UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO" FACULDADE DE MEDICINA

RENATO TAVARES CONCEIÇÃO

USO DA COMBINAÇÃO DE ALBENDAZOL E PRAZIQUANTEL DE FORMA ISOLADA OU EM ASSOCIAÇÃO COM AGENTES IMUNOSSUPRESSORES PARA O TRATAMENTO DE NEUROCISTICERCOSE EXTRAPARENQUIMATOSA EM RATOS

Tese apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Campus de Botucatu, para obtenção de título de Doutor em Cirurgia e Medicina Translacional.

ORIENTADOR: PROF. DR. PEDRO TADAO HAMAMOTO FILHO

Botucatu - SP

2025

RENATO TAVARES CONCEIÇÃO

USO DA COMBINAÇÃO DE ALBENDAZOL E PRAZIQUANTEL DE FORMA ISOLADA OU EM ASSOCIAÇÃO COM AGENTES IMUNOSSUPRESSORES PARA O TRATAMENTO DE NEUROCISTICERCOSE EXTRAPARENQUIMATOSA EM RATOS

Tese apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Campus de Botucatu, para obtenção de título de Doutorem Cirurgia e Medicina Translacional.

ORIENTADOR: PROF. DR. PEDRO TADAO HAMAMOTO FILHO

Botucatu - SP

2025

C744u

Conceição, Renato Tavares
Uso da Combinação de Albendazol e Praziquantel de Forma Isolada ou em Associação com Agentes Imunossupressores para o Tratamento da Neurocisticercose Extraparenquimatosa em Ratos / Renato Tavares Conceição. -- Botucatu, 2025
94 p. : tabs., fotos, mapas

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Medicina, Botucatu
Orientador: Pedro Tadao Hamamoto Filho

1. Neurocisticercose. 2. Hidrocefalia. 3. Inflamação. 4. Taenia. 5. Resposta Imune. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Dados fornecidos pelo autor(a).

IMPACTO ESPERADO NA SOCIEDADE

A pesquisa desenvolvida teve como objetivo buscar uma nova forma de tratamento para a neurocisticercose extraparenquimatosa, visando melhorar as condições de tratamento dessa doença para a sociedade e reduzir os possíveis efeitos adversos que os tratamentos atuais causam.

EXPECTED IMPACT ON SOCIETY

The research developed aimed to find a new form of treatment for extraparenchymal neurocysticercosis, seeking to improve the treatment conditions for this disease in society and reduce the possible side effects caused by current treatments.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Botucatu

ATA DA DEFESA PÚBLICA DA TESE DE DOUTORADO DE RENATO TAVARES CONCEIÇÃO, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIRURGIA E MEDICINA TRANSLACIONAL, DA FACULDADE DE MEDICINA.

Aos 08 dias do mês de julho do ano de 2025, às 14h, por meio de Videoconferência, realizou-se a defesa de TESE DE DOUTORADO de RENATO TAVARES CONCEIÇÃO, intitulada **USO DA COMBINAÇÃO DE ALBENDAZOL E PRAZIQUANTEL DE FORMA ISOLADA OU EM ASSOCIAÇÃO COM AGENTES IMUNOSSUPRESSORES PARA O TRATAMENTO DE NEUROCISTICERCOSE EM RATOS**. A Comissão Examinadora foi constituída pelos seguintes membros: Prof. Dr. PEDRO TADAO HAMAMOTO FILHO (Orientador(a) - Participação Presencial) do(a) Depto. de Neurociências e Saúde Mental / FM/Botucatu - Unesp, Prof. Dr. MARCOS DEVANIR SILVA DA COSTA (Participação Virtual) do(a) Depto. de Neurologia e Neurocirurgia / EPM/São Paulo - Unifesp, Prof. Dr. THIAGO DIAS FERNANDES (Participação Virtual) do(a) Unidade de Especialidades Clínicas / HU/Campo Grande - UFMS. Após a exposição pelo doutorando e arguição pelos membros da Comissão Examinadora que participaram do ato, de forma presencial e/ou virtual, o discente recebeu o conceito final: Aprovado. Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelo(a) Presidente(a) da Comissão Examinadora.

Prof. Dr. PEDRO TADAO HAMAMOTO FILHO

DEDICATÓRIA

A Deus,
pois Ele é a fonte de luz para vencer os dias ruins e a fonte de inspiração para comemorar os dias de alegria.

A Maria Paula Toldo Tavares (*In memoriam),*
minha mãe, a mulher que me ensinou que é possível voar mesmo sem asas, que sonhou junto comigo todos os meus objetivos e que hoje me guarda e me protege.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Professor Pedro Tadao Hamamoto Filho, por aceitar me orientar mesmo sabendo de todas as minhas dificuldades para realizar essa tese. Por ser para mim muito mais do que orientador, ser um amigo que aconselha e um educador que ensina.

Aos meus irmãos, Julia e Lucas, por estarem sempre ao meu lado me dando suporte para enfrentar todos os desafios da vida, por dividirem todos os momentos de alegria e por serem meu ponto de referência. Apesar da distância física, sei que vocês torcem por mim em cada etapa da minha vida e com certeza esse trabalho não seria possível sem vocês.

À minha namorada, Tainara, por dividir a vida comigo e me dar apoio em todas as minhas grandes decisões, sem hesitar. Sem você, os meus dias não teriam o mesmo valor.

Ao meu pai, Eduardo, por desde sempre me incentivar nos estudos e estimular meu interesse acadêmico.

À minha família, avós, tios e primos. A vida com certeza foi muito mais viva e alegre por ter crescido perto de pessoas tão especiais como vocês.

Aos meus sogros, Monica e Wallace, por me acolherem em sua casa e me oferecerem uma família.

A todos os amigos que fiz durante a vida por todos os lugares que passei. Toda trajetória é mais fácil e mais feliz quando temos pessoas especiais ao nosso lado.

A todos do grupo de pesquisa de Neurocisticercose da FMB – UNESP de Botucatu orientados pelo professor Pedro, principalmente à Tatiane e ao Matheus. A ajuda de todos vocês foi extremamente importante para a condução desse trabalho.

A todos os meus professores, que contribuíram diretamente na minha trajetória acadêmica, mas em especial à Professora Sheila Canevese Rahal (orientadora durante os 5 anos de graduação), Professor José Joaquim Titton Ranzani (*In memoriam* - orientador da residência), Professora Mônica Vicky Bahr Arias (orientadora de mestrado) e os professores José de Anchieta de Castro e Horta Júnior e Ricardo de Souza Cavalcanti (responsáveis pelas

bancas de acompanhamento de doutorado). Todos vocês tiveram uma contribuição muito significativa na minha vida acadêmica e espero poder fazer a diferença na vida de muitos alunos assim como vocês fizeram na minha.

À Márcia Fonseca Piagentini Cruz, secretária do programa de pós graduação em Cirurgia e Medicina Translacional da FMB UNESP Botucatu, por todas as vezes que você me socorreu e me aconselhou sempre de forma educada e afetiva.

A todos os alunos que tive a oportunidade de passar conhecimento e que também muito me ensinaram. O sonho da docência sempre se fez presente em minha vida e sempre me motivou a ser uma pessoa e um profissional melhor.

A todos os animais que tive o privilégio de cuidar e tratar. Em especial, à minha cachorra, Brahma, que durante seus 14 anos, foi uma companheira que me ensinou muito sobre amor e cuidados. A essência da minha profissão e a vulnerabilidade dos meus pacientes me moldaram como profissional e me tornaram uma pessoa melhor, me dando subsídio para chegar até aqui.

EPÍGRAFE

A saudade eterniza a presença de quem se foi.
Com o tempo esta dor se aquieta,
se transforma em silêncio que espera,
pelos braços da vida um dia reencontrar.

Pe. Fabio de Melo

RESUMO

A cisticercose é causada por um cestódeo denominado *Taenia solium*, sendo a doença parasitária de maior frequência no sistema nervoso central (SNC) em países endêmicos. A neurocisticercose extraparenquimatosa (ExP-NCC) ocorre quando as larvas se alojam principalmente nos ventrículos e no espaço subaracnoide das cisternas basais, sendo a apresentação mais grave da doença. O tratamento da ExP-NCC ainda é um desafio devido à menor eficiência na destruição dos cistos e dificuldade no controle da neuroinflamação. Neste trabalho, avaliamos o uso de anti-helmínticos associados a agentes imunossupressores para o tratamento de NCC-ExP induzida em ratos. Para isso foram utilizados 19 animais, selecionados após realização de ressonância magnética (RM), e divididos em 4 grupos experimentais: controle, Albendazol (ALB) + Praziquantel (PZQ), ALB + PZQ + DEX e ALB + PZQ + CTB. Os grupos receberam tratamento por 15 dias. Após 30 dias do fim do tratamento foi realizada nova RM e eutanásia dos animais com posterior remoção do encéfalo. As amostras do encéfalo e amostras de sangue foram processadas para realização de ELISA para dosagem das citocinas IL-6, IL-10, IFN-ɣ e TGF-β e as amostras do encéfalo foram utlizadas para realização de RT-qPCR para os genes *Fn1*, *Mmp-2*, *Mmp-9*, *Tgfb2*, *Slamf5*, *Ilf2*, *Rorc* e *Runx3*. As imagens das RM pré e pós-tratamento foram utilizadas para avaliação da volumetria ventricular utilizando o software ITK-snap. Foi possível observar diferença significativa nas citocinas IL-6 e IL-10 ($p<0,05$). Em ambas as citocinas IL-6 e IL-10, os valores do grupo tratado com dexametasona se assemelharam com o grupo controle enquanto o grupo tratado com citarabina ficou mais próximo do grupo tratado apenas com albendazol + praziquantel. O grupo tratado com dexametasona foi o único que apresentou redução da inflamação causada pelo cisto visto que as citocinas IL-6 e IL-10 apresentaram um menor valor. Na análise de volumetria não houve diferença significativa entre os grupos, porém o grupo controle se apresentou semelhante ao grupo tratado com dexametasona, enquanto o grupo tratado com antiparasitários se assemelhou ao grupo tratado com citarabina no pós-tratamento. Nas avaliações de expressão gênica com o RT-qPCR, não houve diferenças estatísticas entre os grupos avaliados, porém o grupo tratado com

antiparasitários associados a dexamentasona apresentaram maiores valores de *Fn1* e *Mmp-9* e menores valores de *Slam5* e *Rorc*. Esses fatores sugerem que a supressão de *Slam5* e *Rorc* impactaram na resposta imune dos hospedeiros em relação ao cisto, levando a um dano tecidual que elevou a expressão de *Fn1* e *Mmp-9*. Em conclusão, a citarabina não parece ser efetiva como a dexametasona no controle da neuroinflamação na ExP-NCC experimental em ratos e há indícios de que a dexametasona tenha favorecido a sobrevida do parasita em nosso modelo experimental.

ABSTRACT

Cysticercosisis caused by a cestode called *Taenia solium* and is the most frequent parasitic disease affecting the central nervous system (CNS) in endemic countries. Extraparenchymal neurocysticercosis (ExP-NCC) occurs when larvae primarily lodge in the ventricles and the subarachnoid space of the basal cisterns, representing the most severe form of the disease. The treatment of ExP-NCC remains challenging due to the lower efficacy in cyst destruction and difficulty in controlling neuroinflammation. In this study, we evaluated the use of anthelmintics combined with immunosuppressive agents for treating experimentally induced ExP-NCC in rats. Nineteen animals were selected after undergoing magnetic resonance imaging (MRI) and divided into four experimental groups: control, Albendazole (ALB) + Praziquantel (PZQ), ALB + PZQ + DEX, and ALB + PZQ + CTB. The groups received treatment for 15 days. Thirty days after the end of treatment, a second MRI was performed, followed by eutanásia and brain tissue removal. Brain and blood samples were processed for ELISA to quantify cytokines IL-6, IL-10, IFN-γ, and TGF-β, while brain samples were used for RT-qPCR analysis of the genes *Fn1, Mmp-2, Mmp-9, Tgfb2, Slamf5, Ilf2, Rorc* and *Runx3.* Pre and post-treatment MRI images were analyzed for ventricular volumetry using ITK-Snap software. Significant diferences were observed in the cytokines IL-6 and IL-10 ($p<0.05$). In both cases, the values for the dexamethasone-treated group resembled those of the control group, while the cytarabine-treated group was closer to the albendazole + praziquantel-only group. The dexamethasone-treated group was the Only one to show a reduction in cyst-induced inflammation, as IL-6 and IL-10 levels were lower. Ventricular volumetry analysis showed no significant diferences between groups; however, the control group was similar to the dexamethasone-treated group, while the anthelmintic-treated group resembled the cytarabine-treated group in post-treatment measurements. In the RT-qPCR gene expression. analysis, no statistical diferences were observed among the groups. However, the group treated with anthelmintics combined with dexamethasone showed higher *Fn1* and *Mmp-9* expression and lower *Slam5* and *Rorc* levels. These findings suggest that the suppression of *Slam5* and *Rorc* impacted the host immune response to the cyst, Leading to tissue damage

that increased *Fn1* and *Mmp-9* expression. In conclusion, cytarabine does not seem as effective as dexamethasone in controlling neuroinflammation in experimental ExP-NCC in rats. There is evidence that dexamethasone may have favored parasite survival in our experimental model.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Distribuição mundial da infecção por *Taenia Solium.*

Figura 2. Imagem de RM mostrando presença de cisto subaracnoide na apresentação incial evidenciado pela seta branca (a), imagem de RM após tratamento (b) e imagem de RM após recidiva do cisto evidenciado pela seta branca (c).

Figura 3. Alterações promovidas pela reação inflamatória na neurocisticercose como acidente vascular cerebral (a), aracnoidite (b) e desenvolvimento de hidrocefalia (c).

Figura 4. Cistos de *Taenia crassiceps* na cavidade da cavidade peritoneal de camundongo (a). Cistos depositados em placa de Petri para seleção de cistos viáveis (b).

Figura 5. Imagens de RM em corte coronal (a), em corte axial (b) e em corte sagital (c) de um animal incluído no estudo que apresentou volume ventricular maior que 5mm³.

Figura 6. Imagem do software ITK snap usado para a determinação do volume ventricular para quantificar o grau de hidrocefalia de um animal incluído no estudo.

Figura 7. Imagem de ressonância magnética pré e pós-tratamento de dois animais.

Figura 8. Comparação das médias dos volumes ventriculares entre os grupos experimentais antes do tratamento.

Figura 9. Comparação das médias dos volumes ventriculares entre os grupos experimentais após o tratamento.

Figura 10. Comparação das médias entre a diferença pré e pós tratamento dos grupos experimentais.

Figura11. Quantificação de IL-6 em tecido cerebral. Os grupos Controle e Antiparasitários + Dexametasona apresentaram os menores valores. p=0,0230 para Antiparasitários + Dexametasona VS Antiparasitários + Citarabina.

Figura 12. Quantificação de IL-10 em tecido cerebral. Os grupos Controle e Antiparasitários + Dexametasona apresentaram os menores valores. Não houve diferença estatística entre os grupos.

Figura 13. Quantificação de INF-γ em tecido cerebral. Os grupos Controle e Antiparasitários + Dexametasona apresentaram os menores valores. Não houve diferença estatística entre os grupos.

Figura14. Quantificação de TGF-β em tecido cerebral. Os grupos Controle e Antiparasitários + Citarabina apresentaram os menores valores. Não houve diferença estatística entre os grupos.

Figura15. Quantificação de IL-6 no plasma sanguíneo. O grupo controle apresentou o menor valor. Não houve diferença estatística entre os grupos.

Figura16. Quantificação de IL-10 no plasma sanguíneo. O grupo controle e o grupo Antiparasitários + Citarabina apresentaram os menores valores. Não houve diferença estatística entre os grupos. Não houve diferença estatística entre os grupos.

Figura 17. Quantificação de INF-γ em tecido cerebral. Os grupos Controle e Antiparasitários + Dexametasona apresentaram os menores valores. Não houve diferença estatística entre os grupos.

Figura 18. Quantificação de TGF-β no plasma sanguíneo. Os grupos Controle e Antiparasitários + Dexametasona apresentaram os menores valores. Não houve diferença estatística entre os grupos.

Figura 19. Quantificação da expressão gênica *de FN1, Mmp2, Mmp9, Tgb2, Slamf5, Ilf2, Rorc e Runx3* em cada grupo experimental. Não houve diferença estatística entre os grupos.

Figura 20. Comparativo entre os perfis de citocinas avaliadas por Milhomem e colaboradores (a) e o presente estudo (b).

Figura 21. Comparativo entre os perfis de IL-6 e IL-10 no estudo de Mehta e colaboradores (a) e no presente estudo (b).

Figura 22. Gráfico evidenciando o percentual de sobrevida dos cistos em relação ao tempo descrito por Adalid-Peralta e colaboradores (a) e os gráficos de quantidade de TGF-β (b) e de variação do volume ventricular (c) para cada grupo experimental do presente estudo.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Sequências dos oligonucleotídeos iniciadores (primers) utilizados na PCR em tempo real.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABZ: Albendazol
cDNA: DNA complementar
CTB: Citarabina
CTRL: Controle
DEXA: Dexametasona
EPI: Equipamento de Proteção Individual
ExP-NCC: Neurocisticercose Extraparenquimatosa
FN1: Fibronectina 1
IL-1β: Interleucina 1β
IL-2: Interleucina 2
IL-4: Interleucina 4
IL-5: Interleucina 5
IL-6: Interleucina 6
IL-8: Interleucina 8
IL-10: Interleucina 10
IL-12: Interleucina 12
IL-23: Interleucina 23
Ilf2: Interleukin Enhancer Binding Factor 2
INF-γ: Interferon Gama
LCE: Líquido Cerebroespinhal
LCR: Líquido cefalorraquidiano
MEG: Meningoencefalite Granulomatosa
Mmp2: Metaloproteinase 2
Mmp9: Metaloproteinase 9
NCC: Neurocisticercose
ncRNA: RNA não codificante
NTZ: Nitozoxanida
PBS: Solução Salina Tamponada com Fosfato
PCR: Reação em Cadeia da Polimerase
PIC: Pressão Intracraniana
P-NCC: Neurocisticercose Parenquimatosa
PZQ: Praziquantel
qPCR: PCR quantitativo
RM: Ressonância Magnética
RNA: Ácido Ribonucleico
Rorc: RAR-related orphan receptor C
RT-qPCR: PCR quantitativo em Tempo Real
*Runx*3: Runt-related transcription factor 3
*Slamf*5: Signaling Lymphocyte Activation Molecule Family Member 5
SNC: Sistema Nervoso Central
T. crassiceps: Taenia crassiceps
T. sollium: Taenia solium
TGF-β : Fator de Crescimento Transformador Beta
*Tgfb*2: Transforming Growth Factor Beta 2
TNF-α: Fator de Necrose Tumoral Alpha
TNF-β: Fator de Necrose Tumoral Beta
TTO: Tratamento

LISTA DE SÍMBOLOS

%: Porcentagem
ºC: Graus Celsius
cm: Centímetro
g: Giros
g: Grama
G: Gauge
mg: Miligrama
mg/kg: Miligrama por quilograma
mg/m²: Miligrama por metro quadrado
mg/ml: Miligrama por mililitro
ml: Mililitro
mm³: Milímetro cúbico
nm: nanômetro
pg/ml: picograma por mililitro
T: Tesla
µL: Microlitro
µm: Micrômetro

SUMÁRIO

1. Introdução.....22
   1.1 Neurocisticercose.....22
   1.2 Neurocisticercose extraparenquimatosa e seus tratamentos.....27
   1.3 Neuroinflamação e o uso de corticoides.....30
   1.4 Expressão Gênica na Inflamação.....32
   1.5 *Taenia crassiceps* e Seu Uso em Modelos Experimentais.....33
   1.6 Citarabina.....34
2. Justificativa.....37
3. Objetivos.....39
4. Métodos.....41
   4.1 Cálculo do tamanho amostral.....41
   4.2 Indução da neurocisticercose.....42
   4.3 Avaliação radiológica e grupos experimentais.....44
   4.4 Ensaio imunoenzimático (ELISA).....45
   4.5 PCR quantitativo (qPCR) em tempo real.....47
   4.6 Análise estatística.....48
   4.7 Linha do tempo do delineamento experimental.....49
5. Resultados.....51
   5.1 Análise radiológica.....51
   5.2 Avaliação dos ensaios imunoenzimáticos.....54
   5.3 Avaliação do PCR quantitativo.....57
6. Discussão.....60
7. Conclusão.....70
8. Referências Bibliográficas.....72
9. Artigo científico em inglês.....79
10. Certificado CEUA 1377/2021.....95

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

1.1 Neurocisticercose

A cisticercose é causada por um cestódeo denominado *Taenia solium* e ocorre após ingestão de ovos desse parasita com posterior eclosão de larvas que podem migrar para diversos tecidos por via hematogênica, sendo responsável por um grande problema de saúde pública (Pfuetzenreiter; Pires, 2000).

A *Taenia solium* é um parasita invertebrado que possui como hospedeiros intermediários os suínos, e os seres humanos como hospedeiros definitivos. O verme adulto, que se encontra no intestino dos seres humanos, reproduz-se pelo método de autofecundação e seus ovos são liberados nas proglotes. Essas proglotes são liberadas para o ambiente por meio das fezes do hospedeiro definitivo e são ingeridas pelos suínos. Quando os ovos chegam no intestino do hospedeiro intermediário, eles eclodem e os zigotos se transformam em oncosferas, deixando o intestino e migrando para a musculatura do porco na forma de cisticercos. O ciclo de vida do parasita será fechado quando o homem ingere a carne de porco contaminada por cisticercos e o parasita se desenvolve até a forma adulta no intestino do hospedeiro. Quando os ovos são ingeridos pelo homem, ele passa a ser um hospedeiro intermediário errático e as oncosferas ativadas terão o sistema nervoso central (SNC) como local de preferência para se alojarem, causando a neurocisticercose (Coyle et al., 2012; Oliveira; Figueiredo; Peres, 2018).

A neurocisticercose ocorre nos casos em que o hospedeiro definitivo ingere os ovos infectantes do parasita. Esse tipo de infecção ocorre

principalmente devido à falta de condições sanitárias adequadas, sendo essa enfermidade endêmica em países da América Latina, África sub-Saariana e sul da Ásia (Figura 1) (Coyle et al., 2012; Del Brutto, 2012; Del Brutto; Garcia, 2013). Essa enfermidade é a doença parasitária de maior prevalência no sistema nervoso central (SNC) nesses países, apresentando um caráter pleomórfico devido à possibilidade de alojamento das larvas de *T. solium* em qualquer parte do SNC. As manifestações clínicas dependem da localidade do SNC afetada e do número e tamanho dos cistos, bem como da heterogeneidade da resposta inflamatória do hospedeiro e também da pressão de infecção (Carabin et al., 2011; Garcia; Nash; Del Brutto, 2014; Hamamoto Filho et al., 2020; Marcin Sierra et al., 2017).

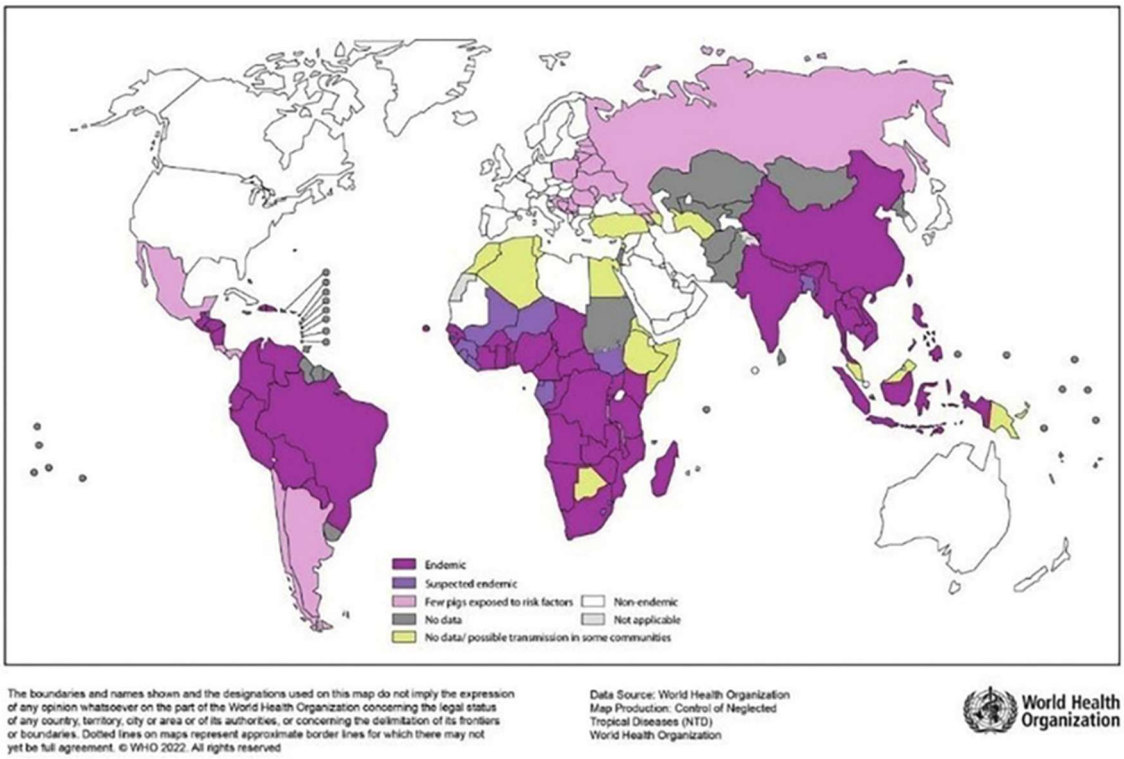


Figura 1. Distribuição mundial da infecção por *Taenia Solium*. Fonte: Organização Mundial da Saúde, 2022.

A neurocisticercose pode ocorrer de duas formas distintas. A primeira forma é a parenquimatosa (P-NCC), na qual os cistos se instalam no

parênquima cerebral e, geralmente, são destruídos pela resposta imune do indivíduo. A menos que ocorra uma infestação maciça, essa forma da doença apresenta sinais clínicos leves, tendo como principal manifestação clínica as crises epilépticas, frequentemente controladas com terapia anticonvulsivante (Duque; Burneo, 2017). Outras alterações possíveis na P-NCC são cefaleia, déficits focais e alterações comportamentais (Garcia; Nash; Del Brutto, 2014). O tratamento recomendado para essa forma da doença baseia-se na administração de antiparasitários como Albendazol e Praziquantel. O uso de corticosteroides, associados aos antiparasitários, é recomendado visando reduzir a intensa reação inflamatória causada pela degeneração dos parasitas. Naqueles pacientes que apresentam crises epilépticas, as drogas anticonvulsivantes devem ser empregadas (White et al., 2018).

Em uma revisão sistemática realizada por CUELLO-GARCÍA et al.(2013), foi observado que o único grupo que apresentou diferença estatística na redução da recorrência de crises epilépticas e das lesões presentes na ressonância magnética ou na tomografia computadorizada foi o tratamento com corticoide quando comparado ao tratamento placebo. Porém, esse estudo também evidenciou que, dentro de toda a literatura utilizada pelos autores avaliando uso isolado de corticoides, apenas um não apresentava alto risco de viés. Com isso, apresenta-se com uma baixa qualidade de evidência quando considerado o conjunto geral (Cuello-García et al., 2013; Nash et al., 2011).

A outra forma, denominada neurocisticercose extraparenquimatosa (ExP-NCC), ocorre quando as larvas se alojam fora do parênquima cerebral, principalmente nos ventrículos e no espaço subaracnoide das cisternas basais. Essa apresentação da doença é mais grave e os sinais clínicos estão

associados ao aumento da pressão intracraniana devido à alteração no fluxo de líquido cerebroespinhal (LCE) decorrente da obstrução mecânica causada pelos cistos ou pela inflamação da aracnoide basal (Fleury et al., 2011; Hamamoto Filho; Zanini; Fleury, 2019; Marcin Sierra et al., 2017).

O tratamento da ExP-NCC ainda é desafiador, uma vez que os antiparasitários utilizados na rotina não possuem uma eficácia alta em relação à destruição dos cisticercos e, por outro lado, a inflamação necessária à destruição dos cistos pode piorar as condições clínicas do paciente (Fleury; Sciutto, 2020; Toledo et al., 2018). No geral, o tratamento é realizado com Albendazol (ABZ) ou Praziquantel (PZQ) na tentativa de reduzir a carga parasitária, e com uso de corticoides como a prednisona ou a dexametasona, para controle da neuroinflamação (Brutto et al., 1992; Fleury et al., 2011; Garcia; Nash; Del Brutto, 2014; Toledo et al., 2018) porém nenhuma dessas drogas apresenta uma eficácia ideal para o tratamento da ExP-NCC. O parasita pode apresentar uma relação de evasão da resposta inflamatória com o hospedeiro. A administração de anti-parasitários pode levar a uma resposta inflamatória aguda e determinar o surgimento de sintomas. Com isso, o estado inflamatório que se deve suprimir é causado pela própria terapia (Garcia et al., 2004; Nash et al., 2011). O uso de corticoides como terapia para a neuroinflamação na NCC, apesar de recomendado, pode contribuir com a manutenção da viabilidade dos parasitas.

Como o tratamento da neurocisticercose por vezes se baseia na administração de corticoides por longos períodos, atualmente novos fármacos que atuem na inflamação e que possam reduzir ou mesmo suspender a utilização de corticoides têm sido pesquisados visando diminuir os efeitos

deletérios da utilização desses fármacos em longo prazo. Alguns efeitos adversos importantes como síndrome de Cushing, diabetes insulino-dependente, glaucoma, necrose asséptica da cabeça do fêmur e miopatias podem ser citados quando corticoides são administrados em longo prazo. A terapia com metotrexato já foi relatada em alguns protocolos de tratamento, mostrando-se eficaz para ajudar a reduzir as doses de corticoide. Entretanto, essa droga também pode apresentar efeitos adversos importantes, como estomatite ulcerativa e leucopenia, que impossibilitam seu uso em alguns pacientes (Anand et al., 2019; Mitre et al., 2007; Nash et al., 2011).

Os fatores imunoinflamatórios estão diretamente ligados a eficácia do tratamento e podem ser um dos principais motivos para as diferenças observadas no tratamento da neurocisticercose parenquimatosa e da extra-parenquimatosa, já que na P-NCC os cistos estão presentes em um ambiente repleto de células imunocompetentes e no caso da ExP-NCC os cistos estão rodeados pelo liquido cefalorraquidiano (LCR), que em condições normais, é um fluido acelular (Toledo et al., 2018).

Outro fator que pode contribuir dificultando o tratamento e colaborando com a manutenção da ExP-NCC é o potencial de reparação do parasita. Toledo et al., 2025 realizaram um estudo que revisou os dados de 6 casos tratados para ExP-NCC com sucesso, porém que apresentaram recidiva do quadro com os cistos no mesmo local após alguns meses (Figura 2). Esse estudo observou nos exames de imagem uma evolução clara dos cistos durante o acompanhamento e, nas avaliações dos cistos *in vitro*, observou uma capacidade de reparo e crescimento nas paredes dos cistos rompidos.

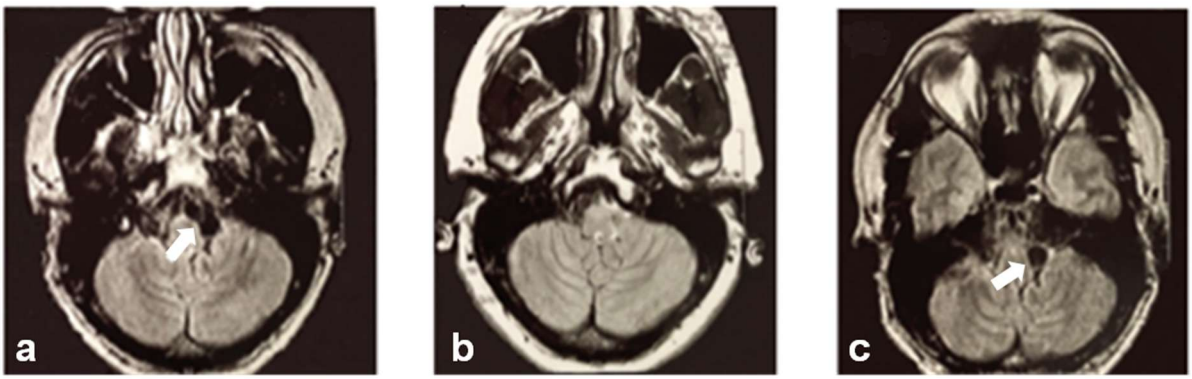


Figura 2. Imagem de RM mostrando presença de cisto subaracnoide na apresentação incial evidenciado pela seta branca (a), imagem de RM após tratamento (b) e imagem de RM após recidiva do cisto evidenciado pela seta branca (c). Fonte: Toledo et al., 2025

1.2 Tratamento da Neurocisticercose Extraparenquimatosa

A forma extraparenquimatosa da neurocisticercose, apesar de ser menos comum, é a apresentação mais agressiva da doença (Estanol; Corona; Abad, 1986). Essa forma é caracterizada por cistos localizados em cavidades liquóricas como a fissura lateral do cérebro, as cisternas da base do crânio, os ventrículos e o espaço subaracnoide da convexidade e da medula espinhal (Fleury et al., 2011).

Como os cistos estão localizados em cavidades liquóricas, estes podem sofrer um fenômeno chamado degeneração hidrópica, que consiste na absorção de líquor aumentando seu volume levando a compressão de estruturas adjacentes. Essa degeneração hidrópica possui importante papel na transformação do cisto da forma celulosa para a forma racemosa (Escobar, 1983).A forma racemosa, em geral, não possui escólices e os cistos podem se aglomerar apresentando uma morfologia semelhante a cachos de uvas (Lerner et al., 2012).

O tratamento da ExP-NCC é desafiador e deve ser realizado de forma individual para cada paciente. O grande desafio na escolha do tratamento da ExP-NCC se dá pelo fato do baixo nível de evidências apresentado pelo última

diretriz (White et al., 2018). Tratamento sintomático, uso de drogas anti-parasitárias e cirurgia para remoção dos cistos devem ser considerados a depender da localização e viabilidade do parasita, bem como dos sinais clínicos apresentados pelo paciente (Carpio et al., 2018; Del Brutto, 2012).

As drogas antiparasitárias também compõem o tratamento da neurocisticercose com intuito de destruir o parasita. Essa destruição leva a uma reação inflamatória causada pela detecção de antígenos do parasita pelo sistema imune do hospedeiro (Del Brutto; Garcia, 2013). No caso da ExP-NCC as drogas anti-helmínticas são menos eficazes, provavelmente devido ao fato dos cistos estarem localizados em um meio acelular, o LCR, dificultando a presença de uma reação inflamatória eficaz para auxiliar na destruição do parasita (Hamamoto Filho; Rodríguez-Rivas; Fleury, 2022).

O uso de albendazol isoladamente ou de albendazol associado ao praziquantel é recomendado como tratamento de primeira escolha da neurocisticercose extraparenquimatosa (White et al., 2018). Porém o tratamento apenas com albendazol pode não apresentar a eficiência desejada. Nesse mesmo estudo, os autores também observaram que em 69% dos pacientes os cistos permaneceram ativos após o tratamento proposto.

Em um estudo realizado para avaliar os efeitos do uso do albendazol em modelo experimental de neurocisticercose induzida em ratos não foram observadas diferenças estatísticas em relação à hidrocefalia e aos padrões comportamentais em curto prazo após o tratamento (Fogaroli et al., 2019).

Uma vez que os tratamentos recomendados a base de albendazol não apresentam os resultados desejados na eliminação dos parasitas, novas terapias estão sendo propostas. ISAC et al. (2020) realizaram um estudo para

testar o efeito *in vitro* da nitozoxanida (NTZ) no metabolismo energético da *T. crassiceps* e observaram que a NTZ apresentou influência no ciclo do ácido tricarboxílico e no catabolismo proteico levando a alteração do tegumento do cestódeo e a uma diminuição da absorção de nutrientes (Ambrozio; Ferrer; Zepeda-Rodriguez, 2017). Sendo assim, a nitozoxanida poderia ser considerada como uma forma de tratamento antiparasitário para os casos de neurocisticercose extraparenquimatosa (Isac et al., 2020).

O processo inflamatório deve ser tratado de forma adequada, pois este consiste no principal mecanismo patogênico da ExP-NCC (Hamamoto Filho; Rodríguez-Rivas; Fleury, 2022). O uso de anti-inflamatórios esteroidais ajuda no manejo de pacientes com encefalite, vasculite ou aracnoidite, além de ajudar a combater a resposta inflamatória exacerbada que ocorre após a destruição do parasita (Del Brutto; Garcia, 2013; Toledo et al., 2018). Entretanto, os corticoides podem manter o parasita vivo devido a imunossupressão causada pelo seu uso (Toledo et al., 2018). Como os corticoides promovem várias alterações clínicas e podem ser prejudiciais ao organismo pelo uso contínuo e em altas doses, outras drogas que possibilitem o controle da neuroinflamação sem tantos efeitos colaterais estão sendo avaliadas. Com base nesse pensamento alguns trabalhos têm mostrado certa efetividade com o uso de Metotrexato como substituto dos corticoides no tratamento da neurocisticercose (Anand et al., 2019; Mitre et al., 2007).

Nos casos em que o paciente apresentar hidrocefalia devido obstrução de pontos estreitos do fluxo de LCR ou efeitos de massa que comprimam tecidos adjacentes com nervos cranianos, raízes nervosas ou a medula

espinhal, o tratamento cirúrgico deve ser considerado como forma primária de tratamento (Hamamoto Filho et al., 2024).

1.3 Neuroinflamação e o Uso de Corticoides

A neuroinflamação possui um papel importante na morte do parasita, porém causa sintomas no paciente, levando a sérias complicações (Cárdenas et al., 2014).

Provavelmente o sistema imunológico do hospedeiro reconhece o parasita de forma precoce no espaço extraparenquimatoso, mas a resposta imunológica será menos eficaz devido a pouca quantidade de células no espaço liquórico (Cárdenas et al., 2014; Carpio et al., 2018). Partindo do fato que as camadas mais externas do tegumento dos cistos possuem antígenos diferentes das camadas mais internas, a reação imunológica inicial será diferente da reação tardia. Sendo assim, o parasita utiliza essa diferença nas respostas imunológicas como mecanismo de evasão à resposta imune do hospedeiro. Após a morte dos cistos, o hospedeiro pode apresentar diversos tipos de sinais clínicos, iniciados pelas reações inflamatórias causadas pelas liberações dessas frações antigênicas (Kelesidis; Tsiodras, 2012).Células do SNC, entre elas a micróglia, os astrócitos e os neurônios podem sintetizar e secretar citocinas que vão desempenhar um papel importante na resposta a várias formas de lesão do SNC (Saliba; Henrot, 2001; Williams et al., 1996). Devido à inflamação causada pelo parasita, a micróglia ativada e os linfócitos que ultrapassaram a barreira hemato-encefálica, alterada pelo processo inflamatório, irão produzir citocinas pró inflamatórias como IL-1β, IL-5, IL-6 e TNF-α, além de citocinas regulatórias como IL-10 e TGF-β (Fleury et al., 2011).

Um estudo mostrou que IL-1β, IL-5 e IL-10 são as citocinas que apresentam aumento em seus valores no líquido cerebroespinhal de pacientes humanos com P-NCC ativa (Rodrigues Jr. et al., 2000). No LCE em pacientes acometidos com neurocisticercose subaracnoide, citocinas como IL-10, INF-ɣ e IL-8 também apresentaram aumento na doença ativa (Harrison et al., 2021).

Meningite (Cárdenas et al., 2010), vasculite com acidente vascular cerebral (Figura 3a) (Barinagarrementeria; Cantú, 1998), lesões em nervos cranianos e espinais (Bazan et al., 2016) e aracnoidite reacional (Figura 3b) com desenvolvimento de hidrocefalia (Figura 3c) (Figueroa; Davis; Magalhaes, 2011; Fleury et al., 2011; Hamamoto Filho et al., 2021) são exemplos de alterações promovidas pelas reações inflamatórias geradas pela destruição dos cistos.

Atualmente o uso de corticoides é realizado para controle da neuroinflamação em alívio dos sinais. Entretanto, é importante enfatizar que essa utilização pode ser vantajosa para o parasita visto que os corticoides podem causar imunossupressão no hospedeiro e inibir a atividade de citocinas com IL-1β, IL-2, IL-6, IL-12, IFN-ɣ e TNF-α (Prodjinotho et al., 2020; Toledo et al., 2018). Além disso, os corticoides estimulam a produção de TGF-β e isso estimula o crescimento e melhora a taxa de sobrevivência do cisticerco (Adalid-Peralta et al., 2017). Em um estudo *in vitro*, a capacidade reprodutiva da *Taenia crassiceps* apresentou melhora quando utilizado corticoide, pois essa droga aumentou a capacidade do parasita de sintetizar andrógenos e estrogênio, sendo outro efeito direto adicionado aos corticosteroides que pode influenciar na resistência ao tratamento (Romano et al., 2015).

Nos casos em que a neuroinflamação é persistente ou recorrente, o metotrexato pode ser um fármaco alternativo para o tratamento desses pacientes. Porém uma desvantagem do uso desse fármaco é o início da ação lento (Keiser; Nash, 2003; Mitre et al., 2007) e a ausência de evidências clínicas suficientes para embasar seu uso.

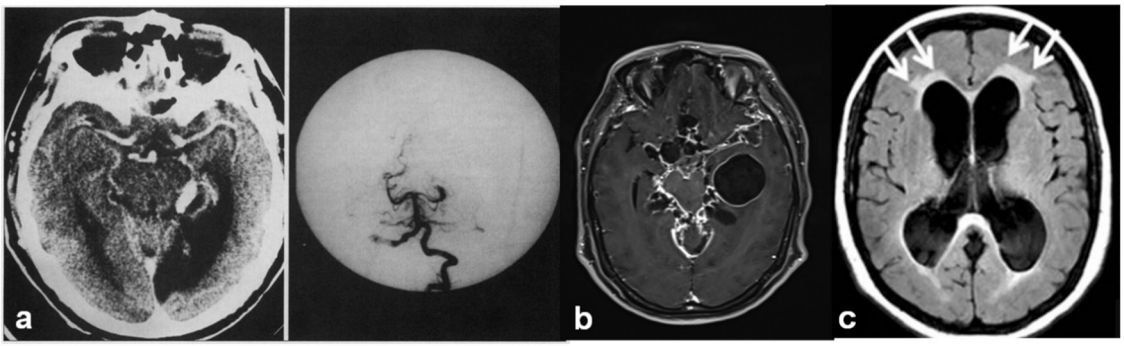


Figura 3. Alterações promovidas pela reação inflamatória na neurocisticercose como acidente vascular cerebral (a), aracnoidite (b) e desenvolvimento de hidrocefalia (c). Fontes: Barinagarrementeria & Cantú (1998) (a); Hamamoto Filho et al., (2021) (b) e Fleury et al., (2011) (c).

1.4 Expressão Gênica na Inflamação

Todos os seres vivos dependem da habilidade do próprio organismo em reagir a diversos estímulos nocivos, como infecções por microrganismos, situações ambientais adversas e danos nos tecidos. Essas reações são acionadas por mecanismos imunológicos que têm como função identificar e eliminar agentes patológicos, além de promover o reparo de tecidos lesionados. A eficiência da resposta imune acontece por meio da ativação de vias de sinalização que alteram a expressão de determinados genes responsáveis por combater os efeitos nocivos.

Quando um organismo com sistema imunológico inato funcional encontra microrganismos invasores ou sofre uma lesão, a inflamação se instala rapidamente. A inflamação aguda é vista como a primeira defesa do organismo e parte integrante da imunidade inata. Esse processo desencadeia a ativação

de genes que desempenham funções biológicas variadas, desde ações antimicrobianas até o preparo do organismo para desenvolver imunidade adquirida. Alguns produtos resultantes desses genes, como peptídeos antimicrobianos, combatem diretamente os patógenos, enquanto outros, como citocinas e quimiocinas, ativam o sistema imunológico direcionando células de defesa para o foco da infecção e ao iniciar o processo de reparo dos tecidos danificados (Ahmed; Williams; Hannigan, 2015; Medzhitov, 2010).

Cada gene está relacionado a uma função específica no organismo. A fibronectina (*Fn1*) é um gene que está relacionado com a formação de matriz extracelular (Schwarzbauer, 1991) enquanto as metaloproteinases 2 e 9 (*Mmp2* e *Mmp9*) são genes ligados ao remodelamento de matriz extracelular (Allan et al., 1995). O *Tgfb2* é um gene que atua na regulação do sistema imunológico influenciando a diferenciação de células T e modulando a resposta inflamatória (Li et al., 2006). O gene *Slamf5* atua na produção linfocítica e na regulação da produção de interleucinas (Cuenca et al., 2019). Já o *Ilf2* atua na ativação e proliferação de células T (Zhao et al., 2005) e o gene *Rorc* na diferenciação das células T auxiliares Th17 (Castro et al., 2017). O *Runx3* influencia a produção de citocinas e na expressão de linfócitos T $CD8^+$ (Liu et al., 2014).

1.5 *Taenia crassiceps* e Seu Uso em Modelos Experimentais

A *Taenia crassiceps* é um parasita de raposas, lobos e cães. Os cisticercos de *T. crassiceps* podem infectar de forma natural roedores selvagens e são encontrados nos tecidos subcutâneos e cavidade peritoneal e pleural desses hospedeiros intermediários. Este parasita apresenta uma alta taxa de reprodução assexuada por gemulação e seus cisticercos podem ser

removidos de roedores e mantidos na cavidade peritoneal de camundongos por longos períodos (Willms; Zurabian, 2010).

Esse parasita é um cestodo similar a *Taenia solium* que pode ser utilizado em modelos experimentais, porém com uma possível limitação para essa finalidade: esta tênia pode causar uma distorção do tecido nervoso (Alvarez et al., 2010).

Após inoculação da *T. crassiceps* no parênquima cerebral de camundongos, Matos-Silva et al. (2012) observaram a presença de diferentes padrões de inflamação de acordo com a linhagem dos animais e, mesmo sem ser o foco do estudo, os autores relataram a ocorrência de ventriculomegalia em alguns desses animais.

Já Hamamoto Filho et al. (2015) utilizou cistos de *Taenia crassiceps* para o desenvolvimento de um modelo experimental de hidrocefalia causada por neurocisticercose visando estudar a forma extraparenquimatosa da doença buscando uma melhor compreensão dos mecanismos fisiopatológicos dessa apresentação clínica complexa. Este estudo concluiu que a inoculação via cisterna magna em ratos induz hidrocefalia de forma lenta e progressiva e que essa hidrocefalia aparenta ser causada pela combinação de uma obstrução mecânica e do processo inflamatório.

1.6 Citarabina

A citarabina (CTB) é um nucleosídeo isolado de uma esponja denominada *Cryptothethya crypta.* Esse fármaco antineoplásico com propriedades imunossupressoras tem sido utilizado atualmente na medicina veterinária para tratamento adjuvante de uma doença inflamatória do SNC

denominada meningoencefalite granulomatosa (MEG). A meningoencefalite granulomatosa é definida como uma doença inflamatória idiopática do SNC de cães e, apesar da causa subjacente da doença ainda não ser bem esclarecida, acredita-se que a MEG represente uma afecção autoimune ligada a uma reação de hipersensibilidade tardia mediada por células-T (Dewey; Da Costa, 2016). Apesar de pouco descrito na literatura, estudos mostram uma melhora na sobrevida de cães com MEG quando o tratamento foi realizado por meio da associação da prednisona com a citarabina (Menaut et al., 2008; Zarfoss et al., 2006). Em outro estudo que utilizou esse fármaco no tratamento da MEG, o autor também obteve bons resultados em um protocolo com associação de prednisona com infusão contínua intravenosa de citarabina nas primeiras 24 horas, seguido pelo protocolo tradicional por via subcutânea (Lowrie et al., 2016).

A hipótese proposta pelo presente trabalho é que a associação de albendazol e praziquantel será eficiente em eliminar os cistos de *Taenia crassiceps* e que os agentes imunossupressores auxiliarão na redução da neuroinflamação causada pela presença dos cistos.

JUSTIFICATIVA

2. JUSTIFICATIVA:

Atualmente o tratamento da ExP-NCC é realizado por meio do uso drogas anti-helmínticas na tentativa da eliminação dos cistos e no uso de corticoides para controle da neuroinflamação. Como o controle da neuroinflamação associado ao uso dos corticoides parece favorecer a manutenção do parasita (Adalid-Peralta et al., 2017; Toledo et al., 2018), uma busca por novos medicamentos que possam controlar o processo inflamatório sem prejudicar o tratamento tem sido cada vez mais necessária.

O presente trabalho se justifica pela necessidade de procurar alternativas pré-clínicas para o controle da inflamação da NCC.

OBJETIVOS

3. OBJETIVOS

Comparar os efeitos do tratamento da neurocisticercose extraparenquimatosa experimental em ratos com a utilização de dois antiparasitários (albendazol e praziquantel) quando utilizados de forma isolada de tratamento ou em associação com dois agentes imunossupressores.

MÉTODOS

4. MÉTODOS

Os animais foram manuseados de acordo com protocolos éticos e com a legislação vigente após análise e aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA 1377/2021). Eventuais perdas de animais que prejudicassem o tamanho amostral seriam repostas com novos animais.

Foram utilizados 44 ratos Wistar (*Rattus novergicus*) adultos, machos, pesando entre 100 e 150 g, provenientes do biotério central da UNESP-Campus de Botucatu. Os animais foram mantidos em condições sanitárias adequadas em local com temperatura controlada (21 ºC) e com controle de luz (ciclos de 12 horas). Comida e água foram fornecidas *ad libitum*. Para enriquecimento ambiental das gaiolas, foram colocados fragmentos de papelão.

4.1. Cálculo do Tamanho Amostral

Com base no estudo de HAMAMOTO FILHO et al., (2015), há a necessidade de pelo menos 5 animais em cada grupo experimental para ser possível observar diferenças estatísticas. Levando em consideração uma perda de 33% dos animais após a inoculação dos cistos e uma taxa de sucesso de 70% na inoculação, para cada grupo experimental, foram utilizados 44 animais. Esses valores de tamanho amostral são estimados assumindo uma amostragem aleatória simples, erros tipo I e tipo II iguais a 0,05 e 0,20, respectivamente, volume dos ventrículos normalmente distribuídos com média ao redor de 60 mm^3 ± 20 e ausência de fatores confundidores em potencial, igualmente distribuídos pela randomização.

4.2. Indução da Neurocisticercose

Foram utilizados para indução da neurocisticercose, cistos de *Taenia crassiceps* (cepa ORF), provenientes da cavidade peritoneal de camundongos do biotério da UNIPEX (protocolo de manutenção de metacestodos de *Taenia crassiceps* em camundongos – certificado CEUA nº 1255/2017). Os cistos foram retirados de forma asséptica e selecionados de acordo com sua viabilidade (Figura 4).

Os animais foram submetidos à anestesia geral por meio de injeção intraperitoneal de ketamina (87 mg/kg) e xilazina (13 mg/kg) e a inoculação de 50 cistos viáveis de *T. crassiceps* em 0,02 ml de soro fisiológico, realizada via cisterna magna, por punção suboccipital com agulha 24 G após incisão de pele de 1cm na transição occipitocervical. Após o procedimento, foi realizada sutura de pele com fio de nylon 4-0 e administração de dipirona em dose única via intraperitoneal (dose de 150 mg/kg).

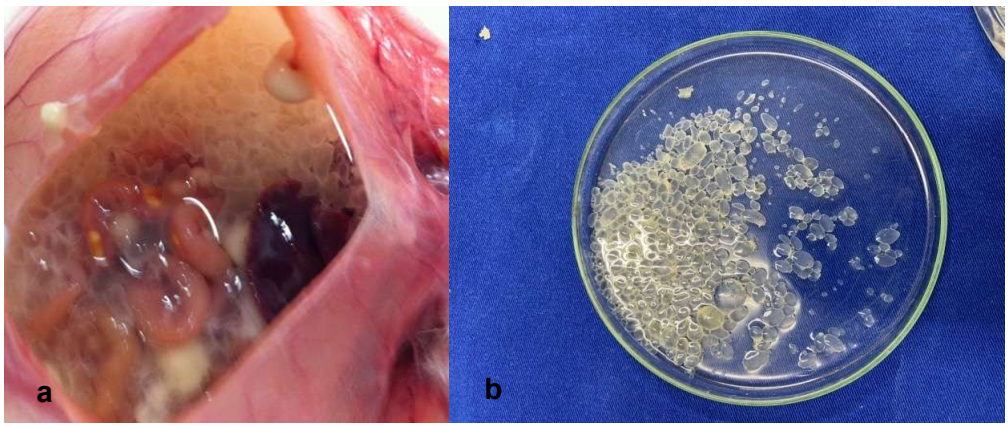


Figura 4. Cistos de *Taenia crassiceps* na cavidade da cavidade peritoneal de camundongo (a). Cistos depositados em placa de Petri para seleção de cistos viáveis (b).

4.3. Avaliação Radiológica e Grupos Experimentais

Três meses após a inoculação dos cistos, os animais foram encaminhados para exame de ressonância magnética (RM) para confirmação do desenvolvimento da doença. A ressonância magnética foi realizada na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP, *campus* de Botucatu, em aparelho Esaote -modelo vet MR grande, de 0,25 T. Foram adquiridas imagens de 0,6 mm de espessura de corte na sequência eco gradiente 3D Hyce (tempo eco5ms e tempo repetição 10 ms) e os animais foram considerados doentes quando o volume ventricular foi superior a 5 mm^3 (Figura 5). Todos os animais foram submetidos à anestesia geral por meio de injeção intraperitoneal de ketamina (87 mg/kg) e xilazina (13 mg/kg) previamente ao exame.

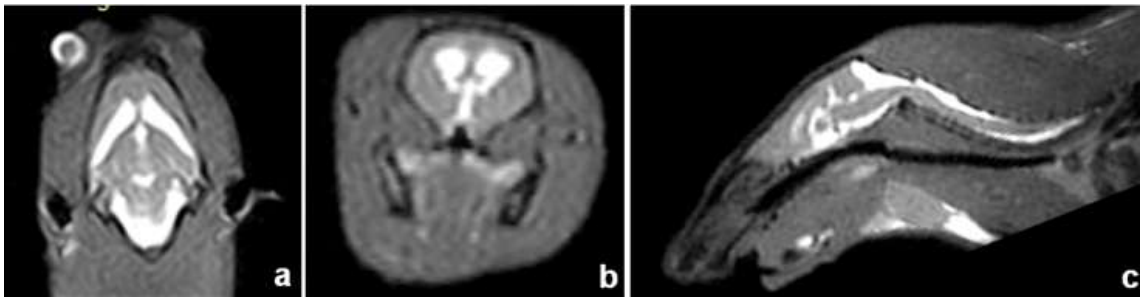


Figura 5. Imagens de RM em corte coronal (a), em corte axial (b) e em corte sagital (c) de um animal incluído no estudo que apresentou volume ventricular maior que 5mm^3.

Os animais que ao exame de RM não apresentaram a doença foram excluídos do trabalho e submetidos à eutanásia por overdose de tiopental (120 mg/kg por via intraperitoneal. Os animais que apresentaram a doença foram distribuídos de forma randomizada em quatro grupos: 1. Sem tratamento/controle (CTRL); 2. Tratamento com albendazol e praziquantel (ALB + PZQ); 3. Tratamento com albendazol, praziquantel e dexametasona (TTO + DEXA); 4. Tratamento com albendazol, praziquantel e citarabina (TTO + CTB).

Para os grupos que receberam tratamento, o albendazol foi realizado na dose de 15 mg/kg/dia, por duas semanas via gavagem. Para isso foi utilizada suspensão oral do fármaco na concentração de 40 mg/ml. O praziquantel foi realizado na dose de 50 mg/kg/dia, por duas semanas via subcutânea, sendo utilizado fármaco em frasco-ampola na concentração de 55mg/ml. Para o grupo 3, além do albendazol e do praziquantel, foi administrada dexametasona na concentração de 0,1 mg/ml, na dose de 1ml em dias alternados. Para o grupo 4, antes de se definir a dose da citarabina, foi realizado um estudo piloto que constatou que a dose de 50 mg/m², recomendada pela literatura para tratamento de MEG em cães, apresentava uma taxa de mortalidade alta devido a complicações do tratamento, o que não foi observado nos animais tratados com a dose de 25 mg/m². Sendo assim, associado ao albendazol e ao praziquantel, foi administrado citarabina na dose de 25 mg/m² por via subcutânea a cada 12 horas em dois dias consecutivos. Para isso foi utilizada solução injetável em concentração de 100 mg/ml. A citarabina foi diluída na dose de 2:1 em solução fisiológica 0,9% para evitar irritação tecidual e o pesquisador responsável pelas aplicações utilizou todos os EPIs necessários. Os tratamentos foram realizados por duas semanas.

Um mês após o término dos tratamentos, os animais foram submetidos anova ressonância logo após foram eutanasiados por meio de overdose de tiopental (120 mg/kg por via intraperitoneal) para retirada e análise histológica do encéfalo.

A quantificação do grau de hidrocefalia foi realizada através de estudo volumétrico utilizando o *software* livre ITK-SNAP (versão 3.0.0) conforme apresentado na figura 6 (Yushkevich et al., 2006). Foram considerados

hidrocefálicos os animais cujo volume ventricular fosse superior a 5 mm³ (Harris; Jones; Williams, 1992).

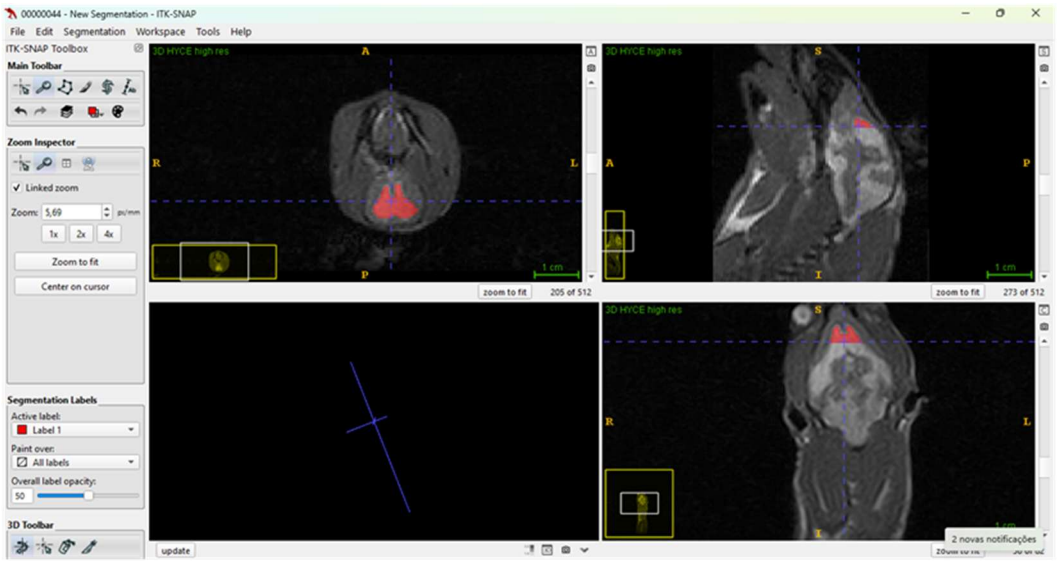


Figura 6. Imagem do software ITK snap usado para a determinação do volume ventricular para quantificar o grau de hidrocefalia de um animal incluído no estudo.

4.4. Ensaio Imunoenzimático (ELISA)

Os hemisférios cerebrais e o plasma sanguíneo foram utilizados para determinação das citocinas. As amostras dos hemisférios cerebrais esquerdos, obtidos de cada animal foram pesadas e homogeneizadas com solução salina tamponada com fosfato (PBS), em uma proporção de 1:9 (tecido:PBS). O homogenato foi centrifugado a 5000 g por 5 minutos em temperatura de 4ºC. O sobrenadante obtido foi armazenado em alíquotas para o estudo. A identificação das citocinas no sobrenadante do homogenato das amostras de tecido cerebral foi realizada por ensaio imunoenzimático (ELISA), utilizando-se kits comerciais contendo todos os reagentes e microplaca Elabscience® (Elabscience Bionovation Inc., Texas, EUA), de acordo com as recomendações do fabricante.

As citocinas IL-6, IL-10, TGF-β e IFN-γ foram quantificadas no homogenato de tecido cerebral e no plasma sanguíneo através de método ELISA sanduíche. Para maior confiabilidade dos resultados, o ensaio foi realizado em duplicata no tecido cerebral. No plasma, utilizou-se monoplicata.

As amostras de 100 µL de homogenato de tecido cerebral e 100 µL de plasma sanguíneo foram pipetadas em orifícios de microplacas de 96 poços. Para realização da curva de calibração, 100 µL das citocinas recombinantes (Elabscience®) foram adicionados aos orifícios das placas, em duplicata. A microplaca foi incubada por 90 minutos, em estufa a 37 ºC. Em seguida, a placa foi vertida para a retirada do líquido. Após a secagem da placa foram adicionados 100 µL do anticorpo específico para cada citocina, marcado com biotina e a placa incubada, novamente a 37 ºC por 60 minutos. Após o período de incubação, a placa foi lavada três vezes em lavadora automática com 350 µL de Wash Buffer comercial em cada poço (Concentrated Wash Buffer (25x) – 30 mL diluído em 720 mL de água destilada - Elabscience®). Após secagem foram adicionados 100 µL de estreptoavidina conjugada com peroxidase (HRP Conjugate - Elabscience®), na concentração de [1:99] por 30 min a 37 ºC, seguido por cinco lavagens da placa na lavadora automática. Após esse período, foram adicionados 90 µL do substrato enzimático, constituído por soluções estabilizadoras de peróxido de hidrogênio e de tetrametilbenzidina (Substratereagent – Elabscience®) e incubado por 15 minutos a 37ºC. A reação foi bloqueada pela adição de 50 µL de ácido sulfúrico 2M (Stop solution – Elabscience®). A leitura da placa foi realizada em leitor de ELISA (Biotek Synergy HT Microplatereader) com comprimento de onda de 450 nm.

As concentrações das citocinas, presentes nos homogenatos, foram calculadas a partir das curvas-padrão realizadas. Nos ensaios, as concentrações das citocinas, expressas em picogramas por mililitro (pg/mL), foram baseadas nos padrões fornecidos pelo kit comercial e utilizadas para a realização das curvas-padrão, de acordo com as recomendações do fabricante (Elabscience®).

4.5. PCR quantitativo (qPCR) em Tempo Real

A extração de RNA de encéfalo foi realizada utilizando o RNeasy Mini Kit (Qiagen). Posteriormente, o RNA isolado foi convertido em cDNA com o kit High Capacity RNA-to-cDNA (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EUA), seguindo as especificações do fabricante. As condições da reação incluíram: RT Buffer 1x, mistura de dNTPs 4mM, Random Primer 1x, MultiScribe™ 25U, RNaseInhibitor 10U, em volume final de 20 µL.

Em seguida, cada cDNA foi amplificado por PCR em tempo real (qPCR) utilizando o equipamento StepOnePlus™ System (Applied Biosystems, Thermo Fisher Scientific, Inc). Cada reação de qPCR continha 5 µL de PowerUpSYBR™ Green Master Mix (2X) (ThermoFisher), 0,6 µL de cada primer (10 µM), 4 µL de cDNA e água suficiente para completar 20 µL. As condições de termociclagem foram: 50 °C por 2 minutos, 95 °C por 2 minutos e 40 ciclos de 95 °C por 15 segundos, 61 °C por 15 segundos e por fim, 72 °C por 1 minuto. Após a amplificação, uma análise da curva de fusão (*melting*) foi realizada para confirmar a especificidade do ensaio.

A normalização da concentração do RNA foi garantida pelo uso dos genes endógenos Gapdh e β-actina (Actb) como controles de referência. Todas

as amostras foram analisadas em triplicata, e a quantificação relativa (RQ) foi calculada pelo método comparativo de Cq (2-ΔΔCq) (Livak; Schmittgen, 2001). Os oligonucleotídeos iniciadores (primers) utilizados no estudo estão listados na tabela 1.

Tabela 1. Sequências dos oligonucleotídeos iniciadores (primers) utilizados na PCR em Tempo Real

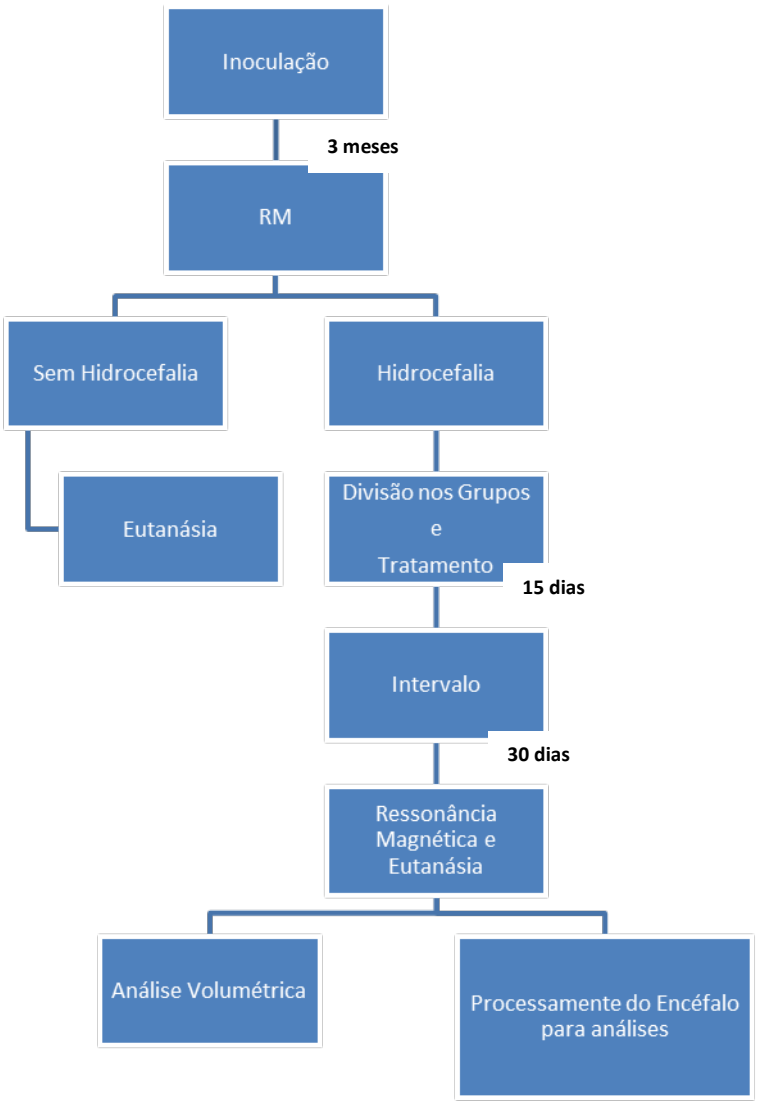
Gene	Forward (5′ - 3′)	Reverse (5′ - 3′)	Amplicon (bp)*	Referências
Col1a1	TGACTGGAAGAGCGGAGAGT	GATAGCGACATCGGCAGGAT	250	SUGIYAMA et al., 2021
Cxcl2	TCCTCAATGCTGTACTGGTCC	ATGTTCTTCCTTCCCAGGTC	299	LIU et al., 2022
Gapdh	TCAAGAAGGTGGTGAAGCAG	AGGTGGAAGAATGGGAGTTG	111	ALMAGHRABI, 2023
Fibronectin	CTCGCTTTGACTTCACCACCA	TCTCCTTCCTCGCTCAGTTCGTACT	202	ALMAGHRABI, 2023
Ilf2 (NF45)	GCCCGCTGGTTTGAAGAAAA	AGGTCAAGGATCCAGGGTGT	119	UNTERGASSER et al., 2012*
Mmp2	GCCCAGAGACTGCTATGTCC	GCTGGTGCAGCTCTCATACT	101	HUANG et al., 2023
Mmp9	GGTCCCCCTACTGCTGGTCCT	CGAGAACTTCCAATACCGACC	147	YANG et al., 2023
Rorc	GCTGCAAAGAAGACCCACAC	GTGCAGGAGTAGGCCACATT	155	UNTERGASSER et al., 2012*
Runx3	GCAACGCTTCCGCTGTCA	GGCTTTGGTCTGGTCCTCTATC	215	LI et al., 2019
Tgfb2	TGCTGTACCTTCATACCGTCT	GGCAACAACATTAGCAGGAGA	179	ZHANG et al., 2022
Slamf5 (CD84)	TTCTGACTCCGTCACTGTGC	CCAGGACAATCCTACCTCTCC	167	UNTERGASSER et al., 2012*
Actb	CACGGCATTGTCACCAACTG	AACACAGCCTGGATGGCTAC	203	MOHAMMAD MALYAR et al., 2019

bp = base pair; *primers projetados no software online Primer3 (https://www.primer3plus.com/).

4.6. Análise estatística

Para determinar a normalidade dos dados, foi utilizado o teste de Shapiro-Wilk. O teste de Kruskal-Wallis foi usado para comparação de grupos independentes com dados não paramétricos. Para variáveis com distribuição normal, foi realizado o teste ANOVA uma via para comparação dos grupos. Diferenças foram consideradas significantes com $p < 0,05$. Para as análises, foi utilizado o software SPSS v. 24.0.

4.7. Linha do Tempo do Delineamento Experimental



RESULTADOS

5. RESULTADOS

Dos 44 animais inoculados com os cisticercos, 24 apresentaram hidrocefalia após a primeira ressonância magnética o que corresponde a uma taxa de aproximadamente 54% de sucesso na inoculação e desenvolvimento da doença no modelo experimental. Esses 24 animais foram distribuídos de forma aleatória entre os grupos de tratamento, sendo alocados seis animais em cada grupo. Durante a fase de tratamento, outros cinco animais morreram, sendo 1 do grupo controle, 2 do grupo ALB + PZQ, 1 do grupo antiparasitários + dexametasona e 1 do grupo antiparasitários + citarabina.

Após os 15 dias de tratamento e mais 30 dias de intervalo, os 19 animais restantes foram submetidos à segunda ressonância magnética e eutanasiados em seguida para remoção do encéfalo.

5.1. Avaliação Radiológica

Vinte e quatro animais que foram submetidos à primeira ressonância magnética apresentaram aumento ventricular e foram incluídos no trabalho. Durante a realização dos tratamentos 5 animais morreram e, portanto, apenas 19 animais realizaram a segunda ressonância. A figura 3 mostra o aumento ventricular presente na primeira e na segunda ressonância de dois animais incluídos no estudo. Após a realização da segunda RM, foram calculados os volumes ventriculares pré e pós-tratamento, bem como a diferença entre eles. No grupo controle a média pré-tratamento foi de 356,42 mm^3 ± 103,13 (258,10 – 520,40) e no pós-tratamento a média foi de 866,92 mm^3 ± 154,97 (711,60 – 1090,00). No grupo tratamento albendazol + praziquantel a média pré-tratamento foi de 337,65 mm^3 ± 136,20 (216,80 – 523,40) e no pós-tratamento

de 704,65 mm³ ± 313,13 (356,80 – 1078,00). Para o grupo tratado com os antiparasitários associados à dexametasona a média pré-tratamento foi de 294,34 mm³ ± 111,86 (146,80 – 459,10) e no pós-tratamento de 885,20 mm³ ± 248,32 (487,10 – 1136,00). No grupo antiparasitários + citarabina a média pré-tratamento foi de 406,12 mm³ ± 191,92 (103,30 – 590,50) e a média pós-tratamento foi de 627,56 mm³ ± 317,07 (248,70 – 1035,00). Não foram observadas diferenças estatísticas quando comparadas as médias dos grupos no pré-tratamento (p=0,584), no pós-tratamento (p=0,449) ou quando comparadas as diferenças das médias entre pré e pós-tratamento (p=0,134). As figuras 4, 5 e 6 mostram a média e o desvio padrão em cada grupo de tratamento nos momentos pré, pós e diferença entre pré e pós respectivamente.

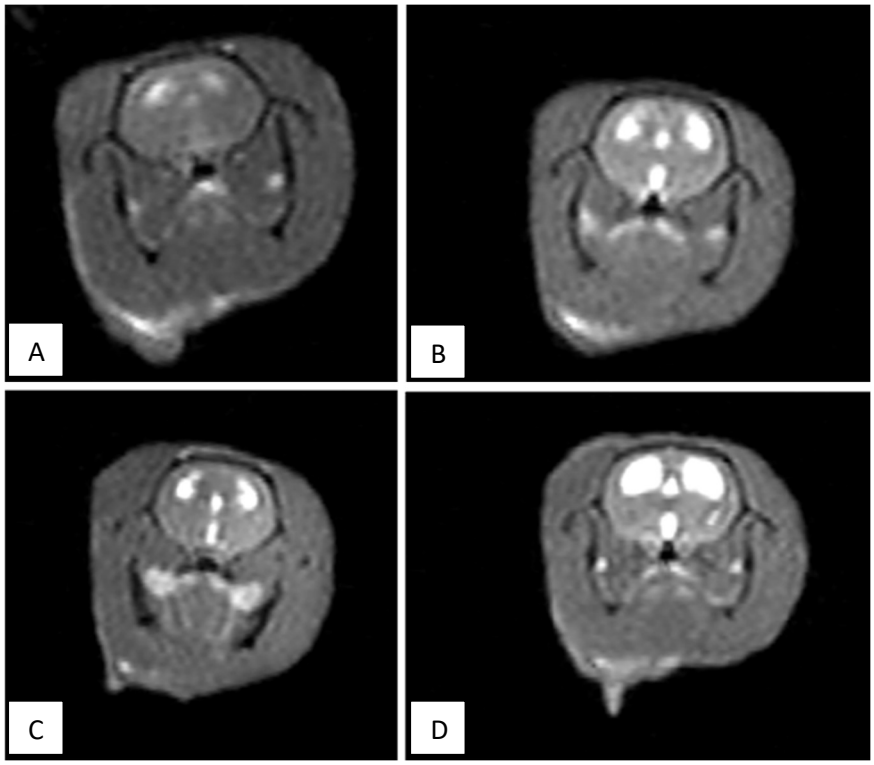


Figura 7. Imagem de ressonância magnética pré e pós-tratamento de dois animais. Pré-tratamento (A) e pós-tratamento (B) do rato 16. Pré-tratamento (C) e pós-tratamento (D) do rato 17.

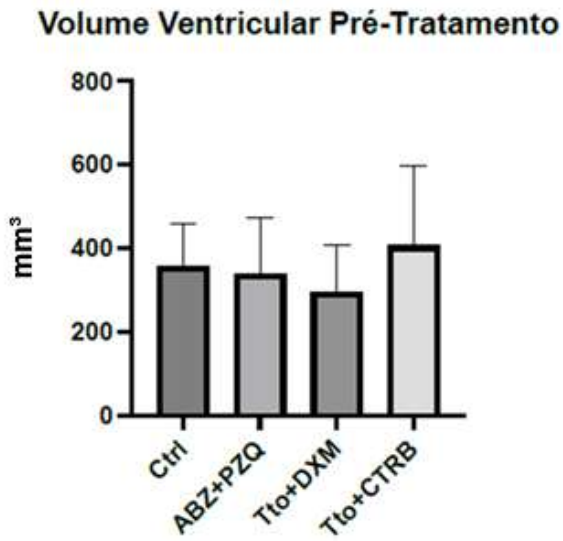


Figura 8. Comparação das médias dos volumes ventriculares entre os grupos experimentais antes do tratamento. O valor da média de volume ventricular foi ligeiramente maior no grupo TTO + CTB, porém não houve diferença estatística entre os grupos quando utilizado o teste Kruskal-Wallis. p=0,584

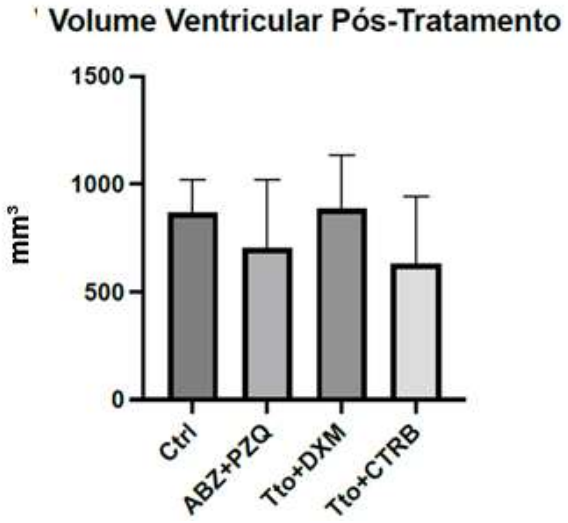


Figura 9. Comparação das médias dos volumes ventriculares entre os grupos experimentais após o tratamento. O valor da média de volume ventricular do grupo CTRL e do grupo TTO + DEXA foram mais próximos quando comparados com os outros dois grupos e apresentaram valores ligeiramente maiores, porém não houve diferença estatística entre os grupos quando utilizado o teste Kruskal-Wallis. p=0,449

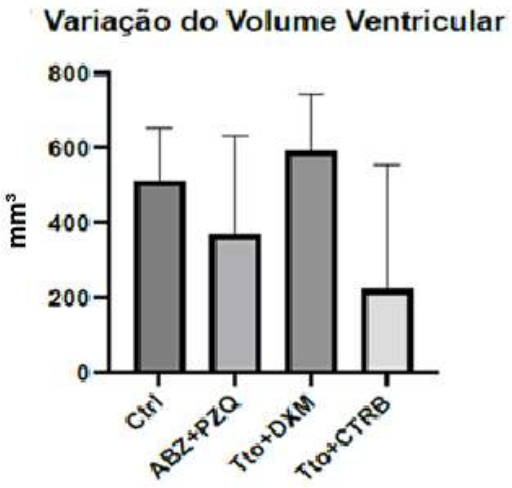


Figura 10**.** Comparação das médias entre a diferença pré e pós-tratamento dos grupos experimentais. O valor da média da variação de volume ventricular do grupo CTRL e do grupo TTO + DEXA foram mais próximos quando comparados com os outros dois grupos e apresentaram valores ligeiramente maiores, porém não houve diferença estatística entre os grupos quando utilizado o teste Kruskal-Wallis. p=0,134

5.2. Avaliação dos Ensaios Imunoenzimáticos (ELISA)

Quando analisado o tecido cerebral, o grupo de animais tratados com os dois antiparasitários e dexametasona foi o grupo com menores valores de IFN-γ, IL-10 e IL-6, com valores estatisticamente significativos na comparação de IL-6 entre os grupos com dexametasona e com citarabina (Figura 7). Já o grupo tratado apenas com antiparasitários (albendazol e praziquantel) foi o grupo com maiores valores de IFN-γ, IL-10 e IL-6. Os níveis de TGF-β tiveram padrão diferente em relação às outras três citocinas.

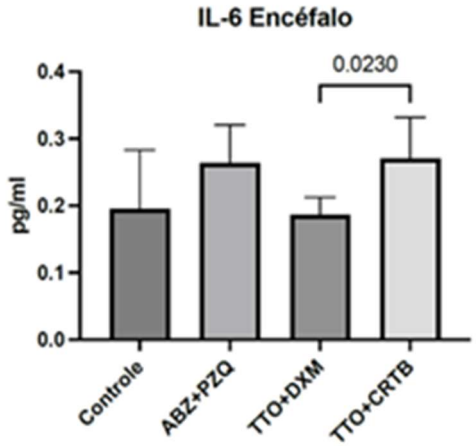


Figura 11. Quantificação de IL-6 em tecido cerebral. Os grupos Controle e Antiparasitários + Dexametasona apresentaram os menores valores. ANOVA forneceu p=0,023 para Antiparasitários + Dexametasona VS Antiparasitários + Citarabina.

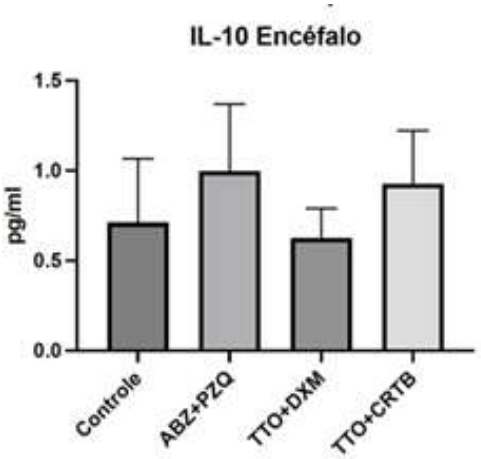


Figura 12. Quantificação de IL-10 em tecido cerebral. Os grupos Controle e Antiparasitários + Dexametasona apresentaram os menores valores. Não houve diferença estatística entre os grupos pelo teste ANOVA.

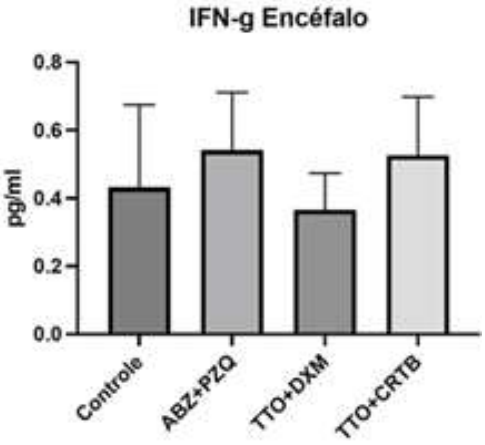


Figura 13. Quantificação de INF-γ em tecido cerebral. Os grupos Controle e Antiparasitários + Dexametasona apresentaram os menores valores. Não houve diferença estatística entre os grupos pelo teste ANOVA p=0,133.

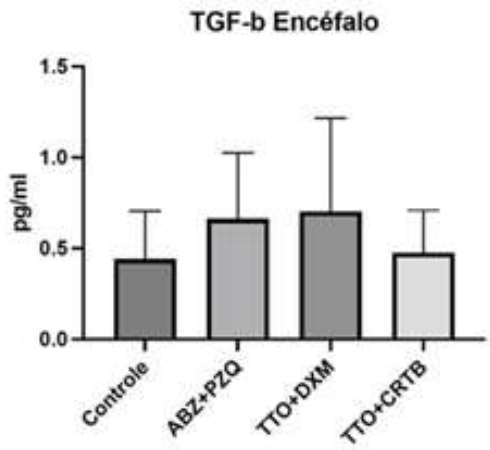


Figura 14. Quantificação de TGF-β em tecido cerebral. Os grupos Controle e Antiparasitários + Citarabina apresentaram os menores valores. Não houve diferença estatística entre os grupos pelo teste ANOVA p=0,324.

No caso das citocinas do plasma sanguíneo, o grupo controle foi o grupo com menores valores de IL-6, IL-10 e IFN-γ. Em relação a IL-10 e INF-γ o grupo tratado com antiparasitários apresentou os maiores valores assim como no tecido cerebral, e o grupo tratado com antiparasitários e citarabina evidenciou um maior valor de IL-6. No plasma sanguíneo, o TGF-β teve um maior valor no grupo tratado apenas com antiparasitários e menor valor no grupo tratado com antiparasitários e dexametasona. Não houve diferenças estatísticas significativas entre as citocinas dos grupos experimentais quando analisado o plasma sanguíneo.

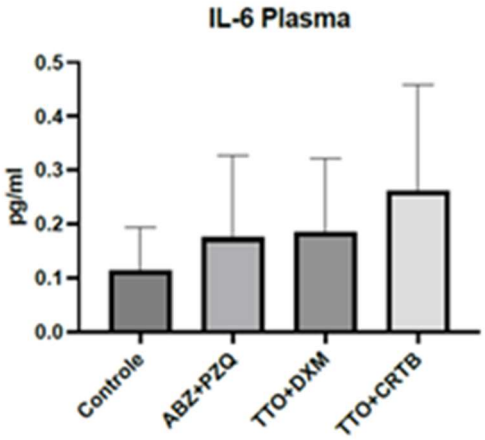


Figura 15. Quantificação de IL-6 no plasma sanguíneo. O grupo controle apresentou o menor valor. Não houve diferença estatística entre os grupos pelo teste Kruskal-Wallis p=0,449.

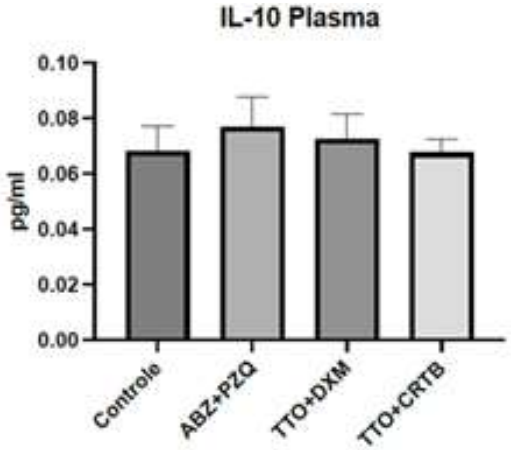


Figura 16. Quantificação de IL-10 no plasma sanguíneo. O grupo controle e o grupo Antiparasitários + Citarabina apresentaram os menores valores. Não houve diferença estatística entre os grupos pelo teste Kruskal-Wallis p=0,130.

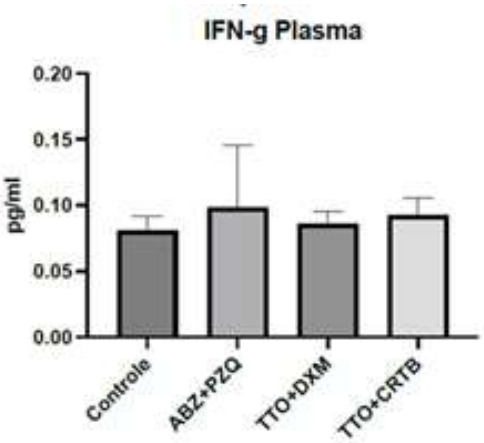


Figura 17. Quantificação de INF-γ em tecido cerebral. Os grupos Controle e Antiparasitários + Dexametasona apresentaram os menores valores. Não houve diferença estatística entre os grupos pelo teste Kruskal-Wallis p=0,232.

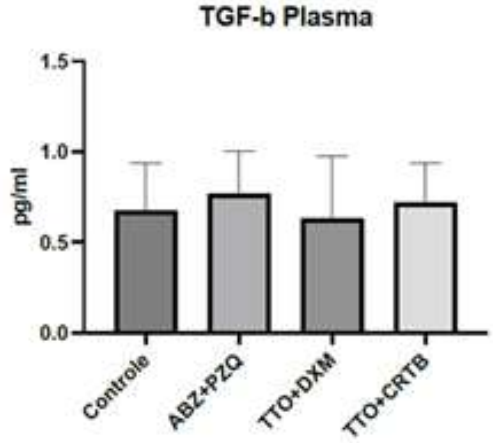


Figura 18. Quantificação de TGF-β no plasma sanguíneo. Os grupos Controle e Antiparasitários + Dexametasona apresentaram os menores valores. Não houve diferença estatística entre os grupos pelo teste ANOVA p=0,737.

5.3. Avaliação dos PCR quantitativos (qPCR) em tempo real

A análise de expressão relativa dos ncRNAs foi realizada pela metodologia de RT-qPCR. Esta análise comparou os grupos: grupo controle (CTRL), utilizado como referência de normalidade, e os grupos antiparasitários (ALB + PZQ), antiparasitários + dexametasona (TTO + DEXA) e antiparasitários + citarabina (TTO + CTB).

Os resultados obtidos estão apresentados na figura 15.

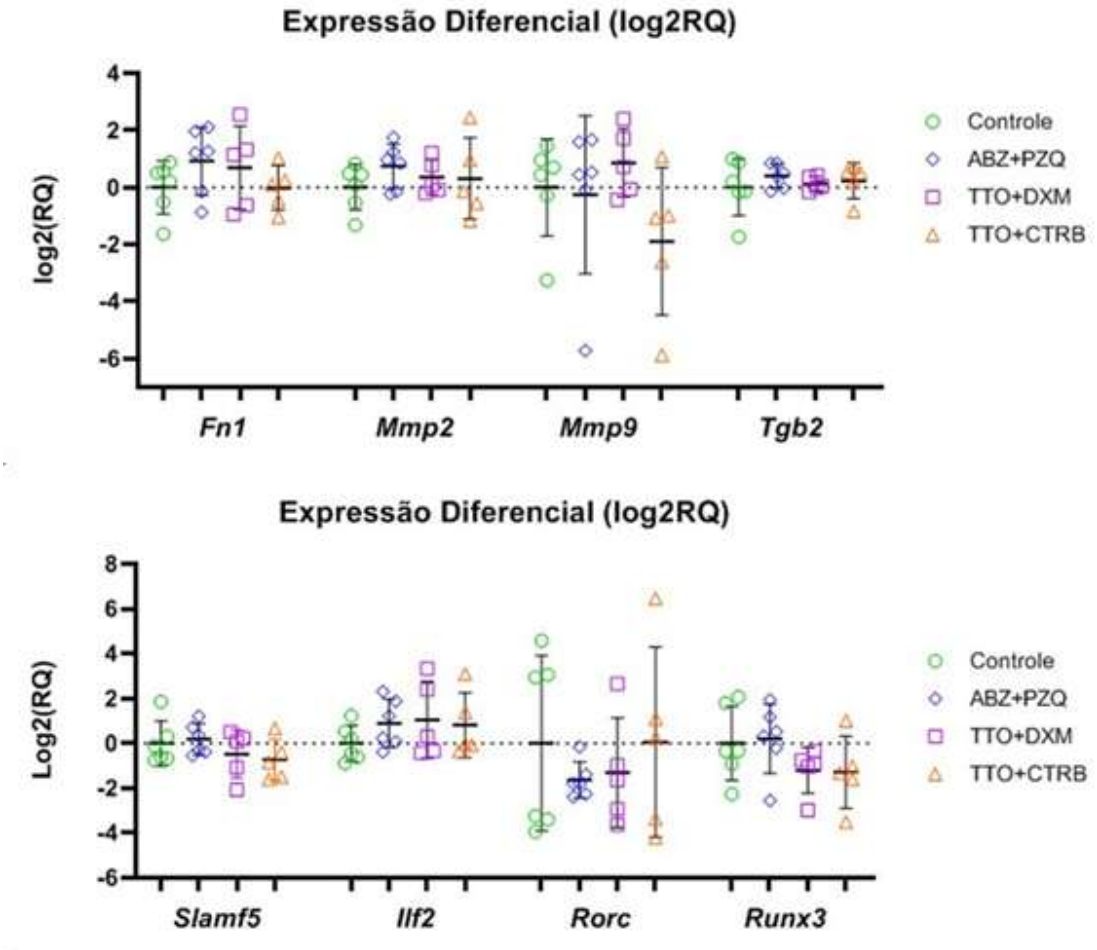


Figura 19. Quantificação da expressão gênica *de Fn1, Mmp2, Mmp9, Tgb2, Slamf5, Ilf2, Rorc* e *Runx3* em cada grupo experimental. Não houve diferença estatística entre os grupos pelo teste de Kruskal-Wallis.

Não foram observadas diferenças significativas na expressão dos ncRNA entre os grupos avaliados em nosso estudo.

DISCUSSÃO

6. DISCUSSÃO

O uso de cepas de *Taenia crassiceps* e ratos como modelo experimental para estudo da neurocisticercose e para a reprodução da doença já se mostrou eficiente (Hamamoto Filho et al., 2015; Willms; Zurabian, 2010). Tendo isso em vista, vários estudos utilizando esse modelo experimental têm sido realizados buscando se compreender melhor a doença e também encontrar novos fármacos que tragam benefícios aos pacientes, melhorando os tratamentos (Fogaroli et al., 2019; Generoso et al., 2024; Hamamoto Filho et al., 2019; Milhomem et al., 2018; Oliveira et al., 2024; Sampaio et al., 2020).

O tratamento preconizado para neurocisticercose é realizado com drogas antiparasitárias como o albendazol e o praziquantel, associados ao uso de corticosteroides para controlar a neuroinflamação e prevenir possíveis complicações decorrentes desse processo inflamatório (Nash et al., 2011; Toledo et al., 2018; White et al., 2018). No entanto, na neurocisticercose extraparenquimatosa, uma parte considerável dos pacientes não responde de forma satisfatória ao tratamento antiparasitário sendo necessária a realização de diversos ciclos para eliminar os cistos (Marcin Sierra et al., 2017; Osorio et al., 2019; Toledo et al., 2025). Outro fator importante no tratamento é a utilização de corticoides para o controle da neuroinflamação. O uso desses medicamentos, apesar de benéfico para o controle inflamatório, pode ter uma influência direta na sobrevivência do parasita e no aumento da eficiência reprodutiva da *Taenia crassiceps*, utilizada para estudos em modelo experimental (Adalid-Peralta et al., 2017; Romano et al., 2015).

Estudos dos perfis de citocinas presentes na neurocisticercose, bem como estudos sobre novas formas de tratamento da neuroinflamação que não

influenciem na eficácia dos anti-helmínticos têm sido realizados tanto em modelos experimentais como em pacientes humanos, visando melhorar a terapêutica da doença (Ambrozio; Ferrer; Zepeda-Rodriguez, 2017; Anand et al., 2019; Mehta et al., 2025; Milhomem et al., 2018).

Um estudo realizado por MILHOMEM et al. (2018) demonstrou um aumento das citocinas IL-4 e IL-10 no tecido cerebral dos animais infectados com *T. crassiceps* quando comparados com o grupo controle. O mesmo estudo não observou diferença entre os grupos quando avaliado INF-γ. Já o trabalho de MEHTA et al.(2025), observou em pacientes humanos infectados por *Taenia solium* e responsivos ao tratamento com anti-helmínticos valores menores de IL-6 e IL-10 antes do tratamento (T0) quando comparado ao pós tratamento (T1). Assim como o estudo de MILHOMEM et al. (2018) no modelo experimental, o trabalho de MEHTA et al. (2025) também não observou diferença entre os grupos avaliados quando comparados INF-γ e TNF-α. O nosso estudo, realizado em modelo experimental, evidenciou um aumento das citocinas IL-6 e IL-10 no grupo tratado apenas com antiparasitários o que corrobora com os resultados obtidos pelos trabalhos anteriormente citados tanto com modelos experimentais, dispostos na figura 19 (Milhomem et al., 2018), quanto em estudos com seres humanos, dispostos na figura 20 (Mehta et al., 2025), e reforçam as informações descritas na literatura humana que referem uma piora da neuroinflamação e um aumento de algumas citocinas inflamatórias após morte dos cistos (Cárdenas et al., 2014; Carpio et al., 2018).

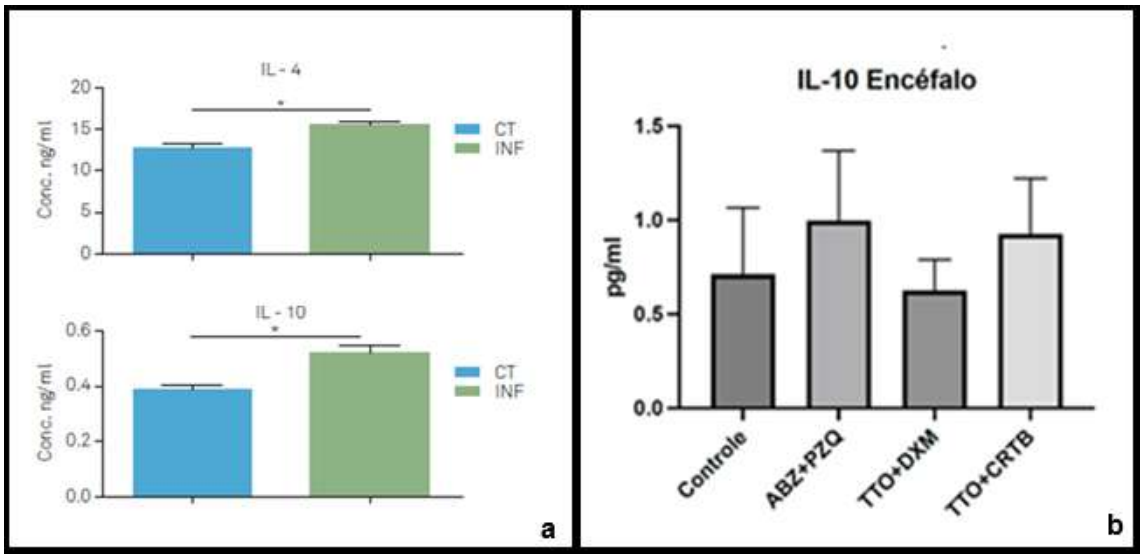


Figura 20. Comparativo entre os perfis de citocinas avaliadas por Milhomem e colaboradores (a) e o presente estudo (b).

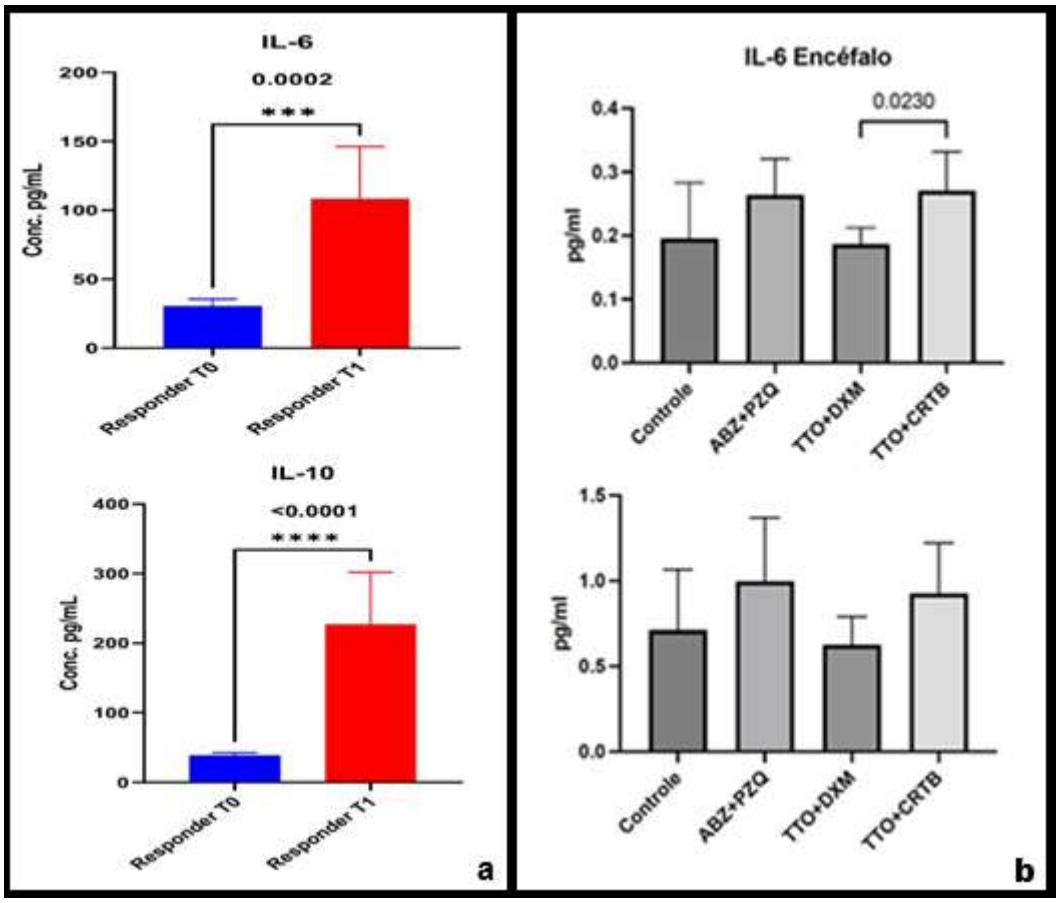


Figura 21. Comparativo entre os perfis de IL-6 e IL-10 no estudo de Mehta e colaboradores (a) e no presente estudo (b).

A utilização dos corticoides como forma de tratamento da inflamação leva a uma inibição de citocinas, dentre elas a IL-6 (Prodjinotho et al., 2020). Nosso estudo observou um padrão semelhante de redução de citocinas no

grupo tratado com antiparasitários associados a dexametasona, principalmente relacionado a IL-6, corroborando com o trabalho de PRODJINOTHO et al. (2020). A citarabina, que foi utilizada em nosso trabalho para tentar conter a neuroinflamação, não apresentou uma redução significativa das citocinas. Além disso, esse fármaco apesar de não apresentar diferença estatística com o grupo controle nem com o grupo tratado apenas com anti-helmínticos, apresentou valores mais elevados de citocinas *in situ*, que se aproximavam mais do grupo ALB + PZQ. Esses achados evidenciam que dentro dos tratamentos avaliados no nosso estudo, a dexametasona foi o melhor fármaco para controle da inflamação. Entretanto, o grupo tratado com antiparasitários associados a dexametasona também apresentou os maiores valores de TGF-β, o que sugere no nosso modelo experimental que o cisto pode ter sido beneficiado por esse medicamento, perpetuando a infecção.

Apesar de a citarabina não ter se mostrado efetiva em reduzir as citocinas inflamatórias no presente estudo, deve-se ressaltar que a dose utilizada em nosso modelo experimental (25 mg/m²) foi menor do que a indicada na literatura (50 mg/m²) para tratamento de meningoencefalite granulomatosa em cães (Dewey; Da Costa, 2016; Menaut et al., 2008; Zarfoss et al., 2006). Essa dose utilizada em nosso estudo foi definida por um estudo piloto no qual a dose da literatura apresentou uma taxa de mortalidade alta, inviabilizando o seu uso em nosso modelo experimental. No estudo de ZARFOSS et al. (2006), os autores observaram uma melhora mais significativa dos pacientes após a citarabina ser associada ao tratamento com prednisona, o que não foi testado em nosso estudo pelo fato de buscarmos uma nova forma de terapia que não utilize corticoide para tratamento da inflamação. Assim

como uma dose menor e a não associação da citarabina com a prednisona, outro fato importante a ser considerado, quando comparado o uso da citarabina em cães com MEG e o uso da citarabina em nosso modelo experimental, é o tempo de tratamento. Em cães com MEG, o protocolo consiste em um ciclo de aplicação subcutânea de citarabina a cada 12 horas por dois dias consecutivos, repetindo o processo a cada três semanas. Nosso estudo avaliou um protocolo de tratamento de duas semanas, o que permitiu a realização de apenas 1 ciclo da citarabina. Entretanto, para o tratamento da ExP-NCC, espera-se que a medicação utilizada para controle da inflamação possua uma ação rápida para evitar possíveis danos causados por esse processo e a citarabina não atendeu a esse critério em nosso estudo.

A manutenção da dilatação ventricular está diretamente ligada à inflamação local e a obstrução mecânica causada pela persistência dos cistos nas cavidades liquóricas. O tratamento da hidrocefalia é baseado no controle inflamatório local e na eliminação do cisticerco com o uso de antiparasitários ou na remoção cirúrgica. O nosso estudo avaliou o volume ventricular com base na volumetria realizada nas imagens da ressonância magnética no pré e no pós-tratamento, bem como a variação de volume entre os dois momentos anteriormente citados. Apesar de não apresentar diferenças significativas entre os grupos, foi observado um padrão nas volumetrias que corrobora com os achados do ELISA onde o grupo controle se aproxima mais do grupo tratado com dexametasona e o grupo tratado apenas com antiparasitários se aproxima mais do grupo tratado com citarabina. Nos grupos controle e antiparasitários + dexametasona, a variação do volume ventricular se apresenta maior do que nos grupos apenas antiparasitários e antiparasitários + citarabina. Esse fato

pode estar associado à manutenção de uma resposta inflamatória contínua e a manutenção da viabilidade dos cistos devido ausência de tratamento específico tanto para inflamação quanto para a infecção pelo parasito no caso do grupo controle, e à manutenção dos cistos no grupo dexametasona facilitada pelo uso do corticoide. Os corticoides causam imunossupressão e podem estimular a produção de TGF-β que, por sua vez, promove o aumento do tamanho dos cistos e ajuda na manutenção do parasita (Adalid-Peralta et al., 2017; Toledo et al., 2018). Nosso estudo experimental, mesmo que sem diferenças estatísticas, sugere uma correlação com essas informações, pois o grupo tratado com dexametasona apresentou a maior variação de volume ventricular e o maior valor de TGF- β conforme indicado na figura 21.

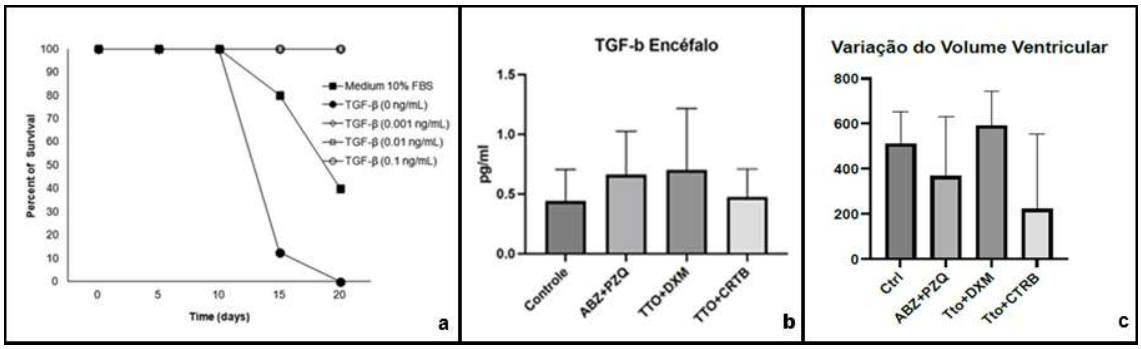


Figura 22. Gráfico evidenciando o percentual de sobrevida dos cistos em relação ao tempo descrito por Adalid-Peralta e colaboradores (a) e os gráficos de quantidade de TGF-β (b) e de variação do volume ventricular (c) para cada grupo experimental do presente estudo.

Outro fato importante que deve ser considerado com base nos resultados apresentados em nosso estudo é a possibilidade do tratamento com os antiparasitários não ter sido eficiente para eliminar os cistos do parasito. Quando observado o grupo controle, apesar dele se aproximar mais do valor do grupo antiparasitários + dexametasona, não houve diferença estatística entre ele e os grupos que receberam os antiparasitários. Essa questão pode estar associada ao tempo de tratamento, a dose utilizada ou ao mecanismo de

reparação do cisticerco. Um estudo conduzido com modelo experimental de ratos, realizou tratamento com o dobro da dose de albendazol pelo mesmo período de tempo quando comparado ao nosso estudo, porém não observou diferença significativa no índice ventricular que foi calculado com base nas imagens de RM (Oliveira et al., 2024). O estudo de TOLEDO et al. (2025) mostrou um potencial reparador da *Taenia solium* em casos de tratamento bem sucedido, com recidiva do parasita no mesmo local após alguns meses. No nosso trabalho, não é possível inferir que houve reparação do parasita pois no estudo de TOLEDO et al. (2025) foram observados pacientes humanos com infecção por *Taenia solium* e o nosso estudo foi conduzido em modelo experimental com ratos e infecção por *Taenia crassiceps.* Outra característica que distingue nosso trabalho do trabalho de TOLEDO et al. (2025) foi a não realização de ressonância magnética na qual os animais se apresentavam "livres" da infecção nem acompanhamento para avaliação de recidiva.

A presença do parasita e a lesão tecidual causada pela inflamação ou pela compressão tecidual decorrente da hidrocefalia podem levar a formação de fibrose e a um remodelamento de matiz extracelular, elevando a expressão de genes relacionados a essas alterações. Em um trabalho realizado por CARMEN-OROZCO et al. (2021) em modelo experimental de P-NCC em ratos inoculados com *Taenia solium* avaliou a expressão de 38 genes, dentre eles os genes *Fn1, Mmp2* e *Mmp9*. Esse estudo encontrou um aumento da expressão de *Fn1* e *Mmp2* no tecido ao redor do cisto quando comparado com o tecido contralateral e com o tecido não infectado do grupo controle. Quando comparado o tecido contralateral com o tecido não infectado, também houve um aumento da expressão gênica do *Fn1* e do *Mmp2*, o que sustenta a

presença de lesão tecidual mesmo em regiões não adjacentes ao cisto. No nosso estudo não foram encontradas diferenças estatísticas entre os grupos, porém os maiores valores obtidos para *Fn1* e *Mmp9* foram observados no grupo tratado com antiparasitários associados a dexametasona. Esse grupo também apresentou maiores valores de TGF-β e de variação de volume ventricular. Isso pode sugerir que, apesar de um melhor controle da inflamação local, o aumento ventricular e o favorecimento do parasita induzido pelo uso do corticoide podem ter agravado a lesão tecidual. Embora o grupo antiparasitários associados a dexametasona tenha apresentado um valor superior de TGF-β os valores da expressão do genica de *Tgfb2* não foram diferentes nesse grupo em relação aos demais.

O gene *Slamf5* atua na ativação linfocítica e na regulação da produção de interleucinas como IL-1β, IL-6, IL-10, IL-12 e IL-23 (Agod et al., 2018; Farhangnia et al., 2023; Radomir et al., 2021). Um estudo relatou que a inibição da expressão de *Slamf5* levou a uma redução na produção de IL-6 e TNF-α induzida por lipopolissacarídeos (LPS) em macrófagos derivados da medula óssea de camundongos (Sintes et al., 2010). Apesar de não haver diferenças estatísticas na expressão genica de *Slamf5* em nosso estudo, o grupo tratado com a dexametasona apresentou tanto os menores valores de *Slamf5*, quanto os menores valores de IL-6 o que pode corroborar com o estudo de Sintes et al (2010).

Em nosso estudo, o grupo tratado com dexametasona apresentou uma menor quantidade de IL-6 e também menores valores de expressão do gene *Rorc*. Esse gene é importante para a regulação e diferenciação das células Th17, sendo sua expressão estimulada por IL-6 e por TGF-β (Guendisch et al.,

2017). No caso de uma baixa quantidade de IL-6 e/ou TGF-β, uma menor expressão do *Rorc* pode impactar na resposta imune por interferir diretamente na regulação das células Th17. Essa baixa expressão pode ter levado a um possível impacto nas células Th17 e, consequentemente, no sistema imune contribuindo para manutenção dos cistos de *Taenia crassiceps* em nosso modelo experimental.

O trabalho de CÁRDENAS et al. (2014) mostrou em pacientes responsivos ao tratamento com anti-helmínticos uma superexpressão de genes pró e anti-inflamatórios, bem como imunomoduladores, diretamente envolvidos na resposta de células Th17 como *RORC, RUNX3, SLAMF3* e *SLAMF6*. O nosso estudo não apresentou diferenças estatísticas entre os grupos nem superexpressão para os genes *Rorc, Runx3* e *Slamf5*. Isso, associado a ausência de diferenças estatísticas entre os grupos nos outros parâmetros avaliados (ELISA e volumetria), pode sugerir que nenhum tratamento foi capaz de eliminar os cistos.

CONCLUSÃO

7. CONCLUSÃO

A utilização de corticosteroides mostrou-se uma boa opção para o tratamento da neuroinflamação no modelo experimental uma vez que o grupo tratado com antiparasitários associados a dexametasona foi o que apresentou os menores valores de IL-6 e IL-10. O tratamento com citarabina não foi capaz de reduzir a neuroinflamação no presente estudo, apresentando um padrão de citocinas que se aproxima mais do grupo tratado apenas com anti-helmínticos, porém sem diferenças estatísticas com os demais grupos.

Nenhum dos grupos apresentou um resultado significativo em reduzir o volume ventricular, o que pode sugerir uma baixa eficiência ou mesmo ausência de eficácia do tratamento em eliminar os cistos e controlar de forma satisfatória a inflamação, mantendo assim a redução do fluxo do líquor e mantendo a hidrocefalia.

Baseado nos resultados obtidos em nosso estudo por meio do ELISA, da volumetria e do RT-qPCR, é possível supor que apesar da dexametasona contribuir com a redução da neuroinflamação, ela também auxilia o parasita a se manter viável e a evadir da resposta imune do hospedeiro em nosso modelo experimental.

Apesar dos resultados obtidos nesse estudo, novos trabalhos devem ser realizados buscando estabelecer um padrão de citocinas na neurocisticercose extraparenquimatosa e novas formas de controle da neuroinflamação e combate aos cisticercos que possam contribuir com o tratamento dessa enfermidade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ADALID-PERALTA, Laura *et al.* Effect of Transforming Growth Factor-β upon Taenia solium and Taenia crassiceps Cysticerci. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 12345, 27 set. 2017.

2. AGOD, Zsofia *et al.* Signaling Lymphocyte Activation Molecule Family 5 Enhances Autophagy and Fine-Tunes Cytokine Response in Monocyte-Derived Dendritic Cells via Stabilization of Interferon Regulatory Factor 8. **Frontiers in Immunology**, v. 9, p. 62, 26 jan. 2018.

3. AHMED, Afsar; WILLIAMS, Bryan; HANNIGAN, Gregory. Transcriptional Activation of Inflammatory Genes: Mechanistic Insight into Selectivity and Diversity. **Biomolecules**, v. 5, n. 4, p. 3087–3111, 11 nov. 2015.

4. ALLAN, J. A. *et al.* Binding of gelatinases A and B to type-I collagen and other matrix components. **Biochemical Journal**, v. 309, n. 1, p. 299–306, 1 jul. 1995.

5. ALMAGHRABI, S. Y. Apigenin ameliorates hypercholesterolemic-induced kidney injury via modulating renal KIM-1, Fn1, and Nrf2 signaling pathways. **European Review for Medical and Pharmacological Sciences**, v. 27, n. 3, p. 1155–1169, fev. 2023.

6. ALVAREZ, Jorge I. *et al. Mesocestoides corti*intracranial infection as a murine model for neurocysticercosis. **Parasitology**, v. 137, n. 3, p. 359–372, mar. 2010.

7. AMBROZIO, Javier R.; FERRER, Araceli; ZEPEDA-RODRIGUEZ, Armando. In vitro Effects of Nitazoxanide on the Morphology of Nascent and Immature Adult Stages of Taenia solium. **Annals of Clinical Pathology**, v. 5, n. 4, p. 1117, 2017.

8. ANAND, Pria *et al.* Steroid-sparing agents for the treatment of inflammation in complicated neurocysticercosis. **Neurology - Neuroimmunology Neuroinflammation**, v. 6, n. 6, p. e606, nov. 2019.

9. BARINAGARREMENTERIA, Fernando; CANTÚ, Carlos. Frequency of Cerebral Arteritis in Subarachnoid Cysticercosis: An Angiographic Study. **Stroke**, v. 29, n. 1, p. 123–125, jan. 1998.

10. BAZAN, Rodrigo *et al.* Clinical Symptoms, Imaging Features and Cyst Distribution in the Cerebrospinal Fluid Compartments in Patients with Extraparenchymal Neurocysticercosis. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 10, n. 11, p. e0005115, 9 nov. 2016.

11. BRUTTO, O. H. D. *et al.* Albendazole Therapy for Giant Subarachnoid Cysticerci. **Archives of Neurology**, v. 49, n. 5, p. 535–538, 1 maio 1992.

12. CARABIN, Hélène *et al.* Clinical Manifestations Associated with Neurocysticercosis: A Systematic Review. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 5, n. 5, p. e1152, 24 maio 2011.

13. CÁRDENAS, Graciela *et al.* Severe Cysticercal Meningitis: Clinical and Imaging Characteristics. **The American Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 82, n. 1, p. 121–125, jan. 2010.

14. CÁRDENAS, Graciela *et al.* Neurocysticercosis: the effectiveness of the cysticidal treatment could be influenced by the host immunity. **Medical Microbiology and Immunology**, v. 203, n. 6, p. 373–381, dez. 2014.

15. CARMEN-OROZCO, Rogger P. *et al.* Changes in inflammatory gene expression in brain tissue adjacent and distant to a viable cyst in a rat model for neurocysticercosis. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 15, n. 4, p. e0009295, 27 abr. 2021.

16. CARPIO, Arturo *et al.* Neurocysticercosis: the good, the bad, and the missing. **Expert Review of Neurotherapeutics**, v. 18, n. 4, p. 289–301, 3 abr. 2018.

17. CASTRO, Glenda *et al.* RORγt and RORα signature genes in human Th17 cells. **PLOS ONE**, v. 12, n. 8, p. e0181868, 1 ago. 2017.

18. COYLE, Christina M. *et al.* Neurocysticercosis: Neglected but Not Forgotten. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 6, n. 5, p. e1500, 29 maio 2012.

19. CUELLO-GARCÍA, Carlos A. *et al.* Corticosteroids for neurocysticercosis: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 17, n. 8, p. e583–e592, ago. 2013.

20. CUENCA, Marta *et al.* CD84 cell surface signaling molecule: An emerging biomarker and target for cancer and autoimmune disorders. **Clinical Immunology**, v. 204, p. 43–49, jul. 2019.

21. DEL BRUTTO, Oscar H. Neurocysticercosis: A Review. **The Scientific World Journal**, v. 2012, p. 1–8, 2012.

22. DEL BRUTTO, Oscar H.; GARCIA, Hector H. Neurocysticercosis. *In*: **Handbook of Clinical Neurology**. *[S.l.]*: Elsevier, 2013. v. 114 p. 313–325.

23. DEWEY, Curtis W.; DA COSTA, Ronaldo C. (ORGS.). **Practical guide to canine and feline neurology**. Third edition ed. Chichester, West Sussex ; Hoboken: Wiley-Blackwell, 2016.

24. DUQUE, Kevin R.; BURNEO, Jorge G. Clinical presentation of neurocysticercosis-related epilepsy. **Epilepsy & Behavior**, v. 76, p. 151–157, nov. 2017.

25. ESCOBAR, A. The pathology of neurocysticercosis. *In*: **Cysticercosis of the central nervous system. in: Palacios E, Rodriguez-Carbajal J, Taveras JM (Eds.)**. Springfield: Charles C Thomas, 1983. p. 27–54.

26. ESTANOL, B.; CORONA, T.; ABAD, P. A prognostic classification of cerebral cysticercosis: therapeutic implications. **Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry**, v. 49, n. 10, p. 1131–1134, 1 out. 1986.

27. FARHANGNIA, Pooya *et al.* SLAM-family receptors come of age as a potential molecular target in cancer immunotherapy. **Frontiers in Immunology**, v. 14, p. 1174138, 11 maio 2023.

28. FIGUEROA, Juan J.; DAVIS, Larry E.; MAGALHAES, Alvaro. Extraparenchymal Neurocysticercosis in Albuquerque, New Mexico. **Journal of Neuroimaging**, v. 21, n. 1, p. 38–43, jan. 2011.

29. FLEURY, Agnès *et al.* Subarachnoid basal neurocysticercosis: a focus on the most severe form of the disease. **Expert Review of Anti-infective Therapy**, v. 9, n. 1, p. 123–133, jan. 2011.

30. FLEURY, Agnès; SCIUTTO, Edda. Extraparenchymal neurocysticercosis: a challenge in treatment and in clinical management. **Revista del Centro de Investigación de la Universidad la Salle**, v. 13, n. 52, p. 9–18, 27 maio 2020.

31. FOGAROLI, Marcelo *et al.* Effect of Albendazole Treatment in an Experimental Model of Neurocysticercosis-Induced Hydrocephalus. **Arquivos Brasileiros de Neurocirurgia: Brazilian Neurosurgery**, v. 38, n. 01, p. 025–030, mar. 2019.

32. GARCIA, Héctor H. *et al.* A Trial of Antiparasitic Treatment to Reduce the Rate of Seizures Due to Cerebral Cysticercosis. **New England Journal of Medicine**, v. 350, n. 3, p. 249–258, 15 jan. 2004.

33. GARCIA, Hector H.; NASH, Theodore E.; DEL BRUTTO, Oscar H. Clinical symptoms, diagnosis, and treatment of neurocysticercosis. **The Lancet Neurology**, v. 13, n. 12, p. 1202–1215, dez. 2014.

34. GENEROSO, Diego *et al.* Oxidative Stress in the Murine Model of Extraparenchymal Neurocysticercosis. **Microorganisms**, v. 12, n. 9, p. 1860, 8 set. 2024.

35. GUENDISCH, Ulf *et al.* Pharmacological inhibition of RORγt suppresses the Th17 pathway and alleviates arthritis in vivo. **PLOS ONE**, v. 12, n. 11, p. e0188391, 20 nov. 2017.

36. HAMAMOTO FILHO, Pedro T. *et al.* Could Differences in Infection Pressure Be Involved in Cysticercosis Heterogeneity? **Trends in Parasitology**, v. 36, n. 10, p. 826–834, out. 2020.

37. HAMAMOTO FILHO, Pedro T. *et al.* Inflammation in neurocysticercosis: clinical relevance and impact on treatment decisions. **Expert Review of Anti-infective Therapy**, v. 19, n. 12, p. 1503–1518, 2 dez. 2021.

38. HAMAMOTO FILHO, Pedro Tadao *et al.* Development of an experimental model of neurocysticercosis-induced hydrocephalus. Pilot study. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 30, n. 12, p. 819–823, dez. 2015.

39. HAMAMOTO FILHO, Pedro Tadao *et al.* A Rat Model of Neurocysticercosis-Induced Hydrocephalus: Chronic Progressive Hydrocephalus with Mild Clinical Impairment. **World Neurosurgery**, v. 132, p. e535–e544, dez. 2019.

40. HAMAMOTO FILHO, Pedro Tadao *et al.* Current Role of Surgery in the Treatment of Neurocysticercosis. **Pathogens**, v. 13, n. 3, p. 218, 29 fev. 2024.

41. HAMAMOTO FILHO, Pedro Tadao; RODRÍGUEZ-RIVAS, Roberto; FLEURY, Agnès. Neurocysticercosis: A Review into Treatment Options, Indications, and Their Efficacy. **Research and Reports in Tropical Medicine**, v. Volume 13, p. 67–79, dez. 2022.

42. HAMAMOTO FILHO, Pedro Tadao; ZANINI, Marco Antônio; FLEURY, Agnès. Hydrocephalus in Neurocysticercosis: Challenges for Clinical Practice and Basic Research Perspectives. **World Neurosurgery**, v. 126, p. 264–271, jun. 2019.

43. HARRIS, N. G.; JONES, H. C.; WILLIAMS, S. C. R. MR imaging for measurements of ventricles and cerebral cortex in postnatal rats (H-Tx strain) with progressive inherited hydrocephalus. **Experimental Neurology**, v. 118, n. 1, p. 1–6, out. 1992.

44. HARRISON, Sarah *et al.* The Local Inflammatory Profile and Predictors of Treatment Success in Subarachnoid Neurocysticercosis. **Clinical Infectious Diseases**, v. 72, n. 9, p. e326–e333, 4 maio 2021.

45. HUANG, Rong *et al.* Identifying immune cell infiltration and effective diagnostic biomarkers in Crohn's disease by bioinformatics analysis. **Frontiers in Immunology**, v. 14, p. 1162473, 9 ago. 2023.

46. ISAC, Eliana *et al.* In vitro nitazoxanide exposure affects energetic metabolism of Taenia crassiceps. **Experimental Parasitology**, v. 208, p. 107792, jan. 2020.

47. KEISER, Paul B.; NASH, Theodore E. Prolonged Perilesional Edema after Treatment of Parenchymal Neurocysticercosis: Methotrexate as a Corticosteroid-Sparing Agent. **Clinical Infectious Diseases**, v. 36, n. 10, p. e122–e126, 15 maio 2003.

48. KELESIDIS, Theodoros; TSIODRAS, Sotirios. Extraparenchymal Neurocysticercosis in the United States. **The American Journal of the Medical Sciences**, v. 344, n. 1, p. 79–82, jul. 2012.

49. LERNER, Alexander *et al.* Imaging of Neurocysticercosis. **Neuroimaging Clinics of North America**, v. 22, n. 4, p. 659–676, nov. 2012.

50. LI, Ming O. *et al.* TRANSFORMING GROWTH FACTOR-β REGULATION OF IMMUNE RESPONSES. **Annual Review of Immunology**, v. 24, n. 1, p. 99–146, 1 abr. 2006.

51. LI, S. *et al.* RUNX3 protects against acute lung injury by inhibiting the JAK2/STAT3 pathway in rats with severe acute pancreatitis. **European Review for Medical and Pharmacological Sciences**, v. 23, n. 12, p. 5382–5391, jun. 2019.

52. LIU, Peihui *et al.* Integrated Network Pharmacology and Experimental Validation Approach to Investigate the Therapeutic Effects of Capsaicin on Lipopolysaccharide-Induced Acute Lung Injury. **Mediators of Inflammation**, v. 2022, p. 1–11, 30 jan. 2022.

53. LIU, Xia *et al.* Runt-related transcription factor 3 is involved in the altered phenotype and function in ThPok-deficient invariant natural killer T cells. **Cellular & Molecular Immunology**, v. 11, n. 3, p. 232–244, maio 2014.

54. LIVAK, Kenneth J.; SCHMITTGEN, Thomas D. Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the 2−ΔΔCT Method. **Methods**, v. 25, n. 4, p. 402–408, dez. 2001.

55. LOWRIE, M. *et al.* Effect of a constant rate infusion of cytosine arabinoside on mortality in dogs with meningoencephalitis of unknown origin. **The Veterinary Journal**, v. 213, p. 1–5, jul. 2016.

56. MARCIN SIERRA, Mariana *et al.* Extraparenchymal neurocysticercosis: Demographic, clinicoradiological, and inflammatory features. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 11, n. 6, p. e0005646, 9 jun. 2017.

57. MATOS-SILVA, Hidelberto *et al.* Experimental encephalitis caused by Taenia crassiceps cysticerci in mice. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, v. 70, n. 4, p. 287–292, 24 fev. 2012.

58. MEDZHITOV, Ruslan. Inflammation 2010: New Adventures of an Old Flame. **Cell**, v. 140, n. 6, p. 771–776, mar. 2010.

59. MEHTA, Yashvi *et al.* Efficiency of Cysticidal Therapy Impacted by the Host's Immune Response in Neurocysticercosis Patients. **Molecular Neurobiology**, v. 62, n. 2, p. 2203–2211, fev. 2025.

60. MENAUT, P. *et al.* Treatment of 11 dogs with meningoencephalomyelitis of unknown origin with a combination of prednisolone and cytosine arabinoside. **Veterinary Record**, v. 162, n. 8, p. 241–245, fev. 2008.

61. MILHOMEM, Anália Cirqueira *et al.* Histopathologic aspects of experimental cysticercosis and in situ cytokines profile in C57BL/6 mice. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, v. 76, n. 5, p. 339–345, maio 2018.

62. MITRE, E. *et al.* Methotrexate as a Corticosteroid-Sparing Agent in Complicated Neurocysticercosis. **Clinical Infectious Diseases**, v. 44, n. 4, p. 549–553, 15 fev. 2007.

63. MOHAMMAD MALYAR, Rahmani *et al.* Zinc-enriched probiotics enhanced growth performance, antioxidant status, immune function, gene expression, and morphological characteristics of Wistar rats raised under high ambient temperature. **3 Biotech**, v. 9, n. 8, p. 291, ago. 2019.

64. NASH, Theodore E. *et al.* Corticosteroid use in neurocysticercosis. **Expert Review of Neurotherapeutics**, v. 11, n. 8, p. 1175–1183, ago. 2011.

65. OLIVEIRA, Louise; FIGUEIREDO, Eberval; PERES, Carlos. The Glymphatic System: A Review. **Arquivos Brasileiros de Neurocirurgia: Brazilian Neurosurgery**, v. 37, n. 03, p. 190–195, set. 2018.

66. OLIVEIRA, Vinícius Tadeu *et al.* Murine Extraparenchymal Neurocysticercosis: Appropriate Model for Evaluating Anthelminthic and Anti-Inflammatory Treatment Schedules. **Tropical Medicine and Infectious Disease**, v. 9, n. 9, p. 215, 16 set. 2024.

67. OSORIO, Rocio *et al.* Factors Associated With Cysticidal Treatment Response in Extraparenchymal Neurocysticercosis. **The Journal of Clinical Pharmacology**, v. 59, n. 4, p. 548–556, abr. 2019.

68. PFUETZENREITER, Márcia Regina; PIRES, Fernando Dias De Ávila. Epidemiologia da teníase/cisticercose por Taenia solium e Taenia saginata. **Ciência Rural**, v. 30, n. 3, p. 541–548, jun. 2000.

69. PRODJINOTHO, Ulrich Fabien *et al.* Host immune responses during Taenia solium Neurocysticercosis infection and treatment. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 14, n. 4, p. e0008005, 16 abr. 2020.

70. RADOMIR, Lihi *et al.* The survival and function of IL-10-producing regulatory B cells are negatively controlled by SLAMF5. **Nature Communications**, v. 12, n. 1, p. 1893, 25 mar. 2021.

71. RODRIGUES JR., V. *et al.* Interleukin-5 and interleukin-10 are major cytokines in cerebrospinal fluid from patients with active neurocysticercosis. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 33, n. 9, p. 1059–1063, set. 2000.

72. ROMANO, Marta C. *et al.* Parasites and steroid hormones: corticosteroid and sex steroid synthesis, their role in the parasite physiology and development. **Frontiers in Neuroscience**, v. 9, 30 jun. 2015.

73. SALIBA, Elie; HENROT, Anne. Inflammatory Mediators and Neonatal Brain Damage. **Neonatology**, v. 79, n. 3–4, p. 224–227, 2001.

74. SAMPAIO, Guilherme A. *et al.* Histopathologic evaluation of experimental murine neurocysticercosis after treatment with albendazole/nitazoxanide combination. **Parasitology**, v. 147, n. 7, p. 822–827, jun. 2020.

75. SCHWARZBAUER, Jean E. Fibronectin: from gene to protein. **Current Opinion in Cell Biology**, v. 3, n. 5, p. 786–791, out. 1991.

76. SINTES, Jordi *et al.* Mouse CD84 is a *pan* -leukocyte cell-surface molecule that modulates LPS-induced cytokine secretion by macrophages. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 88, n. 4, p. 687–697, 13 jul. 2010.

77. SUGIYAMA, Yuki *et al.* Capsaicin attenuates TGFβ2-induced epithelial-mesenchymal-transition in lens epithelial cells in vivo and in vitro. **Experimental Eye Research**, v. 213, p. 108840, dez. 2021.

78. TOLEDO, Andrea *et al.* Human Extraparenchymal Neurocysticercosis: The Control of Inflammation Favors the Host…but Also the Parasite. **Frontiers in Immunology**, v. 9, p. 2652, 16 nov. 2018.

79. TOLEDO, Andrea *et al.* Repair capacity of Taenia solium extraparenchymal cysts: radiological and in vitro evidence. **Future Microbiology**, v. 20, n. 5, p. 383–389, 24 mar. 2025.

80. UNTERGASSER, Andreas *et al.* Primer3—new capabilities and interfaces. **Nucleic Acids Research**, v. 40, n. 15, p. e115–e115, ago. 2012.

81. WHITE, A. Clinton *et al.* Diagnosis and Treatment of Neurocysticercosis: 2017 Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society of Tropical Medicine and Hygiene (ASTMH). **Clinical Infectious Diseases**, v. 66, n. 8, p. e49–e75, 3 abr. 2018.

82. WILLIAMS, K. *et al.* IL-10 PRODUCTION BY ADULT HUMAN DERIVED MICROGLIAL CELLS. **Neurochemistry International**, v. 29, n. 1, p. 55–64, jul. 1996.

83. WILLMS, Kaethe; ZURABIAN, Rimma. *Taenia crassiceps* : *in vivo* and *in vitro* models. **Parasitology**, v. 137, n. 3, p. 335–346, mar. 2010.

84. YANG, Ling *et al.* A comprehensive analysis of biomarkers associated with synovitis and chondrocyte apoptosis in osteoarthritis. **Frontiers in Immunology**, v. 14, p. 1149686, 21 jul. 2023.

85. YUSHKEVICH, Paul A. *et al.* User-guided 3D active contour segmentation of anatomical structures: Significantly improved efficiency and reliability. **NeuroImage**, v. 31, n. 3, p. 1116–1128, jul. 2006.

86. ZARFOSS, M. *et al.* Combined cytosine arabinoside and prednisone therapy for meningoencephalitis of unknown aetiology in 10 dogs. **Journal of Small Animal Practice**, v. 47, n. 10, p. 588–595, out. 2006.

87. ZHANG, Jing *et al.* Maternal Perinatal Exposure to Dibutyl Phthalate Promotes Ovarian Dysfunction in Adult Female Offspring via Downregulation of TGF-β2 and TGF-β3. **Reproductive Sciences**, v. 29, n. 8, p. 2401–2413, ago. 2022.

88. ZHAO, Guohua *et al.* NF45/ILF2 tissue expression, promoter analysis, and interleukin-2 transactivating function. **Experimental Cell Research**, v. 305, n. 2, p. 312–323, maio 2005.

9. ARTIGO CIENTÍFICO EM INGLÊS

USE OF THE COMBINATION OF ALBENDAZOLE AND PRAZIQUANTEL, ALONE OR IN ASSOCIATION WITH IMMUNOSUPPRESSIVE AGENTS, FOR THE TREATMENT OF EXTRAPARENCHYMAL NEUROCYSTICERCOSIS IN RATS

Renato Tavares Conceição[1]; Tatiane de Camargo Martins[2]; Matheus Buso Milhorini[3]; Diego Generoso[4]; Fátima Maria Caetano Caldeira[5]; Adriana Camargo Ferrasi[6]; Estela de Oliveira Lima[6]; Pedro Tadao Hamamoto Filho[2]

1. UNESP–Univ Estadual Paulista. School of Veterinary Medicine of Araçatuba. Departament of Clinic, Surgery and Animal Reproduction
2. UNESP–Univ Estadual Paulista. Botucatu Medical School. Department of Neurology, Psychology and Psychiatry
3. UNESP–Univ Estadual Paulista. Botucatu Medical School. Undergraduate student
4. UNIPEX - UNESP–Univ Estadual Paulista
5. USP – Univ de São Paulo. School of Veterinary Medicine. Departament os Surgery
6. UNESP–Univ Estadual Paulista. Botucatu Medical School. Department of Medical Clinic

Introduction

Extraparenchymal neurocysticercosis (ExP-NCC) occurs when larvae lodge outside the brain parenchyma, mainly in the ventricles and the subarachnoid space of the basal cisterns. This presentation of the disease is more severe, and clinical signs are associated with increased intracranial pressure due to changes in cerebrospinal fluid (CSF) flow resulting from mechanical obstruction caused by the cysts or inflammation of the basal arachnoid (FLEURY et al., 2011; HAMAMOTO FILHO; ZANINI; FLEURY, 2019; MARCIN SIERRA et al., 2017).

The treatment for ExP-NCC remains challenging, as routine antiparasitic medications do not have high efficacy in destroying the cysticerci. Additionally, the inflammation necessary for cyst destruction can worsen the patient's clinical condition (FLEURY; SCIUTTO, 2020; TOLEDO et al., 2018). Generally, treatment is carried out using Albendazole (ABZ) or Praziquantel (PZQ) in an attempt to reduce the parasitic load, alongside corticosteroids such as prednisone or dexamethasone to control neuroinflammation (BRUTTO et al., 1992; FLEURY et al., 2011; GARCIA; NASH; DEL BRUTTO, 2014; TOLEDO et al., 2018). However, none of these drugs display ideal efficacy for treating ExP-NCC. The parasite may evade the inflammatory response with the host, which is disrupted by the administration of antiparasitic drugs, leading to an acute inflammatory response. Consequently, the inflammatory state that needs suppression is caused by the therapy itself (GARCIA et al., 2004; NASH et al., 2011).

The use of corticosteroids as a therapy for neuroinflammation in NCC, although recommended, may contribute to maintaining parasite viability, as these drugs can cause immunosuppression in the host (TOLEDO et al., 2018) and stimulate TGF-β production, promoting growth and increasing the survival rate of cysticerci (ADALID-PERALTA et al., 2017).

Since the treatment of neurocysticercosis often relies on the prolonged administration of corticosteroids, new drugs that act on inflammation and may reduce or even eliminate the need for corticosteroids are currently being researched to mitigate the deleterious effects of these drugs.

Cytarabine (CTB) is an antineoplastic drug with immunosuppressive properties that has been recently used in veterinary medicine as an adjunct treatment for an inflammatory CNS disease called granulomatous meningoencephalitis (GME) (DEWEY; DA COSTA, 2016).

The hypothesis proposed by the present study is that the combination of albendazole and praziquantel will be effective in eliminating Taenia crassiceps cysts, and that immunosuppressive agents will assist in reducing neuroinflammation caused by the presence of cysts.

Materials and Methods

44 male Wistar rats (*Rattus novergicus*) weighing100-150g were used. They were handled according to ethical principles for animal welfare and the board of the local Ethics Committee on Animal Use approved the study project. The animals were kept under adequate sanitary conditions, with food and water available ad libitum, with light/dark cycles of 12h, in a room with temperature control (21^{o}C). The sample size was calculated considering a 30% mortality after the procedures, and the possibility of reaching statistical differences in terms of ventricular volume with 5 animals in each group according to the Hamamoto Filho et al., (2016) study.

Induction of Neurocysticercosis

To induce neurocysticercosis, cysts of *Taenia crassiceps* (ORF strain) were used, obtained from the peritoneal cavity of mice from the UNIPEX bioterium (protocol for the maintenance of *Taenia crassiceps* metacestodes in mice – CEUA certificate no. 1255/2017). The cysts were aseptically collected and selected based on their viability. The animals were subjected to general anesthesia through intraperitoneal injection of ketamine (87 mg/kg) and xylazine (13 mg/kg), and the inoculation of 50 viable *T. crassiceps* cysts in 0.02 ml of saline was performed via cisterna magna by suboccipital puncture with a 24G needle, following a 1-cm skin incision at the occipito-cervical transition. After the procedure, skin suturing with 4-0 nylon thread and a single dose of dipyrone (150 mg/kg) intraperitoneally were administered.

Radiological Evaluation and Experimental Groups

Three months after cyst inoculation, the animals underwent magnetic resonance imaging (MRI) to confirm the disease development. The MRI was conducted at the Veterinary Medicine and Animal Science School of UNESP, Botucatu campus, using an Esaote machine (Vet MR Grande model, 0.25 T). Images with a slice thickness of 0.6 mm were acquired using the 3D Hycegradient echo sequence (echo time 5 ms, repetition time 10 ms). All animals were anesthetized intraperitoneally with ketamine (87 mg/kg) and xylazine (13 mg/kg) prior to the procedure.

Animals without disease on MRI were excluded from the study and euthanized via thiopental overdose (120 mg/kg intraperitoneally). Animals with disease were randomly assigned to four groups: 1. No treatment (control); 2. Treatment with albendazole and praziquantel;3. Treatment with albendazole, praziquantel, and dexamethasone; 4. Treatment with albendazole, praziquantel, and cytarabine.

For treated groups, albendazole was administered at 15 mg/kg/day for two weeks via gavage, using an oral suspension at 40 mg/ml concentration. Praziquantel was given subcutaneously at 50 mg/kg/day for two weeks, utilizing a drug ampoule solution at 55 mg/ml concentration. For Group 3, dexamethasone was additionally administered at 0.1 mg/ml concentration, with a dose of 1 ml every other day. For Group 4, cytarabine was co-administered with albendazole and praziquantel at 25 mg/m² subcutaneously every 12 hours over two consecutive days, using an injectable solution at 100 mg/ml concentration. Cytarabine was diluted at a 2:1 ratio in 0.9% saline to avoid tissue irritation, with all appropriate personal protective equipment (PPE) utilized by the applicator. Treatments lasted for two weeks. One month after treatment completion, animals underwent another MRI to evaluate the cysts and were subsequently euthanized via thiopental overdose (120 mg/kg intraperitoneally) for brain removal and histological analysis. The degree of hydrocephalus was quantified using volumetric analysis with the free ITK-SNAP software (version 3.0.0) (YUSHKEVICH et al., 2006). Animals with ventricular volumes exceeding 5 mm³ were considered hydrocephalic (HARRIS; JONES; WILLIAMS, 1992).

Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

The technique followed the method standardized by MILHOMEM et al. (2018). Previously frozen cerebral hemispheres were sonicated in a solution of Tris and HCl, 1% NP40, and protease inhibitor. Cytokines IL-6, IL-10, TGF-β, and IFN-γ were quantified in the homogenized brain tissue solution and blood plasma using the sandwich ELISA method as per the manufacturer's instructions (BD OptEIATM). IL-10 quantification was performed with the IL-10 ELISA - BD OptEIATM kit (BD Biosciences, San Diego, CA). IFN-γ quantification used high-binding ELISA microplates sensitized with 80 µl of monoclonal IFN-γ antibody (5 µg/µl of clone XMG in PBS). Optical density was measured using a Thermo/Labsystems microplate reader, with filters specific to each cytokine.

Quantitative Real-Time PCR (qPCR)

RNA extraction from the brain was performed using the RNeasy Mini Kit (Qiagen). Subsequently, theisolated RNA was converted into cDNA using the High Capacity RNA-to-cDNA kit (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA), following the manufacturer's specifications. The reaction conditions included: RT Buffer 1x, dNTPmixture 4mM, Random Primer 1x, MultiScribeTM 25U, RNaseInhibitor 10U, in a final volume of 20µL.

Each cDNA was then amplifiedby real-time PCR (qPCR) using the Step One Plus TM System (Applied Biosystems, Thermo Fisher Scientific, Inc). Each qPCR reaction contained 5 µL of Power Up SYBRTM Green Master Mix (2X) (Thermo Fisher), 0.6 µLofeach primer (10 µM), 4 µL of cDNA, and enough water to complete 20µL. The thermocycling conditions were: 50°C for 2 minutes, 95°C for 2 minutes, and 40 cycles of 95°C for 15 seconds, 61°C for 15 seconds, and finally, 72°C for 1 minute. After amplification, a melting curve analysis was performed to confirm assay specificity.

Normalization of RNA concentration was ensured by using the endogenous genes Gapdhand β-actin (Actb) as reference controls. All samples were analyzed in triplicate, and relative quantification (RQ) was calculated using the comparative Cq method ($2^{-\Delta\Delta Cq}$) (Livak&Schmittgen, 2001). The primers used in this study are listed in Table1.

Statistical Analysis

The Shapiro-Wilk test was used to determine data normality. The Kruskal-Wallis test was employed to compare independent groups with non-parametric data. For normally distributed variables, one-way ANOVA was used for group comparisons. Spearman's test was used for non-parametric data correlations, while Pearson's test was applied for parametric correlations. Differences were considered significant at $p < 0.05$. Analyses were conducted using SPSS software version 24.0.

Results

Of the 44 animals inoculated with cysticerci, 24 presented hydrocephalus after the first magnetic resonance imaging (MRI), corresponding to an approximate 54% success rate in inoculation and disease development in the experimental model. These 24 animals were randomly distributed among the treatment groups, with six animals allocated to each group. During the treatment phase, five animals died: 2 from the control group, 1 from the ALB + PZQ group, 1 from the antiparasitics + dexamethasone group, and 1 from the antiparasitics + cytarabine group. After the 15-day treatment period and an additional 30-day interval, the remaining 19 animals underwent a second MRI and were subsequently euthanized for brain removal.

Radiological Evaluation

Twenty-four animals that underwent the first MRI exhibited ventricular enlargement and were included in the study. During the treatments, five animals died, leaving only 19 animals for the second MRI. Following the second MRI, pre- and post-treatment ventricular volumes were calculated. In the control group, pre-treatment mean of 356.42 mm^3 ± 103.13 (258.10–520.40), and post-treatment mean of 866.92 mm^3 ± 154.97 (711.60–1090.00). In the Albendazole + praziquantel treatment group, pre-treatment mean of 337.65 mm^3 ± 136.20 (216.80–523.40), and post-treatment mean of 704.65 mm^3 ± 313.13 (356.80–1078.00). In the Antiparasitics + dexamethasone treatment group: Pre-treatment mean of 294.34 mm^3 ± 111.86 (146.80–459.10), and post-treatment mean of 885.20 mm^3 ± 248.32 (487.10–1136.00). In the Antiparasitics + cytarabine treatment group, pre-treatment mean of 406.12 mm^3 ± 191.92 (103.30–590.50), and post-treatment mean of 627.56 mm^3 ± 317.07 (248.70–1035.00).

No statistical differences were observed when comparing the pre-treatment means ($p=0.584$), post-treatment means ($p=0.449$), or the differences between pre- and post-treatment means ($p=0.134$). Figure 1illustrate the means for each treatment group at the pre-treatment, post-treatment, and ventricular volume variation, respectively.

Evaluation of Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

In the brain tissue, the group treated with antiparasitics and dexamethasone exhibited the lowest levels of IFN-γ, IL-10, and IL-6, with statistically significant differences in IL-6 between the dexamethasone and cytarabine groups (Figure 2). The group treated only with antiparasitics (albendazole and praziquantel) showed the highest levels of IFN-γ, IL-10, and IL-6. TGF-β levels followed a different pattern compared to the other three cytokines. In the blood plasma: The control group exhibited the lowest levels of IL-6, IL-10, and IFN-γ. Regarding IL-10 and INF-γ, the group treated with antiparasitics had the highest values, as observed in brain tissue, while the antiparasitics + cytarabine group displayed the highest IL-6 levels. plasma TGF-β levels were highest in the antiparasitics-only group and lowest in the antiparasitics + dexamethasone group. No statistically significant differences were found among the cytokines in the experimental groups for blood plasma analysis (Figure 3).

Quantitative Real-Time PCR (qPCR) evaluation

The relative expression. Analysis of ncRNAs was performed using the RT-qPCR methodology. This analysis compared the following groups: the control group (CTRL), used as a reference for normality, and the antiparasitic groups (ALB + PZQ), antiparasitics + dexamethasone (TTO + DEXA), andantiparasitics + cytarabine (TTO + CTB). The results obtained are presented in Figure4.

Discussion

The use of *Taenia crassiceps* trains and rats as an experimental model for studying neurocysticercosis and reproducing the disease has proven efficient (Hamamoto Filho et al.,

2015; Willms & Zurabian, 2010). Based on this, several studies utilizing this experimental model have been conducted to better understand the disease and to identify new drugs that could benefit patients by improving treatments (Fogaroli et al., 2019; Generoso et al., 2024; Hamamoto Filho et al., 2019; Milhomem et al., 2018; Oliveira et al., 2024; Sampaio et al., 2020).

The recommended treatment for neurocysticercosis involves antiparasitic drugs such as albendazole and praziquantel, combined with corticosteroids to control neuroinflammation and prevent possible complications resulting from this inflammatory process (Nash et al., 2011; Toledo et al., 2018; White et al., 2018). However, in extraparenchymal neurocysticercosis, a significant portion of patients does not respond satisfactorily to antiparasitic treatment, requiring multiple cycles to eliminate the cysts (Marcin Sierra et al., 2017; Osorio et al., 2019; Toledo et al., 2025). Another crucial factor in the treatment is the use of corticosteroids to control neuroinflammation. Although these drugs are beneficial for controlling inflammation, they may directly influence parasite survival and increase the reproductive efficiency of *Taenia crassiceps*, which is used in experimental model studies (Adalid-Peralta et al., 2017; Romano et al., 2015).

Studies on cytokine profiles in neurocysticercosis, as well as research on new treatments for neuroinflammation that do not affect anthelmintic efficacy, have been carried out using both experimental models and human patients, aiming to improve therapeutic approaches for the disease (Ambrozio, Ferrer & Zepeda-Rodriguez, 2017; Anand et al., 2019; Mehta et al., 2025; Milhomem et al., 2018).

A study by Milhomem et al. (2018) demonstrated increased levels of IL-4 and IL-10 cytokines in the brain tissue of animals infected with *T. crassiceps* compared to the control group. The same study found no differences in INF-γ levels between the groups. Meanwhile, the study by Mehta et al. (2025) observed that human patients infected with *Taenia solium* who responded to anthelmintic treatment had lower IL-6 and IL-10 levels before treatment (T0) compared to post-treatment (T1). Similar to Milhomem et al. (2018) in the experimental model, Mehta et al. (2025) also found no differences in INF-γ and TGF-α levels between the evaluated groups.

Our study, conducted using an experimental model, revealed increased IL-6 and IL-10 cytokine levels in the group treated Only with antiparasiticdrugs, which supports findings from previous research on experimental models (Milhomem et al., 2018) and human studies (Mehta et al., 2025). This further reinforces the human literature stating that neuroinflammation worsens, and certain inflammatory cytokines increase after cyst death (Cárdenas et al., 2014; Carpio et al., 2018).

The use of corticosteroids as a treatment for inflammation leads to the inhibition of cytokines, including IL-6 (Prodjinotho et al., 2020). Our study observed a similar pattern of cytokine reduction in the group treated with antiparasitics combined with dexamethasone, primarily associated with IL-6, supporting the findings of PRODJINOTHO et al. (2020). Cytarabine, which was used in our study to attempt to control neuroinflammation, did not show a significant reduction in cytokines. Additionally, although this drug did not present a statistical

difference compared to the control group or the group treated Only with antihelminthics, it exhibited higher cytokine values *in situ*, which were closer to those of the ALB + PZQ group. These findings indicate that among the evaluated treatments in our study, dexamethasone was the most effective drug for inflammation control. However, the group treated with antiparasitics combined with dexamethasone also showed the highest TGF-β values, suggesting with in our experimental model that the cyst may have benefited from this medication, perpetuating the infection.

Although cytarabine was not effective in reducing inflammatory cytokines in the presente study, it is importante to note that the dose used in our experimental model (25 mg/m²) was lower than the dose recommended in the literature (50 mg/m²) for thetreatment of granulomatous meningoencephalitis in dogs (Dewey & Da Costa, 2016; Menaut et al., 2008; Zarfoss et al., 2006). The dose used in our study was defined based on a pilot study in which the literature dose resulted in a high mortality rate, making its use unfeasible in our experimental model. In the study by ZARFOSS et al. (2006), the authors observed a more significant improvement in patients after cytarabine was combined with prednisone treatment, which was not tested in our study as we aimed to explore a novel therapy approach that does not envolve corticosteroids for inflammation treatment. In addition to the lower dose and the lack of cytarabine-prednisone combination, another importante fator to consider When comparing cytarabine use in dogs with MEG versus our experimental model is the treatment duration. In dogs with MEG, the protocol consists of a cycle of subcutaneous cytarabine administration every 12 hours for two consecutive days, repeated Every three weeks. Our study evaluated a two-week treatment protocol, allowing for Only one cytarabine cycle. However, for ExP-NCC treatment, the anti-inflammatory medication is expected to act quickly to prevent potential damage caused by the inflammatory process, and cytarabine did not meet this criterion in our study.

The maintenance of ventricular dilation is directly linked to local inflammation and mechanical obstruction caused by the persistence of cysts in the cerebrospinal fluid cavities. The treatment of hydrocephalus is based on local inflammation control and cysticercus elimination using antiparasitic drugs or surgical removal. Our study evaluated ventricular volume based on volumetric analysis performed on magnetic resonance images pre- and post-treatment, as well as the volume variation between these two moments. Although no significant diferences were observed between the groups, a volumetric pattern was identified that corroborates ELISA findings, Where the control groupis more similar to the group treated with dexamethasone, and the group treated Only with antiparasitics is more similar to the group treated with cytarabine. In the control and antiparasitic + dexamethasone groups, ventricular volume variation is greater than in the groups receiving Only antiparasitics and antiparasitics + cytarabine. This maybe associated with the maintenance of a continuous inflammatory response and the viability of cysts due to the absence of specific treatment for both inflammation and parasitic infection in the control group, as well as cyst persistence in the dexamethasone group facilitated by corticosteroid use. Corticosteroids cause

immunosuppression and can stimulate the production of TGF-β, which in turn promotes cyst growth and aids parasite maintenance (Adalid-Peralta et al., 2017; Toledo et al., 2018). Our experimental study, despite lacking statistical differences, suggests a correlation with these findings, as the dexamethasone-treated group exhibited the greatest ventricular volume variation and the highest TGF-β values.

Another importante fact that should be considered based on the results presented in our study is the possibility that antiparasitic treatment was not effective in eliminating the parasite cysts. When observing the control group, despite it being closer to the value of the antiparasitic + dexamethasone group, there was no statistical difference between it and the groups that received antiparasitics. This issue may be related to treatment duration, dosage used, or the cysticercus repair mechanism. A study conducted with an experimental rat model Applied treatment with twice the dose of albendazole for the same period of time compared to our study but did not observe a significant difference in the ventricular index calculated based on MRI images (Oliveira et al., 2024). The study by TOLEDO et al. (2025) demonstrated a regenerative potential of Taenia solium in cases of successful treatment, with parasite recurrence in the same location after a few months. In ou rwork, it is not possible to infer that parasite repair occurred since the study by TOLEDO et al. (2025) observed human patients infected with Taenia solium, while our study was conducted using an experimental rat model infected with Taenia crassiceps. Another characteristic that distinguishes our study from TOLEDO et al. (2025) is the absence of MRI scans confirming that the animals were 'free' from infection or follow-up assessments for recurrence.

The presence of the parasite and the tissue damage caused by inflammation or tissue compression due to hydrocephalus can lead to fibrosis formation and extracelular matrix remodeling, increasing the expression. of genes related to these alterations. In a study conducted by Carmen-Orozco et al. (2021) using an experimental P-NCC model in rats inoculated with *Taenia solium*, the expression. of 38 genes was evaluated, including *FN1, Mmp2*, and *Mmp9*. This study found increased *FN1* and *Mmp2* expression in the tissue surrounding the cyst compared to the contralateral tissue and the uninfected tissue of the control group. When comparing contralateral tissue to uninfected tissue, there was also na increase in *FN1* and *Mmp2* gene expression, supporting the presence of tissue damage even in regions not adjacente to the cyst.

In our study, no statistical diferences were found between the groups; however, the highest values for *FN1* and *Mmp9* were observed in the group treated with antiparasitics combined with dexamethasone. This group also showed higher levels of TGF-β and ventricular volume variation. These findings suggest that, despite better local inflammation control, ventricular enlargement and parasite facilitation induced by corticosteroid use may have exacerbated tissue damage. Although the antiparasitic + dexamethasone group exhibited higher TGF-β levels, the gene expression. Values of *TGF-β2* were not different in this group compared to the others.

The *SLAMF5* gene plays a role in lymphocyte activation and the regulation of interleukin production, such as IL-1β, IL-6, IL-10, IL-12, and IL-23 (Agod et al., 2018; Farhangnia et al., 2023; Radomir et al., 2021). A study reported that inhibition of *SLAMF5* expression led to a reduction in IL-6 and TNF-α production induced by lipopolysaccharides (LPS) in boné marrow-derived macrophages of mice (Sintes et al., 2010). Although no statistical diferences were found in *SLAMF5* gene expression in our study, the group treated with dexamethasone showed both the lowest *SLAMF5* values and the lowest IL-6 values, which may corroborate the findings of Sintes et al. (2010).

In our study, the dexamethasone-treated group showed lower IL-6 levels and also lower expression of the *RORC* gene. This gene is important for the regulation and differentiation of Th17 cells, and its expression. is stimulated by IL-6 and TGF-β (Guendisch et al., 2017). In the case of low IL-6 and/or TGF-β levels, reduced *RORC* expression. may impact the immune response by directly interfering with Th17 cell regulation. This decreased expression may have led to a potential impact on Th17 cells and, consequently, on the immune system, contributing to the persistence of Taenia crassiceps cysts in our experimental model.

The study by Cárdenas et al. (2014) showed that in patients responsive to anti-helminthic treatment, there was na over expression. of pro- and anti-inflammatory genes, as well as immunomodulators, directly involved in Th17 cell responses, such as *RORC, RUNX3, SLAMF3,* and *SLAMF6*. Our study did not show statistical diferences between the groups or over expression. of *RORC, RUNX3,* and *SLAMF5* genes. This, together with the absence of statistical diferences between groups in other evaluated parameters (ELISA and volumetry), may suggest that none of the treatments were able to eliminate the cysts.

Conclusion

The use of corticosteroids proved to be na effective option for neuroinflammation treatment in the experimental model, as the group treated with antiparasitics combined with dexamethasone showed the lowest IL-6 and IL-10 values. Cytarabine treatment was not able to reduce neuroinflammation in the presente study, showing a cytokine pattern closer to the group treated only with antihelminthics, but with out statistical diferences compared to the other groups.

None of the groups showed significant results in reducing ventricular volume, which may suggest low efficiency or even a lack of efficacy of the treatment in eliminating cysts and adequately controlling inflammation, there by maintaining reduced cerebrospinal fluid flow and sustaining hydrocephalus.

Based on the results obtained in our study through ELISA, volumetric analysis, and RT-qPCR, it is possible to suggest that although dexamethasone contributes to the reduction of neuroinflammation, it also helps the parasite remain viable and evade the host's immune response in our experimental model.

Despite the findings of this study, further research should be conducted to establish a cytokine pattern in extraparenchymal neurocysticercosis and explore new strategies for

controlling neuroinflammation and combating cysticerci, which may contribute to the treatment of this disease.

References

1. ADALID-PERALTA, Laura *et al.* Effect of Transforming Growth Factor-β upon Taenia solium and Taenia crassiceps Cysticerci. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 12345, 27 set. 2017.

2. AGOD, Zsofia *et al.* Signaling Lymphocyte Activation Molecule Family 5 Enhances Autophagy and Fine-Tunes Cytokine Response in Monocyte-Derived Dendritic Cells via Stabilization of Interferon Regulatory Factor 8. **Frontiers in Immunology**, v. 9, p. 62, 26 jan. 2018.

3. ALMAGHRABI, S. Y. Apigenin ameliorates hypercholesterolemic-induced kidney injury via modulating renal KIM-1, Fn1, and Nrf2 signaling pathways. **European Review for Medical and Pharmacological Sciences**, v. 27, n. 3, p. 1155–1169, fev. 2023.

4. AMBROZIO, Javier R.; FERRER, Araceli; ZEPEDA-RODRIGUEZ, Armando. In vitro Effects of Nitazoxanide on the Morphology of Nascent and Immature Adult Stages of Taenia solium. **Annals of Clinical Pathology**, v. 5, n. 4, p. 1117, 2017.

5. ANAND, Pria *et al.* Steroid-sparing agents for the treatment of inflammation in complicated neurocysticercosis. **Neurology - Neuroimmunology Neuroinflammation**, v. 6, n. 6, p. e606, nov. 2019.

6. BRUTTO, O. H. D. *et al.* Albendazole Therapy for Giant Subarachnoid Cysticerci. **Archives of Neurology**, v. 49, n. 5, p. 535–538, 1 maio 1992.

7. CÁRDENAS, Graciela *et al.* Neurocysticercosis: the effectiveness of the cysticidal treatment could be influenced by the host immunity. **Medical Microbiology and Immunology**, v. 203, n. 6, p. 373–381, dez. 2014.

8. CARMEN-OROZCO, Rogger P. *et al.* Changes in inflammatory gene expression in brain tissue adjacent and distant to a viable cyst in a rat model for neurocysticercosis. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 15, n. 4, p. e0009295, 27 abr. 2021.

9. CARPIO, Arturo *et al.* Neurocysticercosis: the good, the bad, and the missing. **Expert Review of Neurotherapeutics**, v. 18, n. 4, p. 289–301, 3 abr. 2018.

10. DEWEY, Curtis W.; DA COSTA, Ronaldo C. (ORGS.). **Practical guide to canine and feline neurology**. Third edition ed. Chichester, West Sussex ; Hoboken: Wiley-Blackwell, 2016.

11. FARHANGNIA, Pooya *et al.* SLAM-family receptors come of age as a potential molecular target in cancer immunotherapy. **Frontiers in Immunology**, v. 14, p. 1174138, 11 maio 2023.

12. FLEURY, Agnès *et al.* Subarachnoid basal neurocysticercosis: a focus on the most severe form of the disease. **Expert Review of Anti-infective Therapy**, v. 9, n. 1, p. 123–133, jan. 2011.

13. FLEURY, Agnès; SCIUTTO, Edda. Extraparenchymal neurocysticercosis: a challenge in treatment and in clinical management. **Revista del Centro de Investigación de la Universidad la Salle**, v. 13, n. 52, p. 9–18, 27 maio 2020.

14. FOGAROLI, Marcelo *et al.* Effect of Albendazole Treatment in an Experimental Model of Neurocysticercosis-Induced Hydrocephalus. **Arquivos Brasileiros de Neurocirurgia: Brazilian Neurosurgery**, v. 38, n. 01, p. 025–030, mar. 2019.

15. GARCIA, Héctor H. *et al.* A Trial of Antiparasitic Treatment to Reduce the Rate of Seizures Due to Cerebral Cysticercosis. **New England Journal of Medicine**, v. 350, n. 3, p. 249–258, 15 jan. 2004.

16. GARCIA, Hector H.; NASH, Theodore E.; DEL BRUTTO, Oscar H. Clinical symptoms, diagnosis, and treatment of neurocysticercosis. **The Lancet Neurology**, v. 13, n. 12, p. 1202–1215, dez. 2014.

17. GENEROSO, Diego *et al.* Oxidative Stress in the Murine Model of Extraparenchymal Neurocysticercosis. **Microorganisms**, v. 12, n. 9, p. 1860, 8 set. 2024.

18. GUENDISCH, Ulf *et al.* Pharmacological inhibition of RORγt suppresses the Th17 pathway and alleviates arthritis in vivo. **PLOS ONE**, v. 12, n. 11, p. e0188391, 20 nov. 2017.

19. HAMAMOTO FILHO, Pedro Tadao *et al.* Development of an experimental model of neurocysticercosis-induced hydrocephalus. Pilot study. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 30, n. 12, p. 819–823, dez. 2015.

20. HAMAMOTO FILHO, Pedro Tadao *et al.* A Rat Model of Neurocysticercosis-Induced Hydrocephalus: Chronic Progressive Hydrocephalus with Mild Clinical Impairment. **World Neurosurgery**, v. 132, p. e535–e544, dez. 2019.

21. HAMAMOTO FILHO, Pedro Tadao; ZANINI, Marco Antônio; FLEURY, Agnès. Hydrocephalus in Neurocysticercosis: Challenges for Clinical Practice and Basic Research Perspectives. **World Neurosurgery**, v. 126, p. 264–271, jun. 2019.

22. HARRIS, N. G.; JONES, H. C.; WILLIAMS, S. C. R. MR imaging for measurements of ventricles and cerebral cortex in postnatal rats (H-Tx strain) with progressive inherited hydrocephalus. **Experimental Neurology**, v. 118, n. 1, p. 1–6, out. 1992.

23. HUANG, Rong *et al.* Identifying immune cell infiltration and effective diagnostic biomarkers in Crohn's disease by bioinformatics analysis. **Frontiers in Immunology**, v. 14, p. 1162473, 9 ago. 2023.

24. LI, S. *et al.* RUNX3 protects against acute lung injury by inhibiting the JAK2/STAT3 pathway in rats with severe acute pancreatitis. **European Review for Medical and Pharmacological Sciences**, v. 23, n. 12, p. 5382–5391, jun. 2019.

25. LIU, Peihui *et al.* Integrated Network Pharmacology and Experimental Validation Approach to Investigate the Therapeutic Effects of Capsaicin on Lipopolysaccharide-Induced Acute Lung Injury. **Mediators of Inflammation**, v. 2022, p. 1–11, 30 jan. 2022.

26. LIVAK, Kenneth J.; SCHMITTGEN, Thomas D. Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the 2−ΔΔCT Method. **Methods**, v. 25, n. 4, p. 402–408, dez. 2001.

27. MARCIN SIERRA, Mariana *et al.* Extraparenchymal neurocysticercosis: Demographic, clinicoradiological, and inflammatory features. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 11, n. 6, p. e0005646, 9 jun. 2017.

28. MEHTA, Yashvi *et al.* Efficiency of Cysticidal Therapy Impacted by the Host's Immune Response in Neurocysticercosis Patients. **Molecular Neurobiology**, v. 62, n. 2, p. 2203–2211, fev. 2025.

29. MENAUT, P. *et al.* Treatment of 11 dogs with meningoencephalomyelitis of unknown origin with a combination of prednisolone and cytosine arabinoside. **Veterinary Record**, v. 162, n. 8, p. 241–245, fev. 2008.

30. MILHOMEM, Anália Cirqueira *et al.* Histopathologic aspects of experimental cysticercosis and in situ cytokines profile in C57BL/6 mice. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, v. 76, n. 5, p. 339–345, maio 2018.

31. MOHAMMAD MALYAR, Rahmani *et al.* Zinc-enriched probiotics enhanced growth performance, antioxidant status, immune function, gene expression, and morphological characteristics of Wistar rats raised under high ambient temperature. **3 Biotech**, v. 9, n. 8, p. 291, ago. 2019.

32. NASH, Theodore E. *et al.* Corticosteroid use in neurocysticercosis. **Expert Review of Neurotherapeutics**, v. 11, n. 8, p. 1175–1183, ago. 2011.

33. OLIVEIRA, Vinícius Tadeu *et al.* Murine Extraparenchymal Neurocysticercosis: Appropriate Model for Evaluating Anthelminthic and Anti-Inflammatory Treatment Schedules. **Tropical Medicine and Infectious Disease**, v. 9, n. 9, p. 215, 16 set. 2024.

34. OSORIO, Rocio *et al.* Factors Associated With Cysticidal Treatment Response in Extraparenchymal Neurocysticercosis. **The Journal of Clinical Pharmacology**, v. 59, n. 4, p. 548–556, abr. 2019.

35. PRODJINOTHO, Ulrich Fabien *et al.* Host immune responses during Taenia solium Neurocysticercosis infection and treatment. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 14, n. 4, p. e0008005, 16 abr. 2020.

36. RADOMIR, Lihi *et al.* The survival and function of IL-10-producing regulatory B cells are negatively controlled by SLAMF5. **Nature Communications**, v. 12, n. 1, p. 1893, 25 mar. 2021.

37. ROMANO, Marta C. *et al.* Parasites and steroid hormones: corticosteroid and sex steroid synthesis, their role in the parasite physiology and development. **Frontiers in Neuroscience**, v. 9, 30 jun. 2015.

38. SAMPAIO, Guilherme A. *et al.* Histopathologic evaluation of experimental murine neurocysticercosis after treatment with albendazole/nitazoxanide combination. **Parasitology**, v. 147, n. 7, p. 822–827, jun. 2020.

39. SINTES, Jordi *et al.* Mouse CD84 is a *pan* -leukocyte cell-surface molecule that modulates LPS-induced cytokine secretion by macrophages. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 88, n. 4, p. 687–697, 13 jul. 2010.

40. SUGIYAMA, Yuki *et al.* Capsaicin attenuates TGFβ2-induced epithelial-mesenchymal-transition in lens epithelial cells in vivo and in vitro. **Experimental Eye Research**, v. 213, p. 108840, dez. 2021.

41. TOLEDO, Andrea *et al.* Human Extraparenchymal Neurocysticercosis: The Control of Inflammation Favors the Host…but Also the Parasite. **Frontiers in Immunology**, v. 9, p. 2652, 16 nov. 2018.

42. TOLEDO, Andrea *et al.* Repair capacity of Taenia solium extraparenchymal cysts: radiological and in vitro evidence. **Future Microbiology**, v. 20, n. 5, p. 383–389, 24 mar. 2025.

43. UNTERGASSER, Andreas *et al.* Primer3—new capabilities and interfaces. **Nucleic Acids Research**, v. 40, n. 15, p. e115–e115, ago. 2012.

44. WHITE, A. Clinton *et al.* Diagnosis and Treatment of Neurocysticercosis: 2017 Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society of Tropical Medicine and Hygiene (ASTMH). **Clinical Infectious Diseases**, v. 66, n. 8, p. e49–e75, 3 abr. 2018.

45. WILLMS, Kaethe; ZURABIAN, Rimma. *Taenia crassiceps* : *in vivo* and *in vitro* models. **Parasitology**, v. 137, n. 3, p. 335–346, mar. 2010.

46. YANG, Ling *et al.* A comprehensive analysis of biomarkers associated with synovitis and chondrocyte apoptosis in osteoarthritis. **Frontiers in Immunology**, v. 14, p. 1149686, 21 jul. 2023.

47. YUSHKEVICH, Paul A. *et al.* User-guided 3D active contour segmentation of anatomical structures: Significantly improved efficiency and reliability. **NeuroImage**, v. 31, n. 3, p. 1116–1128, jul. 2006.

48. ZARFOSS, M. *et al.* Combined cytosine arabinoside and prednisone therapy for meningoencephalitis of unknown aetiology in 10 dogs. **Journal of Small Animal Practice**, v. 47, n. 10, p. 588–595, out. 2006.

49. ZHANG, Jing *et al.* Maternal Perinatal Exposure to Dibutyl Phthalate Promotes Ovarian Dysfunction in Adult Female Offspring via Downregulation of TGF-β2 and TGF-β3. **Reproductive Sciences**, v. 29, n. 8, p. 2401–2413, ago. 2022.

Figures

Gene	Forward (5′ - 3′)	Reverse (5′ - 3′)	Amplicon (bp)*	Referências
Col1a1	TGACTGGAAGAGCGGAGAGT	GATAGCGACATCGGCAGGAT	250	SUGIYAMA et al., 2021
Cxcl2	TCCTCAATGCTGTACTGGTCC	ATGTTCTTCCTTCCCAGGTC	299	LIU et al., 2022
Gapdh	TCAAGAAGGTGGTGAAGCAG	AGGTGGAAGAATGGGAGTTG	111	ALMAGHRABI, 2023
Fibronectin	CTCGCTTTGACTTCACCACCA	TCTCCTTCCTCGCTCAGTTCGTACT	202	ALMAGHRABI, 2023
Ilf2 (NF45)	GCCCGCTGGTTTGAAGAAAA	AGGTCAAGGATCCAGGGTGT	119	UNTERGASSER et al., 2012*
Mmp2	GCCCAGAGACTGCTATGTCC	GCTGGTGCAGCTCTCATACT	101	HUANG et al., 2023
Mmp9	GGTCCCCCTACTGCTGGTCCT	CGAGAACTTCCAATACCGACC	147	YANG et al., 2023
Rorc	GCTGCAAAGAAGACCCACAC	GTGCAGGAGTAGGCCACATT	155	UNTERGASSER et al., 2012*
Runx3	GCAACGCTTCCGCTGTCA	GGCTTTGGTCTGGTCCTCTATC	215	LI et al., 2019
Tgfb2	TGCTGTACCTTCATACCGTCT	GGCAACAACATTAGCAGGAGA	179	ZHANG et al., 2022
Slamf5 (CD84)	TTCTGACTCCGTCACTGTGC	CCAGGACAATCCTACCTCTCC	167	UNTERGASSER et al., 2012*
Actb	CACGGCATTGTCACCAACTG	AACACAGCCTGGATGGCTAC	203	MOHAMMAD MALYAR et al., 2019

bp = base pair; *Primers designed using the online software Primer3. (https://www.primer3plus.com/).

Table1. Sequences of the oligonucleotide primers used in Real-Time PCR

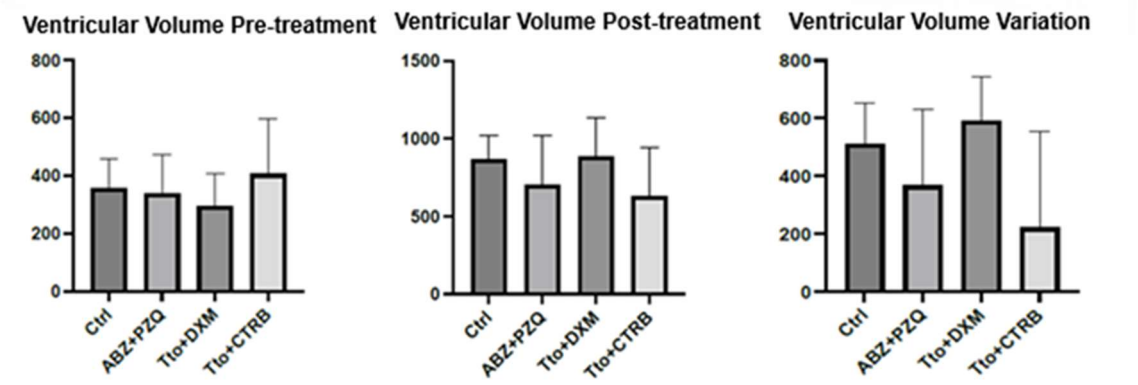


Figure 1. Values of ventricular volumes before and after treatment and ventricular variation. There were no statistically significant diferences between the groups.

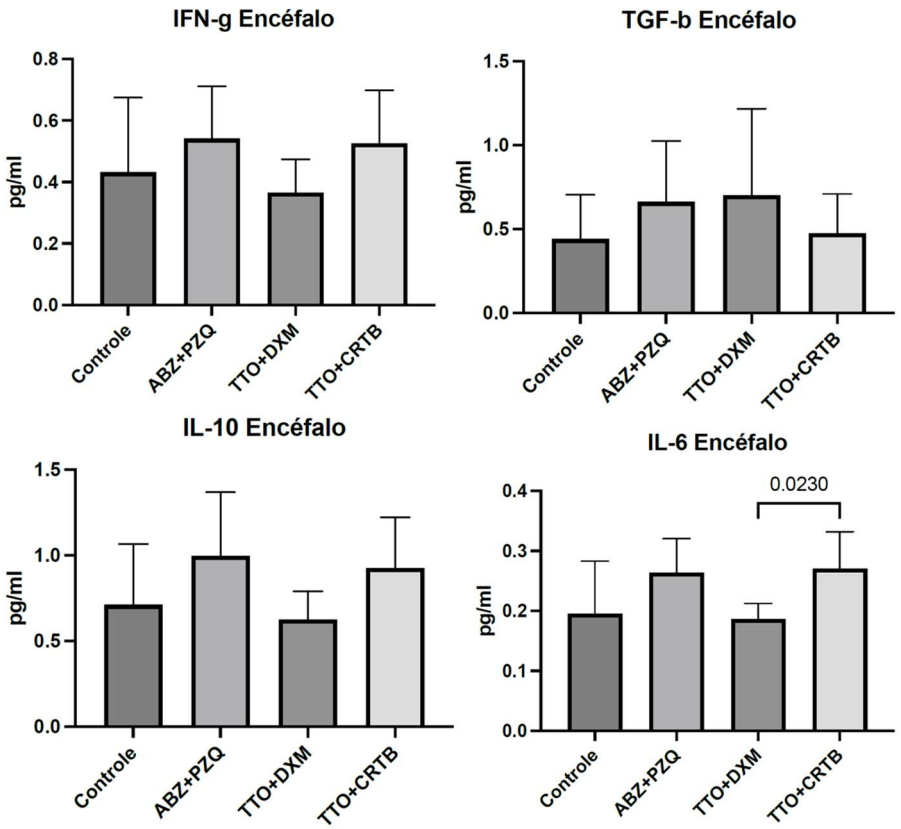


Figura2. Cytokin dosage *in situ* for each experimental group. Dexametasone group presented significant diference to the Cytarabine group in IL-6 (p=0,023).

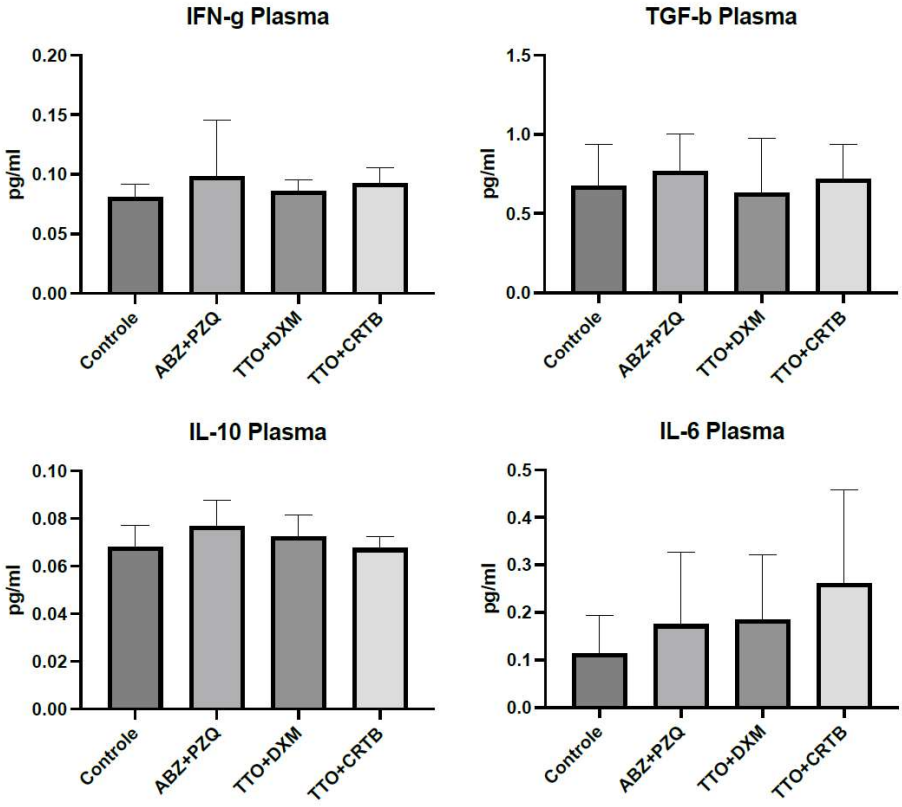


Figura3. Cytokin dosage in plasma for each experimental group. There were no statistically significant differences between the groups.

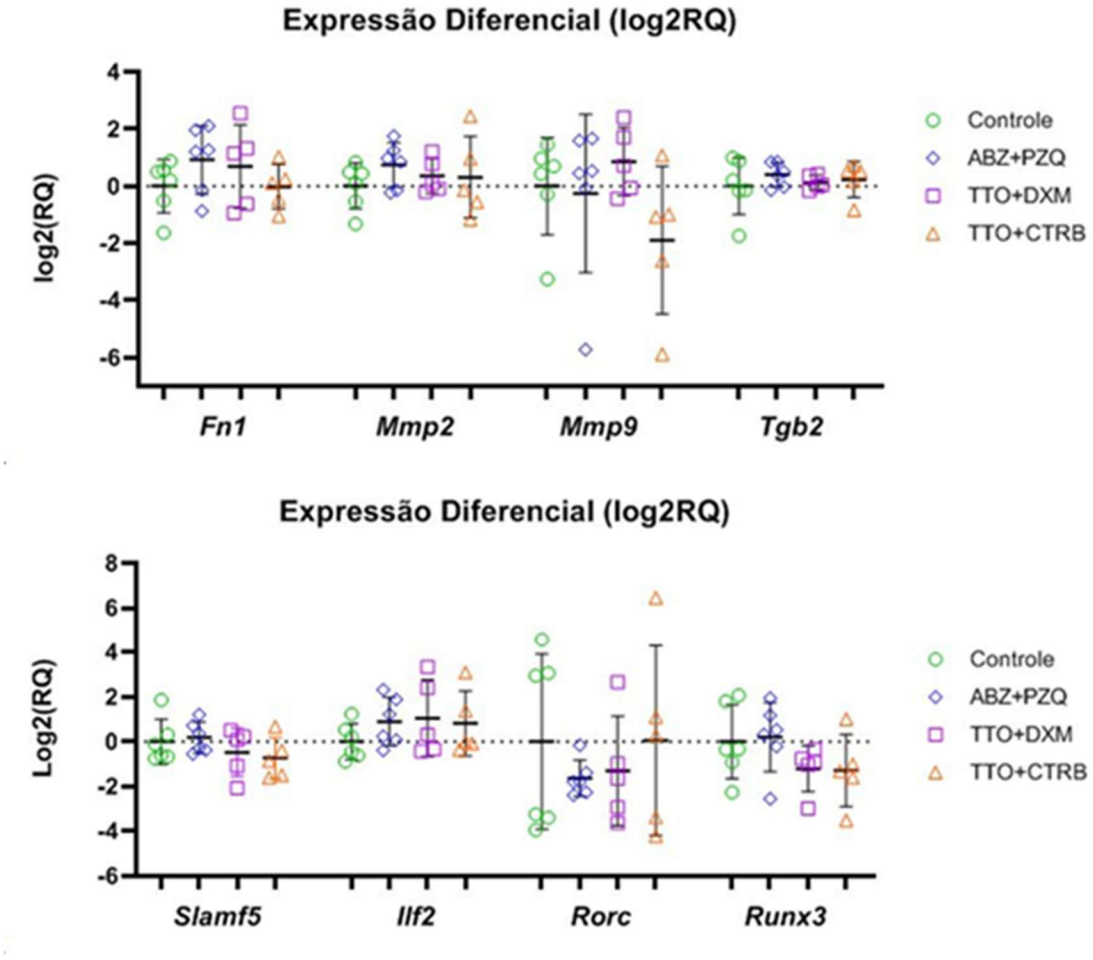


Figure 4. Quantification of gene expression of FN1, Mmp2, Mmp9, Tgb2, Slamf5, Ilf2, Rorc, and Runx3 in each experimental group. There was no statistical difference between the groups.

10. COMPROVANTE DE APROVAÇÃO DO PROJETO DE PESQUISA NO CEUA

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CÂMPUS DE BOTUCATU
FACULDADE DE MEDICINA

unesp

FMB

CEUA

Ética

Comissão de Ética no Uso de Animais
Criada através da Portaria UNESP nº 511 de 13/12/2012

CERTIFICADO Nº 1377/2021 – CEUA

Certificamos que o projeto intitulado: **"USO DA COMBINAÇÃO DE ALBENDAZOL E PRAZIQUANTEL DE FORMA ISOLADA OU EM ASSOCIAÇÃO COM AGENTES IMUNOSSUPRESSORES PARA O TRATAMENTO DE NEUROCISTICERCOSE EM RATOS"**, conduzido pelo Pesquisador: **Renato Tavares Conceição** – Orientador: Prof. Dr. Marco Antonio Zanini Co-Orientador: Dr. Pedro Tadao Hamamoto Filho- registrado com o **nº 1377/2021**, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica – encontra-se de acordo com os preceitos da lei n. 11.794, de 08 de outubro de 2008, ao Decreto n. 6.899, de 15 de julho de 2009, com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi APROVADA pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina de Botucatu, em reunião ordinária de 24 de fevereiro de 2021.

Finalidade	( ) Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	24 de fevereiro de 2023
Espécie/Linhagem/Raça	Rato Wistar
Nº Total de animais	44
Idade/Peso	Adultos – 150gramas
Sexo	Machos

Sara Rosa Stanley Sampaio
Secretária da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina de Botucatu/UNESP

Profa. Assistente Carla Adriene Frandi
Vice-presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina de Botucatu/UNESP

Distrito Rubião Júnior, s/nº - Botucatu – SP. CEP: 18.618-970 Fones: (14) 3880.18.80 – E-mail Secretaria: ceua@fmb.unesp.br