



ANÁLISE DE MUCINAS NEUTRAS NO CÓLON DE CAMUNDONGOS CHAGÁSICOS TRATADOS POR ÁCIDO ACETILSALICÍLICO

Gabriella Letícia Bonone (PIBIC/CNPq), Luiza Arioti Maia (PIBIC/CNPq);
Cristina Lorena Massocatto; Débora de Mello Gonçalves Sant'Ana
(Orientadora), e-mail: gabrielabonone@gmail.com.

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas.
Área e subárea do conhecimento: Ciências Biológicas / Morfologia
Palavras-chave: células caliciformes; doença de chagas; aspirina.

Resumo: O objetivo desta pesquisa foi investigar se o uso de ácido acetilsalicílico (Aspirina®) na fase aguda da doença influencia na quantidade de mucinas do cólon proximal de camundongos chagásicos na fase crônica, e para tal análise foram utilizados camundongos (*Mus musculus*) Swiss, machos, de 60 dias de idade, distribuídos aleatoriamente em quatro grupos, Controle não infectado tratado com PBS (GC), Grupo Controle não infectado tratado com AAS (GCA), Grupo Infectado tratado com PBS (GI) e Grupo Infectado tratado AAS (GIA). Após 75 dias de infecção esses animais foram submetidos a eutanásia e o cólon proximal coletado para análise. Posteriormente foram realizadas técnicas histológicas de ácido periódico de Schiff (PAS), para avaliação de mucinas neutras e sialomucinas lábeis. Como resultado foi verificada diminuição significativa nas células caliciformes neutras do GC se comparado ao GIA entre o GC e GIA se comparados aos GCA e GI. Por fim, podemos concluir que ocorrem diferentes respostas dos diversos componentes da mucosa intestinal à infecção pelo parasito e ao uso do tratamento com AAS.

Introdução

A forma digestiva da Doença de Chagas (DC) apresenta alterações principalmente no esôfago e/ ou cólon, tendo como resultado a formação de megaesôfago e megacólon (REZENDE, 1996). Dentre as células que podem ser alteradas devido a alguma infecção por parasitos estão as caliciformes, células produtoras de mucinas, que variam em número ao longo dos diferentes segmentos do intestino, aumentando à medida que se progride em direção aos segmentos mais caudais onde ocupam, praticamente, toda a





extensão das glândulas (MELLO et al., 2012). Modificações na população de células caliciformes ao comparar-se os diferentes segmentos cólicos, encontram-se relacionadas às distintas funções fisiológicas exercidas pela mucosa de cada porção intestinal.

Dentro destes pressupostos este trabalho objetivou avaliar o efeito da utilização de Ácido Acetilsalicílico na DCA sobre as células caliciformes no cólon de camundongos chagásicos crônicos.

Materiais e métodos

Os procedimentos experimentais executados neste estudo foram previamente aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Londrina sob o protocolo 7371.2012.56 e na Universidade Estadual de Maringá sob o protocolo 057/2013.

Foram utilizados camundongos (*Mus musculus*) Swiss, machos, de 60 dias de idade, provenientes do biotério da Universidade Estadual de Londrina (UEL). Os animais foram distribuídos aleatoriamente em quatro grupos: Grupo Controle tratado com PBS (GC): animais não infectados com *T. cruzi* e tratados com PBS; Grupo Controle tratado com Aspirina (GCA): animais não infectados com *T. cruzi* e tratados com Ácido acetilsalicílico (AAS); Grupo Infectado tratado com PBS (GI): animais que foram infectados com *T. cruzi* e tratados com PBS; Grupo Infectado tratado com Ácido acetilsalicílico (GIA): animais que foram infectados com *T. cruzi* e tratados com ácido acetilsalicílico (AAS).

Os camundongos infectados receberam 1.300 formas tripomastigotas sanguíneas (cepa Y, laboratório de parasitologia básica, UEM) de *T. cruzi*, por via intraperitoneal. Para a indução a fase crônica, foram administradas seis doses de 100 mg/Kg/peso de benznidazol aos 11^o, 13^o, 15^o, 25^o, 29^o e 48^o dias após a infecção (dpi), via oral-gavagem.

O AAS (Sigma-Aldrich[®]) utilizado para realização dos tratamentos foi dissolvida em DMSO e a seguir diluída em PBS (pH 7,2) na concentração final de 1000 (g/mL). Os camundongos dos grupos GCA e GIA receberam doses diárias de 20 mg/Kg do 5^o ao 11^o dia após a infecção.

Todos os animais foram submetidos à eutanásia por aprofundamento anestésico com vapor de halotano (Tanohalo[®]) aos 135 dias de idade, o que correspondeu aos 75 dias após a infecção (dpi) para os grupos infectados. Após 12 horas de fixação os tecidos foram desidratados em álcool com concentrações crescentes de 70% à 100%, diafanizados com xilol e embebidos em parafina. Secções das amostras em parafina foram cortadas em 4 µm e montadas em lâminas. De cada animal foi obtido quatro cortes





transversais, totalizando 20 cortes por grupo, corados com Periodic Acid Schiff (PAS).

Foram contadas 2.500 células do epitélio da túnica mucosa de cada animal, em microscópio óptico e aumento de 1.000x, diferenciando-as em células caliciformes e enterócitos. Posteriormente, calculou-se a proporção de células caliciformes em 100 células epiteliais. Os dados foram analisados estatisticamente à medida em que foram sendo obtidos. Os testes foram definidos de acordo com a distribuição de dados pelo teste D'Agostino. Dados com distribuição normal foram aplicados ao teste ANOVA – Teste t de student, sendo expressos como média e desvio padrão. Em todos os testes foi considerado um nível de significância de 5%.

Resultados e Discussão

Embora não tenha apresentado diferença significativa, a infecção por *T. cruzi* (grupo GI) e o tratamento com o anti-inflamatórios não esteroidais (GCA) apresentaram tendência em diminuir a proporção de células caliciformes em relação aos enterócitos quando comparados ao grupo controle (GC). Ao expor os animais as duas variáveis, infecção e tratamento com Ácido acetilsalicílico, observou-se diminuição em 22,35% na proporção das células em estudo (Tabela 01).

Tabela 01. Proporção de células caliciformes/100 células epiteliais da túnica mucosa do cólon de camundongos Swiss, machos, com 135 dias de idade.

Grupo	Células caliciformes
	PAS
GC	3,58 ^a ± 0,89
GCA	2,83 ± 1,04
GI	2,84 ± 0,49
GIA	2,78 ^a ± 0,32

PAS: Periodic Acid Schiff; HE: Hemotoxilina-Eosina. Médias seguidas de letras iguais em uma mesma coluna apresentam diferença estatisticamente significativa ($p < 0.05$).

Verificou-se uma tendência em reduzir o número de células caliciformes no cólon proximal do grupo tratado com Ácido acetilsalicílico (GCA) e infectado por *T. cruzi* (GI). Nos animais infectados e tratados com Ácido acetilsalicílico (grupo GIA), as células que secretam mucinas neutras diminuíram em 22,35% em relação ao grupo controle (GC) ($p < 0,05$). Diversas doenças que acometem o cólon têm apresentado anormalidades na secreção, composição e padrão de distribuição das mucinas nas criptas intestinais





(JUNQUEIRA, 2008). De acordo com a literatura, existe redução no número de células caliciformes nos segmentos do colón desprovidos de trânsito intestinal (MELLO et al., 2012). Em estudos com animais sedentários e treinados infectados por *T. cruzi* foi possível verificar também a diminuição de células caliciformes PAS no grupo treinado infectado e não infectado (MOREIRA et al., 2013). Assim, a redução na proporção de células caliciformes encontradas no presente estudo pode indicar a presença ou futura alteração na motilidade colônica destes animais.

Conclusões

Pela primeira vez na literatura foi possível observar que o tratamento com Ácido acetilsalicílico impediu a redução das células caliciformes PAS positivas causadas pela doença de Chagas.

Agradecimentos

Ao CNPq pela bolsa de Iniciação Científica.

Referências

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 11 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

MELLO, R.O.; DA SILVA, C.M.G., FONTE, F.P., SILVA, D.L.F., PEREIRA, J.A., MARGARIDO, N.F., MARTINEZ, CAR. J.A. Avaliação do número de células caliciformes nas criptas da mucosa colônica com e sem trânsito intestinal. **Rev. Col. Bras. Cir.** 39, 2012.

MOREIRA, N. M; SANTOS, F. N; TOLEDO, M. J. O; MORAES, S. M. F; SANT'ANA, D.M. G; ARAUJO, S. M. Moderate physical exercise reduces parasitaemia and protects colonic myenteric neurons in mice infected with *Trypanosoma cruzi*. **Int. J. Exp. Path.** 94, 426–435, 2013.

REZENDE J.M. **Manifestações digestivas da doença de Chagas**. In: Dani R, Castro LP, eds. **Gastroenterologia clínica**. 3ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996:1729–55.

