

AÇÃO DO *TOXOPLASMA GONDII* SOBRE O INTESTINO DE RATOS NA FASE AGUDA DA INFECÇÃO

Mariana Buranelo (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Aline Rosa Trevisan (participante)
Débora de Mello Gonçalves Sant'Ana (Orientador), e-mail:
dmgsantana@gmail.com.

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas /Maringá,
PR.

Área do conhecimento: Ciências Biológicas

Subárea: Morfologia

Palavras-chave: Duodeno, mucosa intestinal, toxoplasmose.

Resumo: O *Toxoplasma gondii* precisa atravessar a barreira intestinal, invadindo células epiteliais, para alcançar a parede intestinal e se disseminar pelo organismo. Objetivamos analisar a morfometria da parede intestinal total, criptas e vilos do duodeno de ratos na fase aguda da infecção oral pelo *T. gondii*. Os ratos foram distribuídos em: grupo infectado (G7d) e controle não infectado (GC) (n=8). O G7d foi inoculado por via oral com 5000 oocistos de *T. gondii* esporulados e foram submetidos à eutanásia 7 dias após infecção. Os duodenos foram incluídos em parafina para obtenção de cortes transversais semi-seriados de 4µm que, foram corados com hematoxilina e eosina (HE). Imagens dos cortes foram capturadas em objetiva de 4x e 10x. Por meio do software de análise de imagens Image Pro Plus foram obtidas 16 medidas por animal, para cada parâmetro da parede intestinal avaliado. Todas as análises foram feitas de forma cega. A análise estatística foi realizada no programa Bioestat 5.3. Houve diminuição da espessura da parede total do intestino no grupo infectado. Quanto à mensuração da profundidade da cripta foi observado diminuição significativa no G7d, já quando mensurado a largura, foi observado aumento quando comparado ao GC. Os vilos do G7d apresentaram altura maior quando comparado ao GC, não sendo observado diferença morfométrica na largura. A infecção aguda por *T. gondii* causa alterações morfométricas em parede intestinal total, criptas e vilos do duodeno de ratos.

Introdução

A toxoplasmose é uma doença causada pelo parasito intracelular obrigatório *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*), sendo considerada uma zoonose de relevância em saúde pública no mundo, alcançando tanto o homem, bem como animais domésticos e selvagens (DUBEY, 1995). A infecção pelo *T. gondii* pode ocorrer pela ingestão de água e alimentos contaminados por oocistos; de carne crua ou mal-cozida, contendo cistos teciduais ou transmissão de taquizoítos por via transplacentária ou congênita (WEISS &

KIM, 2007). Quando os oocistos alcançam o trato gastrointestinal, ocorre a liberação dos esporozoítos que por sua vez se transformam em taquizoítos, sendo os últimos a forma proliferativa que atravessa a barreira intestinal para atingir outros órgãos. (DUBEY, 1995). O parasito dissemina-se pelo organismo, por meio da transposição da barreira intestinal iniciada no duodeno, causando desta forma, um estado de alerta na mucosa intestinal, marcado pela migração de linfócitos como parte dos mecanismos de resposta inflamatória local (BUZONI-GATEL & WERTS, 2006).

Assim, a investigação quanto às alterações na estrutura do duodeno na fase aguda da infecção, nos proporcionará compreender os possíveis mecanismos da patogenia quanto a evolução dos acontecimentos que desencadeiam a doença.

Materiais e métodos

Todo o protocolo experimental foi previamente aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Estadual de Maringá, sob parecer de aprovação nº 079/2013.

Para realização dessa pesquisa foram utilizados 64 ratos Wistar (*Rattus norvegicus*) com 60 dias de idade pesando em média $272,77 \pm 10,9g$ provenientes do Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá. Aos 28 dias de idade todos os animais receberam tratamento antiparasitário por via oral. A partir dos 50 dias de idade esses ratos foram distribuídos aleatoriamente em grupo controle (GC) e em grupo inoculado por *T. gondii* e mantidos por 7 dias (G7d) (n=8). Cada rato dos grupos infectados recebeu por via oral 5000 oocistos de *T. gondii* esporulados (cepa ME-49, genótipo II). Os oocistos foram obtidos do Laboratório de Parasitologia Veterinária da Universidade Estadual de Londrina. Após os períodos experimentais, os ratos foram submetidos à eutanásia e o duodeno foi retirado. Foram coletados anéis de dois centímetros que foram fixados em Bouin por 6 horas. Inicialmente os duodenos foram incluídos em parafina para obtenção de cortes transversais semi-seriados de 4µm. Esses cortes passaram por baterias de desparafinização, hidratação e foram corados com hematoxilina e eosina (HE). Imagens dos cortes foram capturadas por intermédio de uma câmera digital (Pro series 3CCD câmera) acoplada a um microscópio óptico (Olympus BX50). As imagens obtidas em objetiva de 4x foram utilizadas para medir a largura e a altura dos vilos e das criptas, bem como espessura total da parede, tendo como base o início da túnica muscular até a base do vilos. Imagens na objetiva de 10x foram utilizadas para a mensuração da tela submucosa e da túnica muscular. Por meio do software de análise de imagens Image Pro Plus (Media Cybernetics) foram obtidas 16 medidas por animal, para cada parâmetro da parede intestinal avaliado. Todas as análises foram feitas de forma cega.

A análise estatística foi realizada no programa Bioestat 5.3.

Resultados e Discussão

Quanto a avaliação da morfometria da parede intestinal, foi verificado atrofia no G7d, quando comparados com o GC ($p < 0,05$).

Quanto a mensuração da profundidade da cripta foi observado diminuição significativa no G7d, já quando mensurado a largura, foi observado aumento quando comparado ao GC ($p < 0,05$). Quanto a mensuração da altura dos vilos do grupo infectado em comparação ao GC, foi observado aumento significativo ($p < 0,05$). No entanto, quanto a largura, não se pode observar aumento significativo no G7d quando comparado ao GC ($p < 0,05$) (Figura 1).

A diminuição da espessura da parede total intestinal dos animais infectados, possivelmente ocorreu em decorrência do processo inflamatório induzido pela infecção. Sabe-se que durante uma inflamação as células da parede intestinal aumentam sua interação com as do sistema imune e sua exposição às citocinas, o que pode alterar seu metabolismo deixando-as hiper ou hipotróficas (BONAPAZ *et al.*, 2010) com consequente modificação nas funções do órgão. Redução da espessura da parede intestinal também foi encontrada no duodeno (BONAPAZ *et al.*, 2010) de frangos infectados pelo *T. gondii* (cepa M7741) por 60 dias.

Foi observado aumento na altura dos vilos, que pode indicar uma elevação na superfície de contato do epitélio com a luz intestinal como mecanismo de proteção. A diminuição da largura das criptas e as alterações morfométricas quanto a diminuição de sua profundidade pode ser explicada pela possível necessidade de reequilíbrio do epitélio intestinal que pode ter sido lesado durante a transposição da barreira epitelial pelo protozoário (BONAPAZ *et al.*, 2010). Também as células residentes na lâmina própria da mucosa intestinal são capazes de expressar uma resposta celular ou humoral na presença de um parasito, por isso o maior recrutamento e proliferação de células do sistema imune durante a infecção pode aumentar a largura desse estrato intestinal (FERREIRA *et al.*, 2004).

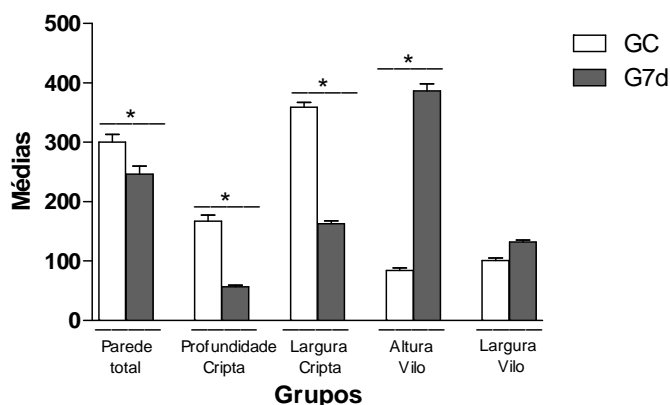


Figura 1. Média em micrometros da espessura da parede total, profundidade e largura das criptas, altura e largura dos vilos do duodeno de ratos do GC e dos grupos infectados por *T. gondii*, evidenciados pela coloração de HE (Hematoxilina & Eosina). A

diferença estatística com o GC é representada pelo * ($p < 0,05$). Note. GC= grupo controle; G7d= Grupo infectado e avaliado após 7 dias.

Conclusões

A infecção aguda por oocistos de *T. gondii* provoca aumento na altura dos vilos 7 dias após a infecção e diminui a profundidade e largura das criptas, além de causar atrofia da parede total em todos os animais infectados. Portanto, a infecção aguda por *T. gondii*, caracterizada pela invasão do parasito, causa alterações morfométricas em parede intestinal total, criptas e vilos do duodeno de ratos Wistar. Assim, as alterações estruturais observadas em nossa pesquisa podem alterar o desempenho intestinal quanto a suas funções.

Agradecimentos

A Fundação Araucária pela bolsa de iniciação científica e ao Departamento de Ciências Morfológicas da UEM.

Referências

BONAPAZ, R.S.; HERMES-ULIANA, C.; SANTOS, F.N et al. Effects of infection with *Toxoplasma gondii* oocysts on the intestinal wall and the myenteric plexus of chicken (*Gallus gallus*). **Pesquisa Revista Brasileira**, v. 30, p. 787-92, 2010.

BUZONI-GATEL, D.; WERTS, C. *Toxoplasma gondii* and subversion of the immune system. **Trends Parasitology**, v. 22, n. 10, p. 448-52, 2006.

DUBEY, J.P. Bradyzoite - Induced murine toxoplasmosis: stage conversion, pathogenesis, and tissue cyst formation in mice fed bradyzoites of different strains of *Toxoplasma gondii*. **Journal of Eukaryotic Microbiology**, v. 44, p. 592-602, 1995.

FERREIRA, G.L.S.; MINEO, J.R.; OLIVEIRA, J.G.; FERRO, E.A.V. et al. *Toxoplasma gondii* and mast cell interactions in vivo and in vitro: Experimental infection approaches in *Calomys callosus* (Rodentia, Cricetidae). **Microbes and Infection**, v. 6, p. 172-181, 2004.

WEISS, L.; KIM, K. *Toxoplasma gondii*: The model apicomplexan. Perspectives and methods. Alterations in Host. **Cell Biology**. Rio de Janeiro, Elsevier, 2007.