

EFEITO DA INFECÇÃO TOXOPLÁSMICA SOBRE A DINÂMICA DA SECREÇÃO DE MUCINAS ÁCIDAS

Jackeline Joyce da Silva Moreira (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Debora de Mello Gonçalves Sant'Ana (Orientador), e-mail: jackeline.moreiraa@gmail.com

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

Área do conhecimento: Ciências Biológicas

Subárea: Morfologia

Palavras-chave: Mucinas, toxoplasmose, intestino delgado

Resumo: Durante sua disseminação o *T. gondii* transpõe a barreira intestinal causando inflamação local. Objetivo desse projeto foi avaliar quantitativamente as células caliciformes produtoras de mucinas ácidas em jejunos infectados com *T. gondii* (cepa ME-49 genótipo II) em diferentes tempos da infecção aguda. Ratos Wistar (*Rattus norvegicus*) foram distribuídos em grupos (n=7) com 60 dias de idade. Estes receberam 5000 oocistos de *T. gondii* e mantidos por 6 horas (GI1), 12 horas (GI2), 24 horas (GI3), 48 horas (GI4), 72 horas (GI5), 10 dias (GI6) e grupo controle não infectados (GC). Após o período experimental houve eutanásia e coleta do jejuno para análise histológica. As lâminas obtidas foram coradas pelo método Alcian Blue (pH 1,0 e 2,5). Por fim, observou-se diminuição significativa das células caliciformes que secretam mucinas neutras nos períodos de 6 e 24 horas e das secretoras de mucinas ácidas nos de 12 e 24 horas após infecção.

Introdução

Toxoplasma gondii (*T. gondii*) é um parasito intracelular obrigatório, agente causador da toxoplasmose, zoonoses mais difundidas entre as populações humana e animal (TENTER et al., 2000). Os hospedeiros definitivos são os felídeos, sendo que os gatos domésticos possuem papel fundamental na transmissão do *T. gondii* para o homem e todos os outros homeotérmicos (WEISS & KIM, 2007).

Para sua disseminação o *T. gondii* precisa atravessar a barreira intestinal. O parasito desencadeia uma resposta inflamatória no intestino delgado de diferentes espécies animais, alterando aspectos morfológicos quanto a estrutura, número de células caliciformes e funcionamento do intestino (TREVISAN et al., 2016).

Entre as células do epitélio intestinal as células caliciformes são responsáveis pela síntese, armazenamento e liberação de mucinas. As mucinas são classificadas de acordo com a sua composição em neutras,

que auxiliam na digestão, além de proteger o epitélio contra microorganismos e que conta em sua estrutura com monossacarídeos de manose, galactose e galactosamina (DEPLANCKE & GASKINS, 2001). Há também as mucinas ácidas, que são divididas em dois subgrupos, as sulfatadas e as não-sulfatadas. As não-sulfatadas também conhecidas como sialomucinas atuam na proteção e lubrificação intestinal, contendo sua porção glicosídica ligada ao ácido siálico (DEPLANCKE & GASKINS, 2001) Diante da grande relação do parasito no intestino e dos estudos prévios, o presente projeto pretende avaliar quantitativamente as células calciformes produtoras de mucinas ácidas em jejuno de ratos infectados com *T. gondii* (cepa ME-49 genótipo II) em diferentes tempos da infecção aguda.

Materiais e métodos

O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Estadual de Maringá (Parecer n.079/2013). Foram utilizados ratos Wistar (*Rattus norvegicus*) com 60 dias de idade provenientes do Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá. Os animais foram distribuídos aleatoriamente em grupos (n=7) que foram inoculados por *T. gondii* e mantidos por 6 horas (GI1), 12 horas (GI2), 24 horas (GI3), 48 horas (GI4), 72 horas (GI5) e 10 dias (GI6). Foi mantido um grupo controle não infectado (GC). Cada rato dos grupos GI1 a GI6 recebeu por via oral 5000 oocistos de *T. gondii* esporulados (ME-49, genótipo II) ressuspendido em 1 mL de solução salina estéril, enquanto os animais dos grupos GC receberam apenas solução salina. Os animais foram mantidos em biotério com temperatura controlada ($24 \pm 2^{\circ}\text{C}$) e foto-período de 12 horas (6hs – 18hs), e receberam ração padrão para roedores e água ad libitum.

Coleta e processamento histológico das Amostras

Após os períodos específicos de infecção de cada grupo experimental os ratos foram submetidos à eutanásia por aprofundamento anestésico com vapor de halotano. Após laparotomia anéis de dois centímetros do jejuno foram retirados e fixados em paraformaldeído 4% durante 6 horas. Os segmentos foram desidratado em série ascendente de álcool etílico, diafanizados em xilol e incluídos em parafina para posterior obtenção dos cortes transversais semi-seriados de 5 μm . Posteriormente, procedeu-se a coloração das lâminas pela técnica de PAS-Alcian Blue em pH 1,0 e 2,5.

Contagem de células calciformes

Foram contadas cerca de 2.000 mil células do epitélio da túnica mucosa de cada animal. Em seguida foram contadas as células calciformes presentes e calculadas a proporção de células calciformes/100 células epiteliais.

Análise estatística

Os testes foram definidos de acordo com a distribuição de dados, assim o teste D'Agostino-Pearson e/ou de Shapiro-Wilk para verificar a distribuição dos dados. Aqueles com distribuição normal poderão ser apresentados pela média \pm desvio padrão e comparados entre os grupos pelo teste T de Student. Quando houver distribuição livre, foi utilizado o Kruskal-Wallis e os

resultados expressos como mediana e percentis (P25; P75). Em todos os testes foi considerado um nível de significância de 5%.

Resultados e Discussão

Foi observado diminuição significativa quanto ao percentual de células caliciformes que secretam mucinas neutras nos períodos de seis e 24 horas após infecção em relação ao grupo controle ($p < 0,05$). Houve diminuição significativa no percentual de células caliciformes secretoras de mucinas ácidas, nos períodos de 12 e 24 horas após infecção em pH 2,5. Em pH 1,0 não se observou alterações significativas quanto o percentual destas células quando comparados com o GC ($p < 0,05$) (Figura 1). Em algumas infecções parasitárias, há uma redução na produção de mucinas neutras devido ao aumento na produção de mucinas ácidas (ISHIKAWA et al., 1993).

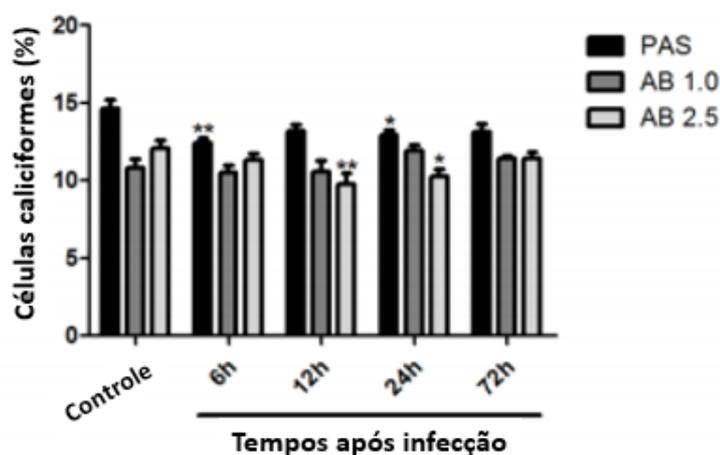


Figura 1. Percentual de células caliciformes durante as primeiras horas de infecção oral PAS- Alcian Blue em pH 1.0 e 2.5. Média com desvio padrão (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$).

Conclusões

A infecção por *T. gondii* promove diminuição significativa quanto ao percentual de células caliciformes que secretam mucinas neutras e mucinas ácidas na fase aguda da infecção.

Agradecimentos

A Fundação Araucária pela bolsa de iniciação científica, ao Laboratório de Morfologia e Anatomia e a Prof. Dr. Débora de Mello Gonçalves Sant'Ana.

Referências

DEPLANCKE, B.; GASKINS, H. R.; Microbial modulation of innate defense: goblet cells and the intestinal mucus layer. **Am J Clin Nutr.** v.73, n.6, p.1131S-1141, 2001.

ISHIKAWA N.; HORII Y.; NAWA Y. Immune-mediated alteration of the terminal sugars of goblet cell mucins in the small intestine of *Nippostrongylus brasiliensis*-infected rats, **Immunology.** v.78, p.303–307, 1993.

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

TENTER, A. M.; HECKEROTH, A. R.; WEISS, L. M.; *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. **Int. J. Parasitol.** v.30, n. 12-13, p.1217-58, 2000.

TREVIZAN, A. R.; VICENTINO-VIEIRA, S. L.; DA SILVA W.P.; GÓIS, M. B.; DE MELO, G.A N.; GARCIA, J. L.; ARAÚJO, J.A.E.; SANT'ANA, D.M.G. Kinetics of acute infection with *Toxoplasma gondii* and histopathological changes in the duodenum of rats. **Experimental Parasitology**, v. 165, p. 22-29, 2016.