

EFEITO DA INFECÇÃO AGUDA PELO *T. GONDII* SOBRE A MORFOMETRIA DA PAREDE DO JEJUNO DE RATOS

Gabriella Maria Ribinski dos Santos (PIBIC/FA), Letícia Sarturi Pereira Severi, Débora de Mello Gonçalves Sant'Ana, Gessilda de Alcântara Nogueira de Melo (Orientadora), e-mail: gessilda.melo@gmail.com.

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

Área e subárea do conhecimento conforme tabela do [CNPq/CAPES](#):
Ciências Biológicas - Parasitologia

Palavras-chave: Protozoários, toxoplasmose, intestino delgado

Resumo:

O objetivo desse projeto foi avaliar a morfometria da parede do jejuno de ratos infectados com *Toxoplasma gondii* em diferentes tempos. Foram utilizados ratos Wistar com 60 dias de idade, distribuídos aleatoriamente em grupos (n=7), inoculados com 5000 oocistos de *T. gondii*, mantidos por 6 (G1), 12 (G2), 24 (G3), 72 horas (G4), e grupo controle (GC). Realizou-se a eutanásia desses animais, coleta do jejuno, técnicas histológicas para determinação da espessura dos estratos da parede intestinal. Foi observado que a espessura total da parede do jejuno dos ratos infectados aumentou após seis horas de infecção. Às 12 horas ocorre uma redução significativa na parede total que retorna à largura inicial em 24 horas. Em 72 horas a espessura diminuiu novamente. Desta forma, as alterações destacadas demonstram o impacto do início de uma infecção no intestino.

Introdução

Toxoplasma gondii é um parasito intracelular obrigatório, agente causador da toxoplasmose, uma das infecções parasitárias mais comuns do homem e de vários animais domésticos e selvagens.

Durante sua disseminação o parasito atravessa a barreira intestinal causando, um estado de alerta na mucosa intestinal, marcado pela migração de leucócitos como parte dos mecanismos de resposta inflamatória local (Furness, 2006; Neves, 2011). O *T. gondii* induz no hospedeiro uma resposta celular muitas vezes exacerbada que pode alterar a morfologia e o funcionamento do intestino.

Diante da grande relação do parasito no intestino, o presente estudo avaliou os efeitos da infecção pelo *T. gondii* sobre a morfometria do jejuno de ratos durante diferentes tempos de infecção aguda.

Materiais e métodos

Foram utilizados ratos Wistar com 60 dias de idade. Os animais foram distribuídos aleatoriamente em grupos (n=7) os quais foram inoculados com *T. gondii* e mantidos por 6 (GI1), 12 (GI2), 24 (GI3), e 72 horas (GI4). Houve um grupo controle (GC). Cada rato dos grupos GI1 a GI4 recebeu por via oral 5000 oocistos de *T. gondii* esporulados (ME-49, genótipo II) e ressuspendidos em 1 mL de solução salina estéril, enquanto os animais do grupo GC receberam apenas solução salina. Os ratos foram submetidos à eutanásia por aprofundamento anestésico com vapor de halotano. Após laparotomia anéis de dois centímetros do jejuno foram retirados, fixados em paraformaldeído 4% durante 6 horas, desidratado em série ascendente de álcool etílico, diafanizado em xilol e incluído em parafina para obtenção dos cortes transversais semi-seriados de 5µm, que foram corados pela técnica histológica de hematoxilina-eosina (HE) para a análise morfométrica da parede intestinal. A análise estatística foi realizada com o software Graph Pad Prism versão 5.0.

Resultados e Discussão

A área do jejuno diminuiu significativamente em relação ao controle em seis e 72 horas após a infecção (Figura 1A). A espessura total da parede aumentou significativamente após seis horas, apoiado pela teoria de que a fase inicial de infecção por *T. gondii* é destacada pela entrada do parasito no organismo e nos mecanismos do epitélio intestinal para a defesa contra a invasão parasitária (Miller et al. 2009) tornando-se justificável o aumento inicial da espessura da parede intestinal associado à hipertrofia da submucosa e das camadas musculares devido à presença de infiltrado inflamatório no intestino neste primeiro momento de resistência do organismo. Às 12 horas ocorreu uma redução significativa na parede total que novamente tem uma maior redução em comparação ao controle após 72 horas (Figura 1B).

A submucosa aumentou significativamente em relação ao controle após 6 e 24 horas de infecção. Por outro lado não houve diferença significativa nos tempos de 12 e 72 horas pós-infecção (Figura 1C). Analisando a camada muscular podemos observar que há um aumento significativo após 6 horas, seguido por uma redução significativa as 12 e 72 horas pós-infecção. Quanto às análises separadas da camada circular e da longitudinal observamos que as duas camadas aumentam às 6 horas de infecção, onde a camada circular sofre uma redução significativa comparada ao controle às 12 horas, e as duas camadas sofrem reduções significativas quando comparas ao controle após 72 horas de infecção (Figura 1D-F), constatando que as alterações encontradas podem ser adaptações do trato intestinal à presença do parasito e às células e moléculas envolvidas na resposta imune.

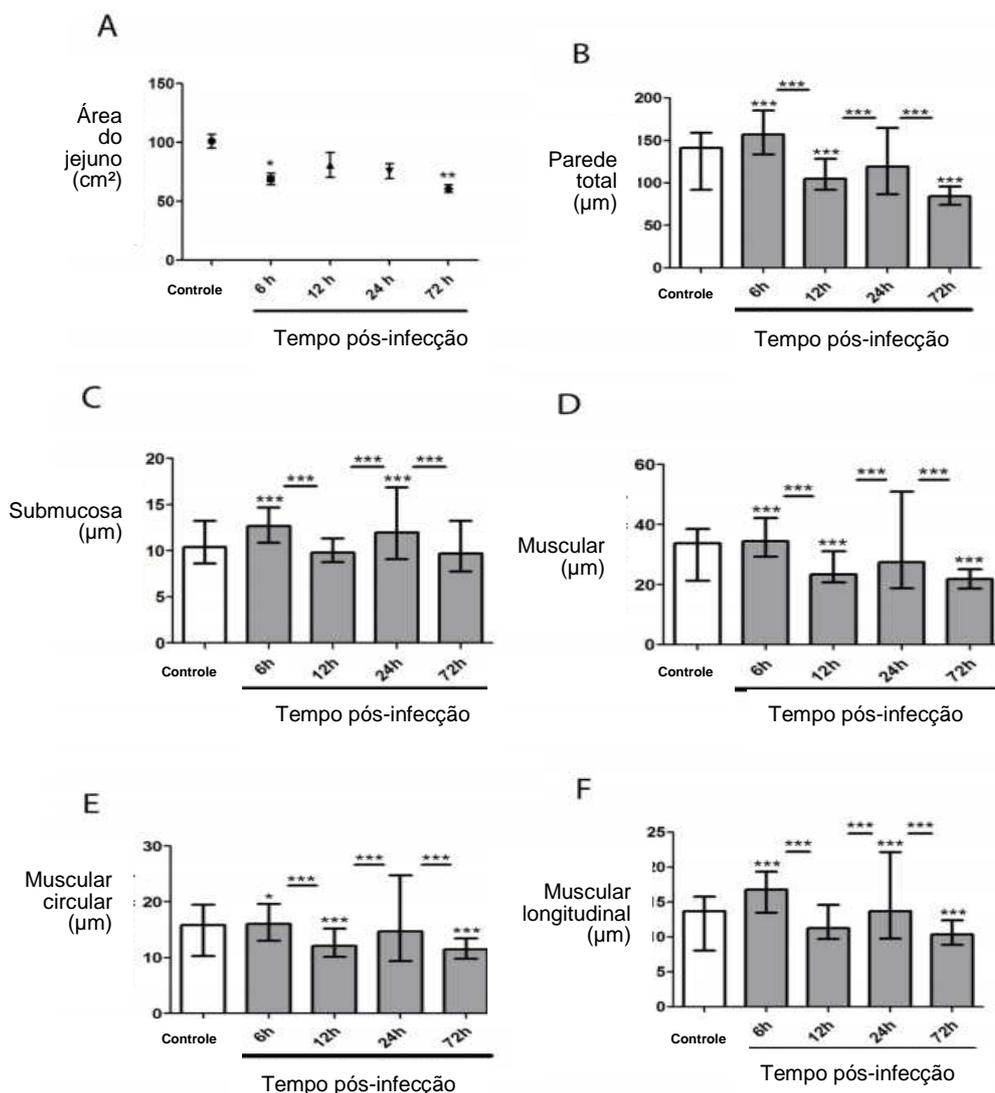


FIGURA 1 - (A), a espessura total da parede (B), camada submucosa (C), muscular (D), muscular circular (E), muscular logitudinal (F) foram medidas. Os asteriscos acima dos símbolos e as barras representam significância estatística para o grupo de controle e outros asteriscos representam significância estatística entre os grupos indicados ($n \geq 5$; mediana com intervalo interquartil) (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$).

Sobre a análise da cripta, lesões, estresse e danos ao epitélio podem levar à renovação celular acelerada pela regeneração da cripta (Yu et al. 2013) justificando o fato da profundidade da cripta ter se elevado significativamente em 6 horas de infecção. O declínio significativo em 72 horas de infecção (Figura 2A) pode ser causado pelo predomínio da infecção sobre a capacidade regenerativa do epitélio. A largura da cripta diminuiu significativamente em 6 horas, aumentando nos tempos 12 e 24 horas sendo justificada por uma possível renovação epitelial acelerada, e após 72 horas a largura torna-se comparável ao grupo controle quando a infecção predomina sobre a capacidade de proliferação epitelial (Figura 2B).

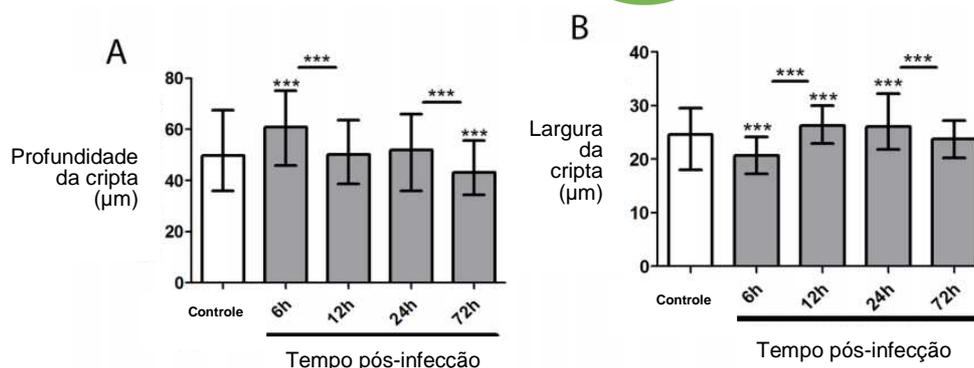


FIGURA 2 - Profundidade de cripta (A) largura (B). Os asteriscos acima das barras representam significância estatística para o grupo Controle e outros asteriscos representam significância estatística entre os grupos indicados ($n \geq 5$, *** $p < 0,001$).

Conclusões

Estes resultados mostraram que há alterações do epitélio para o plexo mioentérico após a infecção oral. As alterações observadas ocorrem mais frequentemente devido à resposta imune à entrada do parasito no organismo e mostram o impacto do início de uma infecção aguda no intestino.

Agradecimentos

A Fundação Araucária pela bolsa de iniciação científica, ao Laboratório de Anatomia e Parasitologia Clínica da instituição, a todos que colaboraram com as análises deste projeto e a Orientadora Gessilda de Alcântara Nogueira de Melo pelo suporte.

Referências

- DUBEY JP, BRAKE RJ, MURRELL KD, FAYER R. **Effect of irradiation on the viability of *Toxoplasma gondii* cysts in tissues of mice and pigs.** Am. J. Vet. Res. 47 (3): 518- 22, 1986.
- FURNESS JB. **The enteric nervous system.** New York: Churchill Livingstone; 2006.
- NEVES DP, MELO AL, GENARO O, LINARDI PM. **Parasitologia humana.** 12 ed. São Paulo: Atheneu; 2011.
- C.M. MILLER, N.R. BOULTER, R.J. IKIN, N.C. SMITH, **The immunobiology of the innate response to *Toxoplasma gondii*,** Int. J. Parasitol. 39, 23-39, 2009.
- J. YU, **Intestinal stem cell injury and protection during cancer therapy,** Transl Cancer Res. 2(5) 384 – 396, 2013.