



ESTUDO MORFOLÓGICO DA PAREDE INTESTINAL DE HAMSTERS INFECTADAS COM *Leishmania (Viannia) braziliensis*

Maiara Riteli Santiago Roberti (PIBIC/FA), Amanda Gubert Alves dos Santos, Andrea Claudia Beckner Silva Fernandes, Thaís Gomes Verzignassi Silveira, Débora de Mello Gonçalves Sant'Ana, Gessilda de Alcântara Nogueira de Melo (Orientador), e-mail: gessilda.melo@gmail.com.

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas e da Saúde/Maringá, PR.

CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - PARASITOLOGIA

Palavras-chave: leishmaniose, linfócitos intraepiteliais, intestino

Resumo:

Pouco se conhece sobre os efeitos da infecção pelos protozoários causadores da Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) sobre o intestino de roedores, e este foi o objetivo do presente estudo. Foi calculada a proporção de linfócitos intraepiteliais/100 células epiteliais do íleo de hamsters infectadas por *Leishmania (Viannia) braziliensis* 60, 90 e 120 dias após a inoculação. Foram realizadas também a análise morfométrica da parede intestinal dos animais e a identificação de focos inflamatórios. Houve um aumento significativo da proporção de linfócitos intraepiteliais nos grupos infectados por 90 e 120 dias. Os resultados mostraram alteração significativa na espessura da parede total e na profundidade das criptas. Também foram encontrados focos inflamatórios nos cortes histológicos dos animais infectados. Pode-se concluir que a infecção por *L. (V.) braziliensis* causa alterações importantes no íleo dos animais nos tempos de infecção estudados.

Introdução

Leishmanioses são doenças infecto-parasitárias que acometem o homem. São causadas por espécies de protozoários do gênero *Leishmania*. Estes parasitos vivem alternadamente em hospedeiros vertebrados e insetos





vetores, os flebotomíneos, estes últimos sendo responsáveis pela sua transmissão (GONTIJO e CARVALHO, 2003). Pouco se conhece sobre os efeitos da infecção pelos protozoários causadores da LTA sobre o intestino de roedores. Diante da carência de estudos este trabalho teve como propósito avaliar as possíveis alterações morfométricas na parede intestinal, e quantificar os linfócitos intraepiteliais do íleo de hamsters infectadas por *Leishmania (V) braziliensis*.

Materiais e métodos

Foram utilizadas hamsters douradas (*Mesocricetus auratus*), fêmeas (12 semanas de idade), obtidas do biotério central da Universidade Estadual de Maringá. Os animais foram divididos em grupos controles (C60, C90 e C120) e infectados (LVB60, LVB90, LVB120), sendo 4 animais por grupo. A infecção foi realizada pela injeção de 50 μ L de uma suspensão contendo 2 x 10⁷ promastigotas de *L. (V.) braziliensis* no dorso da pata traseira em dose única. Sessenta, noventa e cento e vinte dias após a inoculação, os animais foram submetidos à eutanásia e o íleo coletado. Posteriormente obteve-se cortes transversais semi-seriados de 5 μ m, que foram corados pela técnica histológica de hematoxilina-eosina (HE). Foram contadas 2500 células do epitélio da túnica mucosa de cada animal e os linfócitos intraepiteliais (LIE) presentes entre estas células, e, foi calculada a proporção de LIE/100 células epiteliais. A análise morfométrica da parede intestinal foi realizada a partir de imagens de cortes corados com HE capturadas por uma câmera digital (Moticam 2000, 2.0 Megapixel) acoplada a um microscópio de luz trinocular (MOTIC B5). Nas imagens capturadas foram medidas espessura da parede total e a profundidade de cripta. Além disso, foi avaliada a presença de focos inflamatórios. Os dados foram apresentados como média \pm erro padrão da média (EPM) e foram considerados significativos valores de p menores que 0,05.

Resultados e Discussão

Nossos resultados demonstraram a presença de focos inflamatórios nos cortes histológicos do íleo de animais infectados por LVB, demonstrando a ocorrência de um processo inflamatório.



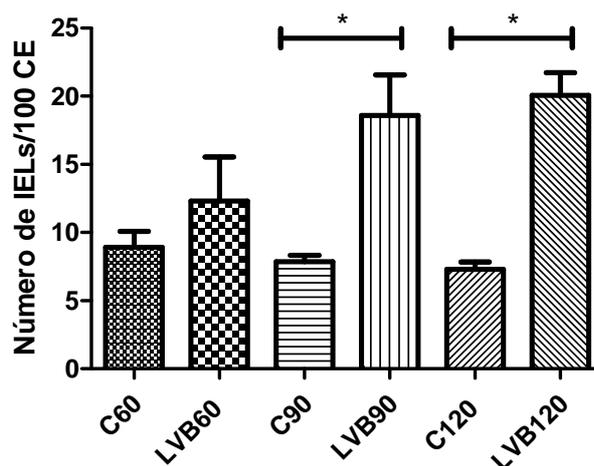


Figura 1 – Número de linfócitos intraepiteliais em 100 células epiteliais do íleo de hamsters controles (C) e infectadas com *Leishmania (V) braziliensis* (LVB) por 60, 90 ou 120 dias. Os valores são referentes às médias \pm EPM, * $p < 0,05$.

Essa inflamação pode resultar em uma ativação e atração de linfócitos para o epitélio como uma defesa do intestino (KASPER e GATEL, 2001), o que poderia explicar o aumento significativo no número de linfócitos intraepiteliais encontrado quando comparados os grupos infectados por 90 e 120 dias com seus respectivos controles (Figura 1).

Tabela 1 – Espessura da parede total e profundidade das criptas do íleo de hamsters infectadas com *Leishmania (V) braziliensis* por 60, 90 e 120 dias.

	Parede Total (μm)	Profundidade de Cripta (μm)
C 60	520,7 \pm 10,65 ^a	282,2 \pm 5,472 ^a
LVB 60	483,1 \pm 10,64 ^b	284,1 \pm 4,725 ^a
C 90	492,2 \pm 13,30 ^a	277,2 \pm 5,066 ^a
LVB 90	620,2 \pm 13,81 ^b	306,9 \pm 5,792 ^b
C 120	470,4 \pm 10,33 ^a	258,1 \pm 4,796 ^a
LVB 120	536,9 \pm 8,278 ^b	288,7 \pm 4,551 ^b

Médias \pm EPM seguidos por diferentes letras na mesma coluna, dentro de cada tempo, apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$) pelo teste t. LVB – (*Leishmania Viannia braziliensis*); C – Controle.

A inflamação no intestino está associada com um aumento na proliferação de células epiteliais que ocorre nas criptas intestinais (FINDLY et al., 1993). Em nossos experimentos foi observado o aumento da profundidade das criptas dos animais com 90 e 120 dias de infecção (Tabela 1). Além disso, a





inflamação altera a homeostase intestinal, pois interfere em vários tipos celulares, podendo aumentar a interação com citocinas, e a ação dessas podem modificar o metabolismo das células da parede intestinal, tornando-as hiper ou hipotrofiadas (MAWE et al., 2014). No presente estudo, a espessura da parede total apresentou diferença significativa nos três tempos analisados com diminuição aos 60 dias e aumento aos 90 e 120 dias.

Conclusões

Podemos concluir que a espécie *L. (V.) braziliensis* causa alterações importantes no íleo dos animais em 60, 90 e 120 dias de infecção, e com isso, podemos afirmar que são necessários mais estudos envolvendo *Leishmania* e o trato gastrointestinal.

Agradecimentos

À Fundação Araucária, à minha professora orientadora Gessilda de Alcântara Nogueira de Melo, por toda dedicação e apoio e à mestranda Amanda Gubert Alves dos Santos, por todo auxílio durante a execução deste estudo.

Referências

- FINDLY, R. C.; ROBERTS, S. J.; HAYDAY, A. C. **Dynamic response of murine gut intraepithelial T cells after infection by the coccidian parasite *Eimeria*.** *European Journal of Immunology*, v. 23, n. 10, p. 57-64, Oct. 1993.
- GONTIJO, B.; CARVALHO, M.L.R. **Leishmaniose tegumentar americana.** *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 36, n. 1, p. 71-80, 2003.
- KASPER, H. L.; GATEL, B. D. **Ups and Downs of Mucosal Cellular Immunity against Protozoan Parasites.** *Infection and Immunity*, v. 69, n.1, p. 1-8, Jan. 2001.
- MAWE, M. G.; COLLINS, M. S.; DONOHUE, S. T. **Changes in enteric neural circuitry and smooth muscle in the inflamed and infected gut.** *Neurogastroenterology & Motility*, v.16, n, 1, p. 133-136, April 2014.

