

INFECÇÃO POR *Toxoplasma gondii* AUMENTA NÚMERO DE CÉLULAS ENTEROENDÓCRINAS NO ÍLEO DE RATOS

Giovana Alves Santos (PIBIC /FA), Matheus da Silva de Novaes, Larissa Carla Lauer Schneider, Nilza Cristina Buttow (Orientador), e-mail:

ncbuttow@uem.br

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

Ciências biológicas: Histologia

Palavras-chave: mastócito, toxoplasmose, parasita.

Resumo:

O *Toxoplasma gondii* é um parasita intracelular obrigatório, que possui ampla distribuição geográfica. Neste estudo, foram utilizados 20 ratos machos da espécie *Rattus norvegicus* Wistar (n=5), sendo que 15 foram infectados, com 5000 oocistos de *T. gondii* cepa Me -49 via oral. Após a eutanásia, foi realizada a coleta de 2 cm do íleo terminal, este passou por técnicas histológicas de rotina, as lâminas foram coradas pela técnica de impregnação por prata, para a identificação de células enteroendócrinas e Azul de Toluidina, para a identificação dos mastócitos. Foram capturadas imagens dos cortes nas lamínas, no fotomicroscópio trinocular e quantificadas as células na área de 1mm². Na análise realizada observou-se que houve um aumento no número de células enteroendócrinas e a densidade de mastócitos não apresentou diferença significativa em relação ao controle. Portanto, nas fases aguda e crônica da infecção pelo *T. gondii* ocorre o aumento na densidade de células enteroendócrinas.

Introdução

O *Toxoplasma gondii* é o agente etiológico da toxoplasmose, é um parasita do filo Apicomplexa e possui uma ampla distribuição geográfica; é um parasita intracelular obrigatório, que infecta o homem e outros animais de sangue quente (TENTER, 2009). A forma natural de infecção é via oral, e há evidências que ratos com deficiência de mastócitos, infectados com *T. gondii* entraram em óbito após alguns dias de infecção esses resultados indicam que estas células são importantes para a defesa contra o parasita. (CRUZ, MENDES, ANDRADE, NASCIMENTO, CARTELLE, ARANTES, MELO, GAZZINELLI, ROPERT, 2014) Além das alterações na população de mastócitos; estudos *in vitro/in vivo* demonstraram que as células enteroendócrinas também podem ser afetadas pela infecção (WORTHINGTON, 2015). Estes estudos demonstram que as células enteroendócrinas possuem receptores do tipo *toll-like* (TLRs) e podem responder diretamente a metabólitos produzidos por patógenos orquestrando respostas imunes. Nosso estudo objetivou avaliar a densidade

de células enteroendócrinas e mastócitos durante a infecção aguda e crônica por *T. gondii*.

Materiais e métodos

Foram utilizados 20 *Rattus norvegicus* da linhagem Wistar machos (n=5) com 60 dias de idade, os animais foram distribuídos em Grupo Controle (GC) e os grupos infectados, que receberam pela via oral 1.0 mL de suspensão contendo 5000 oocistos *T. gondii* (cepa Me - 49) sendo eles Grupo 24 horas (I24h), Grupo 72 horas (I72h) e Grupo 30 dias (I30d) de infecção. Foi realizada à eutanásia por aprofundamento anestésico com vapor de halotano, em seguida, foi retirado 2 cm do íleo terminal dos ratos. Foram fixados em paraformaldeído 4% submetido a técnicas histológicas de rotina, sendo embocado em parafina. Realizado os cortes histológicos de 5 µm no micrótomo do Laboratório de Histologia do Departamento de Ciências Morfológicas (DCM) da Universidade Estadual de Maringá (UEM), e realizada a coloração pela técnica de impregnação por prata, para a contagem das células enterodócrinas e azul de toluidina para identificação de mastócitos. Para a contagem das células enteroendócrinas foram capturadas 50 imagens por animal, e 40 imagens para mastócitos, com o microscópio trinocular da marca Olympus num aumento de 40x, a contagem das células foi realizada na área de 1mm², com o auxílio do programa Image Pro Plus. A análise estatística foi realizada pela ANOVA seguida de pós-teste de Tukey com nível de significância de 5% com o auxílio do programa Graph Pad Prisma 5. O protocolo experimental foi aceito pelo Comitê de Ética da Universidade Estadual de Maringá com o protocolo nº 5529220915.

Resultados e Discussão

Houve um aumento médio no número de células enteroendócrinas (Tabela1). Estudos evidenciam que essas células, participam do eixo imunoendócrino, secretando uma citocina pró-inflamatória a IL-17. Estudos em cobaias onde foi induzida a colite observou-se um aumento na densidade e secreção das células enteroendócrinas devido ao processo inflamatório. Durante a infecção por *Trichinella spiralis* ocorre aumento na densidade e secreção das células enteroendócrinas que secretam a colecistoquinina (CCK) (WORTHINGTON, 2015). Apesar de termos observado um aumento das células enteroendócrinas, não é possível saber qual subpopulação sofreu alteração. Quanto aos mastócitos apesar de ter havido uma redução na densidade esta não foi significativa (Tabela 1).

Tabela 1- Número de células enteroendócrinas e número de mastócitos quantificadas em 1 mm² no íleo de ratos.

Grupos	Células Enteroendocrinas	Mastócitos
Controle	10,25±2,02 a	492,6±74,19 a
24 Horas	28,20±3,31b	323±42,86 a
72 Horas	25,00±2,12 b	332,0±18,01 a
30 Dias	35,40±4,30 b	444,9±25,62 a

Fonte: resultados obtidos a partir do experimento.

Na Tabela 1 observa-se que no íleo de ratos dos grupos que foram infectados pelo *T. gondii* houve um aumento no número de células enteroendócrinas.

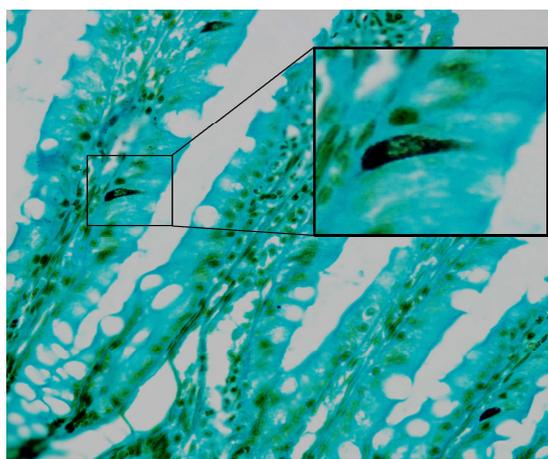


Figura 1- Em destaque célula enteroendócrina no íleo de rato, no grupo com 30 dias de infecção por *T. gondii* imagem da lâmina no aumento de 40x marcada pela impregnação pela prata.

Conclusões

Nas fases aguda e crônica da infecção pelo *T. gondii* ocorre aumento na densidade de células enteroendócrinas. Para uma análise mais aprofundada das subpopulações que foram mais afetadas é necessário à realização de novos estudos por métodos imunohistoquímicos.

Agradecimentos

Fundação Araucária.

Referências

CRUZ A., MENDES É. A., ANDRADE M.V., NASCIMENTO V.C., CARTELLE C.T., ARANTES R.M., MELO J.R., GAZZINELLI R.T., ROPERT C. Mast cells

are crucial in the resistance against *Toxoplasma gondii* oral infection. **European journal of immunology**, v. 44, n. 10, p. 2949-2954, 2014.

GALLI, S. J.; GRIMBALDESTON, M.; TSAI, M. Immunomodulatory mast cells: negative, as well as positive, regulators of innate and acquired immunity. *Nature reviews. Immunology*, v. 8, n. 6, p. 478, 2008.

TENTER, A. M. *Toxoplasma gondii* in animals used for human consumption. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.104, n.2, Rio de Janeiro, Mar. 2009.

WORTHINGTON, J. J. The intestinal immunoendocrine axis: novel cross-talk between enteroendocrine cells and the immune system during infection and inflammatory disease. **Biochemical Society Transactions**, v. 43, n. 4, p. 727-733, 2015.