specific protein occludin in vitro. *Experimental cell research*, [S. l.], v. 250 2, p. 434–8, 1999.

BAZZONI, G. *et al.* Interaction of Junctional Adhesion Molecule with the Tight Junction Components ZO-1, Cingulin, and Occludin *. *Journal of Biological Chemistry*, [S. l.], v. 275, n. 27, p. 20520–20526, 7 jul. 2000.

BESTEIRO, S. *et al.* Export of a *Toxoplasma gondii* Rhoptry Neck Protein Complex at the Host Cell Membrane to Form the Moving Junction during Invasion. *PLoS Pathogens*, [S. l.], v. 5, n. 2, p. e1000309, 27 fev. 2009.

BESTEIRO, S.; DUBREMETZ, J.-F.; LEBRUN, M. The moving junction of apicomplexan parasites: a key structure for invasion. *Cellular Microbiology*, [S. l.], v. 13, n. 6, p. 797–805, jun. 2011.

BEYER, E. C.; BERTHOUD, V. M. Gap junction gene and protein families: Connexins, innexins, and pannexins. *Biochimica et biophysica acta*, [S. l.], v. 1860, n. 1, p. 5–8, jan. 2018.

BICHET, M. *et al.* The toxoplasma-host cell junction is anchored to the cell cortex to sustain parasite invasive force. *BMC Biology*, [S. l.], v. 12, p. 773, 31 dez. 2014.

BIOLOGIA MOLECULAR DA CÉLULA. [S. l.]: Artmed, 2021.

BLACK, M. W.; BOOTHROYD, J. C. Lytic cycle of *Toxoplasma gondii*. *Microbiology and molecular biology reviews: MMBR*, [S. l.], v. 64, n. 3, p. 607–623, set. 2000.

BLADER, I. J. *et al.* Lytic Cycle of *Toxoplasma gondii*: 15 Years Later. *Annual Review of Microbiology*, [S. l.], v. 69, n. Volume 69, 2015, p. 463–485, 15 out. 2015.

BOUGHATTAS, S. *Toxoplasma* infection and milk consumption: Meta-analysis of assumptions and evidences. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, [S. l.], v. 57, n. 13, p. 2924–2933, 2 set. 2017.

BOYER, K. M. Congenital toxoplasmosis: Current status of diagnosis, treatment, and prevention. *Seminars in Pediatric Infectious Diseases*, [S. l.], v. 11, n. 3, p. 165–171, 1 jul. 2000.

BRICEÑO, M. P. *et al.* *Toxoplasma gondii* Infection Promotes Epithelial Barrier Dysfunction of Caco-2 Cells. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry: Official Journal of the Histochemistry Society*, [S. l.], v. 64, n. 8, p. 459–469, ago. 2016.

CAMPOS DE CARVALHO, A. C. *et al.* Gap junction disappearance in astrocytes and leptomeningeal cells as a consequence of protozoan infection. *Brain Research*, [S. l.], v. 790, n. 1–2, p. 304–314, 20 abr. 1998.

CARTAGENA-RIVERA, A. X. *et al.* Apical surface supracellular mechanical properties in polarized epithelium using noninvasive acoustic force spectroscopy. *Nature Communications*, [S. l.], v. 8, n. 1, p. 1030, 18 out. 2017.

DE CARVALHO, Gabriella Oliveira Alves Moreira *et al.* Junction communication in the immune system: modulation of the GAP junctions by

infection with *Toxoplasma gondii*. *Brazilian Journal of Development*, v. 7, n. 1, p. 4165-4182, 2021.

CEREIJIDO, M.; MEZA, I.; MARTÍNEZ-PALOMO, A. Occluding junctions in cultured epithelial monolayers. *The American journal of physiology*, [S. l.], v. 240 3, p. 96–102, 1981.

CHO, Y. *et al.* Tricellulin secures the epithelial barrier at tricellular junctions by interacting with actomyosin. *Journal of Cell Biology*, [S. l.], v. 221, n. 4, p. e202009037, 11 fev. 2022.

DE MELO, T. G.; MEIRELLES, M. de N. S. L.; PEREIRA, M. C. S. *Trypanosoma cruzi* alters adherens junctions in cardiomyocytes. *Microbes and Infection*, [S. l.], v. 10, n. 12–13, p. 1405–1410, out. 2008.

DE SANTA BARBARA, P.; VAN DEN BRINK, G. R.; ROBERTS, D. J. Development and differentiation of the intestinal epithelium. *Cellular and Molecular Life Sciences*, [S. l.], v. 60, n. 7, p. 1322–1332, jul. 2003.

DEJANA, E.; ORSENIGO, F.; LAMPUGNANI, M. G. The role of adherens junctions and VE-cadherin in the control of vascular permeability. *Journal of Cell Science*, [S. l.], v. 121, n. 13, p. 2115–2122, 1 jul. 2008.

DEMIRIS, G.; OLIVER, D. P.; WASHINGTON, K. T. Defining and Analyzing the Problem. *Behavioral Intervention Research in Hospice and Palliative Care*. [S. l.]: Elsevier, 2019. p. 27–39. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B978012814449700003X>. Acesso em: 12 out. 2023.

DEROUIN, F.; PELLOUX, H. Prevention of toxoplasmosis in transplant patients. *Clinical Microbiology and Infection*, [S. l.], v. 14, n. 12, p. 1089–1101, 1 dez. 2008.

DUBEY, J. P. *et al.* Toxoplasmosis in humans and animals in Brazil: high prevalence, high burden of disease, and epidemiology. *Parasitology*, [S. l.], v. 139, n. 11, p. 1375–1424, set. 2012.

DUBEY, J. P.; FRENKEL, J. K. Feline toxoplasmosis from acutely infected mice and the development of *Toxoplasma* cysts. *The Journal of Protozoology*, [S. l.], v. 23, n. 4, p. 537–546, nov. 1976.

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*, [S. l.], v. 11, n. 2, p. 267–299, abr. 1998.

DUBEY, J. P.; MILLER, N. L.; FRENKEL, J. K. The *Toxoplasma gondii* oocyst from cat feces. *The Journal of Experimental Medicine*, [S. l.], v. 132, n. 4, p. 636–662, 1 out. 1970.

EBNET, K. *et al.* The junctional adhesion molecule (JAM) family members JAM-2 and JAM-3 associate with the cell polarity protein PAR-3: a possible role for JAMs in endothelial cell polarity. *Journal of Cell Science*, [S. l.], v. 116, n. 19, p. 3879–3891, 1 out. 2003.

EL SAFTAWY, E. A. *et al.* Effects of *Lactobacilli acidophilus* and/or spiramycin as an adjunct in toxoplasmosis infection challenged with diabetes. *Food and Waterborne Parasitology*, [S. l.], v. 32, p. e00201, 1 set. 2023.

ELKOUBY-NAOR, L.; BEN-YOSEF, T. Chapter 1 - Functions of Claudin Tight Junction Proteins and Their Complex Interactions in Various Physiological Systems. *International Review of Cell and Molecular Biology*. *International Review Of Cell and Molecular Biology*. [S. l.]: Academic Press, 2010. v. 279, p. 1–32. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1937644810790018>. Acesso em: 16 maio 2024.

ELMORE, S. A. *et al.* *Toxoplasma gondii*: epidemiology, feline clinical aspects, and prevention. *Trends in Parasitology*, [S. l.], v. 26, n. 4, p. 190–196, abr. 2010.

ESTRATÉGICAS, M. da S. S. de A. à S. D. de A. P. e. Atenção à Saúde do Recém-nascido: Guia para os profissionais de saúde. [S. l.]: Ms, 2011(A. Normas e Manuais Técnicos).

FANNING, A. S.; ANDERSON, J. M. Zonula Occludens-1 and -2 Are Cytosolic Scaffolds That Regulate the Assembly of Cellular Junctions. *Annals of the New York Academy of Sciences*, [S. l.], v. 1165, n. 1, p. 113–120, 2009.

FELDMAN, G.; MULLIN, J. M.; RYAN, M. Occludin: structure, function and regulation. *Advanced drug delivery reviews*, [S. l.], v. 57 6, p. 883–917, 2005.

FERGUSON, D. J. *et al.* Observations on the ultrastructure of the sporocyst and the initiation of sporozoite formation in *Toxoplasma gondii*. *Acta Pathologica Et Microbiologica Scandinavica. Section B, Microbiology*, [S. l.], v. 86B, n. 3, p. 165–167, jun. 1978.

FERGUSON, D. J. P. *et al.* Congenital Toxoplasmosis: Continued Parasite Proliferation in the Fetal Brain Despite Maternal Immunological Control in Other Tissues. *Clinical Infectious Diseases*, [S. l.], v. 56, n. 2, p. 204–208, 15 jan. 2013.

FERREIRA DA SILVA, M. da F. *et al.* Stress-related and spontaneous stage differentiation of *Toxoplasma gondii*. *Molecular bioSystems*, [S. l.], v. 4, n. 8, p. 824–834, ago. 2008.

FOROUTAN-RAD, M. *et al.* Toxoplasmosis in Blood Donors: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Transfusion Medicine Reviews*, [S. l.], v. 30, n. 3, p. 116–122, 1 jul. 2016.

FRANKLIN-MURRAY, A. L. *et al.* *Toxoplasma gondii* Dysregulates Barrier Function and Mechanotransduction Signaling in Human Endothelial Cells. *mSphere*, [S. l.], v. 5, n. 1, p. e00550-19, 29 jan. 2020.

FURUSE, M. *et al.* Overexpression of occludin, a tight junction-associated integral membrane protein, induces the formation of intracellular multilamellar bodies bearing tight junction-like structures. *Journal of cell science*, [S. l.], v. 109 (Pt 2), p. 429–35, 1996.

GARCIA, M. A.; NELSON, W. J.; CHAVEZ, N. Cell–Cell Junctions Organize Structural and Signaling Networks. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, [S. l.], v. 10, n. 4, p. a029181, abr. 2018.

GEILLER, B. *et al.* Type I and III interferons shape the retinal cytokine network and barrier function in an in vitro model of ocular toxoplasmosis. *Frontiers in Immunology*, [S. l.], v. 14, p. 1148037, 2023.

GILLRIE, M. R. *et al.* Src-family kinase dependent disruption of endothelial barrier function by Plasmodium falciparum merozoite proteins. Blood, [S. l.], United States, v. 110, n. 9, p. 3426–3435, 1 nov. 2007.

GOH, Eunice Jin Hui *et al.* Ocular toxoplasmosis. Ocular Immunology and Inflammation, v. 31, n. 7, p. 1342-1361, 2023.

GOMES, A. F. *et al.* Toxoplasma gondii down modulates cadherin expression in skeletal muscle cells inhibiting myogenesis. BMC microbiology, [S. l.], v. 11, p. 110, 18 maio 2011.

GREENE, C.; HANLEY, N.; CAMPBELL, M. Claudin-5: Gatekeeper of neurological function. Fluids and Barriers of the CNS, [S. l.], v. 16, 29 jan. 2019.

GRIGORYAN, T. *et al.* Deciphering the function of canonical Wnt signals in development and disease: conditional loss- and gain-of-function mutations of β -catenin in mice. Genes & Development, Company: Cold Spring Harbor Laboratory PressDistributor: Cold Spring Harbor Laboratory PressInstitution: Cold Spring Harbor Laboratory PressLabel: Cold Spring Harbor Laboratory Presspublisher: Cold Spring Harbor LabPMID: 18765787, v. 22, n. 17, p. 2308–2341, 9 jan. 2008.

HARRISON, O. J. *et al.* The Extracellular Architecture of Adherens Junctions Revealed by Crystal Structures of Type I Cadherins. Structure, [S. l.], v. 19, n. 2, p. 244–256, 9 fev. 2011.

HEHL, A. B. *et al.* Asexual expansion of Toxoplasma gondii merozoites is distinct from tachyzoites and entails expression of non-overlapping gene families to attach, invade, and replicate within feline enterocytes. BMC genomics, [S. l.], v. 16, n. 1, p. 66, 13 fev. 2015.

HERMISTON, M. L.; GORDON, J. I. In vivo analysis of cadherin function in the mouse intestinal epithelium: essential roles in adhesion, maintenance of differentiation, and regulation of programmed cell death. The Journal of Cell Biology, [S. l.], v. 129, n. 2, p. 489–506, abr. 1995.

HIDE, G. Role of vertical transmission of *Toxoplasma gondii* in prevalence of infection. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, [S. l.], v. 14, n. 3, p. 335–344, 2016.

HILL, D.; DUBEY, J. P. *Toxoplasma gondii*: transmission, diagnosis and prevention. *Clinical Microbiology and Infection: The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, [S. l.], v. 8, n. 10, p. 634–640, out. 2002.

HOLLIMAN, R. Toxoplasmosis, behaviour and personality. *The Journal of Infection*, [S. l.], v. 35 2, p. 105–110, 1997.

HOLTHAUS, D. *et al.* Harmonization of Protocols for Multi-Species Organoid Platforms to Study the Intestinal Biology of *Toxoplasma gondii* and Other Protozoan Infections. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, [S. l.], v. 10, p. 610368, 2020.

HUBER, A. H.; NELSON, W. J.; WEIS, W. I. Three-dimensional structure of the armadillo repeat region of beta-catenin. *Cell*, [S. l.], v. 90, n. 5, p. 871–882, 5 set. 1997.

IKENOUCI, J. *et al.* Loss of Occludin Affects Tricellular Localization of Tricellulin. *Molecular Biology of the Cell*, [S. l.], v. 19, n. 11, p. 4687–4693, nov. 2008.

JBI CRITICAL APPRAISAL TOOLS | JBI. [s. d.]. Disponível em: <https://jbi.global/critical-appraisal-tools>. Acesso em: 17 out. 2023.

JONES, E. J.; KORCSMAROS, T.; CARDING, S. R. Mechanisms and pathways of *Toxoplasma gondii* transepithelial migration. *Tissue Barriers*, [S. l.], v. 5, n. 1, p. e1273865–e1273865, abr. 2017.

KONARI, K. *et al.* Development of the blood-retinal barrier in vitro: formation of tight junctions as revealed by occludin and ZO-1 correlates with the barrier function of chick retinal pigment epithelial cells. *Experimental eye research*, [S. l.], v. 61 1, p. 99–108, 1995.

KOWALCZYK, A. P.; GREEN, K. J. Structure, function, and regulation of desmosomes. *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, [S. l.], v. 116, p. 95–118, 2013.

KRUG, S. M. *et al.* Tricellulin Forms a Barrier to Macromolecules in Tricellular Tight Junctions without Affecting Ion Permeability. *Molecular Biology of the Cell*, [S. l.], v. 20, n. 16, p. 3713–3724, 15 ago. 2009.

LAL-NAG, M.; MORIN, P. The claudins. *Genome Biology*, [S. l.], v. 10, p. 235–235, 2009.

LI, Y. *et al.* Structure of the Conserved Cytoplasmic C-terminal Domain of Occludin: Identification of the ZO-1 Binding Surface. *Journal of Molecular Biology*, [S. l.], v. 352, n. 1, p. 151–164, set. 2005.

MANDICOURT, G. *et al.* JAM-C Regulates Tight Junctions and Integrin-mediated Cell Adhesion and Migration *. *Journal of Biological Chemistry*, [S. l.], v. 282, n. 3, p. 1830–1837, 19 jan. 2007.

MARCOS, A. C. *et al.* Toxoplasma gondii infection impairs radial glia differentiation and its potential to modulate brain microvascular endothelial cell function in the cerebral cortex. *Microvascular Research*, [S. l.], v. 131, p. 104024, set. 2020.

MARIANO, C. *et al.* A look at tricellulin and its role in tight junction formation and maintenance. *European journal of cell biology*, [S. l.], v. 90 10, p. 787–96, 2011.

MARIN, A. A. *et al.* Perillyl alcohol modulates activation, permeability and integrity of human brain endothelial cells induced by Plasmodium falciparum. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, [S. l.], Brazil, v. 118, p. e230033, 2023.

MARTÍN-PADURA, I. *et al.* Junctional Adhesion Molecule, a Novel Member of the Immunoglobulin Superfamily That Distributes at Intercellular Junctions and Modulates Monocyte Transmigration. *Journal of Cell Biology*, [S. l.], v. 142, n. 1, p. 117–127, 13 jul. 1998.

MCCREA, P. D.; GU, D. The catenin family at a glance. *Journal of Cell Science*, [S. l.], v. 123, n. 5, p. 637–642, 1 mar. 2010.

MCNEIL, E.; CAPALDO, C. T.; MACARA, I. G. Zonula Occludens-1 Function in the Assembly of Tight Junctions in Madin-Darby Canine Kidney

Epithelial Cells. *Molecular Biology of the Cell*, [S. l.], v. 17, n. 4, p. 1922–1932, abr. 2006.

MERCIER, C. *et al.* Dense granules: are they key organelles to help understand the parasitophorous vacuole of all apicomplexa parasites? *International Journal for Parasitology*, [S. l.], v. 35, n. 8, p. 829–849, jul. 2005.

MICHIELS, C. Endothelial cell functions. *Journal of Cellular Physiology*, [S. l.], v. 196, n. 3, p. 430–443, set. 2003.

MITSUKA-BREGANÓ, R.; LOPES-MORI, F. M. R.; NAVARRO, I. T. Toxoplasmose adquirida na gestação e congênita: vigilância em saúde, diagnóstico, tratamento e condutas. [S. l.]: EDUEL, 2010. Disponível em: <http://books.scielo.org/id/cdtqr>. Acesso em: 25 maio 2024.

MOCHIDA, G. H. *et al.* A Homozygous Mutation in the Tight-Junction Protein JAM3 Causes Hemorrhagic Destruction of the Brain, Subependymal Calcification, and Congenital Cataracts. *The American Journal of Human Genetics*, [S. l.], v. 87, n. 6, p. 882–889, 10 dez. 2010.

MONTOYA, J. G.; LIESENFELD, O. Toxoplasmosis. *Lancet* (London, England), [S. l.], v. 363, n. 9425, p. 1965–1976, 12 jun. 2004.

NAGAFUCHI, A.; TAKEICHI, M. Cell binding function of E-cadherin is regulated by the cytoplasmic domain. *The EMBO Journal*, [S. l.], v. 7, n. 12, p. 3679–3684, dez. 1988.

NICHOLL, I. D. *et al.* α -Catenin Structure and Nanoscale Dynamics in Solution and in Complex with F-Actin. *Biophysical Journal*, [S. l.], v. 115, n. 4, p. 642–654, 21 ago. 2018.

NIESSEN, C. M. Tight Junctions/Adherens Junctions: Basic Structure and Function. *Journal of Investigative Dermatology*, [S. l.], v. 127, n. 11, p. 2525–2532, 1 nov. 2007.

NOGUEIRA, A. R. *et al.* Effect of *Toxoplasma gondii* infection on the junctional complex of retinal pigment epithelial cells. *Parasitology*, [S. l.], v. 143, n. 5, p. 568–75, mar. 2016.

NOSE, A.; TSUJI, K.; TAKEICHI, M. Localization of specificity determining sites in cadherin cell adhesion molecules. *Cell*, [S. l.], v. 61, n. 1, p. 147–155, 6 abr. 1990.

NUSRAT, A. *et al.* Multiple protein interactions involving proposed extracellular loop domains of the tight junction protein occludin. *Molecular biology of the cell*, [S. l.], v. 16 4, p. 1725–34, 2005.

OTANI, T. *et al.* Claudins and JAM-A coordinately regulate tight junction formation and epithelial polarity. *Journal of Cell Biology*, [S. l.], v. 218, n. 10, p. 3372–3396, 29 ago. 2019.

OTANI, T.; FURUSE, M. Tight Junction Structure and Function Revisited. *Trends in Cell Biology*, [S. l.], v. 30, n. 10, p. 805–817, 1 out. 2020.

PHAN, L. *et al.* Longitudinal study of new eye lesions in children with toxoplasmosis who were not treated during the first year of life. *American Journal of Ophthalmology*, [S. l.], v. 146, n. 3, p. 375–384, set. 2008.

PHILLIPS, B. T.; KIMBLE, J. A New Look at TCF and β -Catenin through the Lens of a Divergent *C. elegans* Wnt Pathway. *Developmental Cell*, [S. l.], v. 17, n. 1, p. 27–34, 21 jul. 2009.

PINARD, J. A.; LESLIE, N. S.; IRVINE, P. J. Maternal serologic screening for toxoplasmosis. *Journal of Midwifery & Women's Health*, [S. l.], v. 48, n. 5, p. 308–316; quiz 386, 2003.

POKUTTA, S.; WEIS, W. I. Structure of the Dimerization and β -Catenin- Binding Region of α -Catenin. *Molecular Cell*, [S. l.], v. 5, n. 3, p. 533–543, 1 mar. 2000.

RAMÍREZ-FLORES, C. J. *et al.* *Toxoplasma gondii* excreted/secreted proteases disrupt intercellular junction proteins in epithelial cell monolayers to facilitate tachyzoites paracellular migration. *Cell Microbiol*, [S. l.], v. 23, n. 3, p. e13283–e13283, 2021.

REMINGTON, J. S. *et al.* CHAPTER 31 - Toxoplasmosis. *In*: REMINGTON, J. S. *et al.* (org.). *Infectious Diseases of the Fetus and Newborn* (Seventh Edition). Philadelphia: W.B. Saunders, 2011. p. 918–1041.

Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9781416064008000316>.

REY, L. Parasitologia: parasitos e doenças parasitárias do homem nas Américas e na África.--. 2001. .

SAITOU, M. *et al.* Occludin-deficient Embryonic Stem Cells Can Differentiate into Polarized Epithelial Cells Bearing Tight Junctions. *The Journal of Cell Biology*, [S. l.], v. 141, n. 2, p. 397–408, 20 abr. 1998.

SANTOS, C. M. da C.; PIMENTA, C. A. de M.; NOBRE, M. R. C. The PICO strategy for the research question construction and evidence search. *Revista Latino-Americana de Enfermagem*, [S. l.], v. 15, p. 508–511, jun. 2007.

SEABRA, S. H.; DE SOUZA, W.; DAMATTA, R. A. *Toxoplasma gondii* partially inhibits nitric oxide production of activated murine macrophages. *Experimental Parasitology*, [S. l.], v. 100, n. 1, p. 62–70, jan. 2002.

SETHI, K. *et al.* Immunity to *Toxoplasma gondii* induced in vitro in non-immune mouse macrophages with specifically immune lymphocytes. *Journal of immunology*, [S. l.], v. 115 4, p. 1151–8, 1975.

SIBLEY, L. D. Invasion and intracellular survival by protozoan parasites. *Immunological Reviews*, [S. l.], v. 240, n. 1, p. 72–91, mar. 2011.

SIMSKE, J. Claudins reign. *Tissue Barriers*, [S. l.], v. 1, 2013. Disponível em: <https://consensus.app/papers/claudins-reign-simske/a8cfb3df1d23527bbfbc7a55bdce55d6/>. Acesso em: 16 maio 2024.

SONG, H. B. *et al.* Disruption of outer blood-retinal barrier by *Toxoplasma gondii*-infected monocytes is mediated by paracrinely activated FAK signaling. *PloS One*, [S. l.], v. 12, n. 4, p. e0175159, 2017.

SOUZA, M. T. de; SILVA, M. D. da; CARVALHO, R. de. Integrative review: what is it? How to do it? *einstein* (São Paulo), [S. l.], v. 8, n. 1, p. 102–106, 1 mar. 2010.

SOUZA, W. de *et al.* Structural organization of the tachyzoite of *Toxoplasma gondii* [Abstract in English]. *Scientia Medica*, [S. l.], v. 20, n. 1, p. 131–143, 22 fev. 2010.

SUSOMBOON, P. *et al.* Down-regulation of tight junction mRNAs in human endothelial cells co-cultured with Plasmodium falciparum-infected erythrocytes. *Parasitology international*, [S. l.], Netherlands, v. 55, n. 2, p. 107–112, jun. 2006.

TENTER, A. M.; HECKEROTH, A. R.; WEISS, L. M. Toxoplasma gondii: from animals to humans. *International Journal for Parasitology*, [S. l.], v. 30, n. 12–13, p. 1217–1258, nov. 2000.

TEPASS, U. Adherens junctions: new insight into assembly, modulation and function. *BioEssays*, [S. l.], v. 24, n. 8, p. 690–695, 2002.

TEUTSCH, S. M. *et al.* Epidemic toxoplasmosis associated with infected cats. *The New England Journal of Medicine*, [S. l.], v. 300, n. 13, p. 695–699, 29 mar. 1979.

TORONTO, C. E.; REMINGTON, R. (Org.). *A Step-by-Step Guide to Conducting an Integrative Review*. Cham: Springer International Publishing, 2020. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-030-37504-1>. Acesso em: 12 out. 2023.

TOXOPLASMA GONDII TISSUE CYST. [s. d.]. EurekaAlert! Disponível em: <https://www.eurekaalert.org/multimedia/873759>. Acesso em: 25 maio 2024.

TSUKITA, S.; FURUSE, M. The Structure and Function of Claudins, Cell Adhesion Molecules at Tight Junctions. *Annals of the New York Academy of Sciences*, [S. l.], v. 915, 2000. Disponível em: <https://consensus.app/papers/structure-function-claudins-cell-adhesion-molecules-tsu-kita/e1895415e85656e0a7955d7ceab95048/>. Acesso em: 16 maio 2024.

TSUKITA, S.; FURUSE, M.; ITOH, M. Molecular dissection of tight junctions. *Cell structure and function*, [S. l.], v. 21 5, p. 381–5, 1996.

VAN ITALLIE, C. M.; ANDERSON, J. M. Occludin confers adhesiveness when expressed in fibroblasts. *Journal of Cell Science*, [S. l.], v. 110 (Pt 9), p. 1113–1121, maio 1997.

VILLAREAL, M. R. English: the diagram shows a cell-cell junction called adherens or zonula adherens. It also contains the main proteins

involved in it. [S. l.: s. n.], 4 maio 2006. Disponível em: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Adherens_Junctions_structural_proteins.svg. Acesso em: 25 maio 2024.

WALKO, G.; CASTAÑÓN, M. J.; WICHE, G. Molecular architecture and function of the hemidesmosome. *Cell and Tissue Research*, [S. l.], v. 360, n. 2, p. 363–378, 2015.

WICHAPOON, B. *et al.* Glomerular changes and alterations of zonula occludens-1 in the kidneys of Plasmodium falciparum malaria patients. *Malaria journal*, [S. l.], England, v. 13, p. 176, 9 maio 2014.

WONG, V.; GUMBINER, B. A Synthetic Peptide Corresponding to the Extracellular Domain of Occludin Perturbs the Tight Junction Permeability Barrier. *The Journal of Cell Biology*, [S. l.], v. 136, p. 399–409, 1997.

YONEMURA, S. *et al.* α -Catenin as a tension transducer that induces adherens junction development. *Nature Cell Biology*, [S. l.], v. 12, p. 533–542, 2010.

ZIHNI, C. *et al.* Tight junctions: from simple barriers to multifunctional molecular gates. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, [S. l.], v. 17, n. 9, p. 564–580, set. 2016.