

EFEITOS DA INFECÇÃO POR *Leishmania (Viannia) braziliensis* SOBRE O JEJUNO E ÍLEO DE HAMSTERS

Gabriella Maria Ribinski dos Santos (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Amanda Gubert Alves dos Santos, Daniele Stefanie Sara Lopes Lera, Maria Valdrinez Campana Lonardon, Débora de Mello Gonçalves Sant'Ana, Gessilda de Alcântara Nogueira de Melo (Orientador), e-mail: ganmelo2@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá/Centro de Ciências da Saúde/Maringá,
PR

Farmácia/Análise Toxicológica

Palavras-chave: Leishmaniose, Intestino Delgado, Morfologia.

Resumo:

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da infecção por *Leishmania (Viannia) braziliensis* sobre o intestino de hamsters. Para isso, hamsters machos (n=10) foram infectados com *L. (V.) braziliensis* e após 8 semanas, segmentos do jejuno e íleo foram coletados e processados histologicamente. Esse material foi corado pela técnica de Hematoxilina e Eosina para a realização de análises morfométricas da parede intestinal. Foram avaliadas a profundidade e largura das criptas, altura e largura de vilos, espessura da túnica submucosa e camadas musculares do intestino. Nossos resultados demonstraram uma redução de vilos e criptas no jejuno, com aumento das camadas musculares, submucosa e parede total. Já no íleo, houve uma diminuição das camadas constituintes do intestino, e um aumento de vilos e criptas. A infecção por esse parasito durante 8 semanas, causa diferentes alterações morfológicas no jejuno e íleo de hamsters.

Introdução

A leishmaniose é uma doença causada por protozoários do gênero *Leishmania*, que apresenta diferentes manifestações clínicas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017). Algumas de suas formas clínicas mais conhecidas são as cutâneas e mucosa, cujo principal agente causador é a *Leishmania (Viannia) braziliensis* (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017). Estudos realizados com essa espécie, detectaram alterações e migração do parasito para órgãos além da pele (GOMES-SILVA, 2013, SANTOS, 2017), como o intestino (SANTOS, 2017).

O intestino é um órgão com importantes funções para o funcionamento do nosso organismo (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2017). O intestino delgado é formado por diferentes camadas: mucosa, a parede do intestinal que apresenta a tela submucosa e a muscular (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2017). Cada uma dessas camadas apresenta particularidades celulares e diferentes funções (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2017).

Relatos na literatura mostram que a infecção por *L. (V.) braziliensis* causa alterações morfológicas no íleo e que o parasito é capaz de migrar

para o íleo e linfonodo mesentérico (Santos, 2017). Porém, ainda existem poucos estudos avaliando alterações intestinais em infecções por esta espécie. Por tanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a infecção por *L. (V.) braziliensis* sobre a morfometria da parede intestinal do jejuno e do íleo.

Materiais e métodos

Delineamento Experimental

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Conduta Ética no uso de Animais em experimentação (CEUA) da Universidade Estadual de Maringá (UEM) sob protocolo 3062060916. Foram utilizados 10 hamsters machos (*Mesocricetus auratus*), que foram divididos em dois grupos (n=5): grupo controle e o grupo infectado com *L. (V.) braziliensis* (MHOM/2003/2314). Antes da infecção, os animais foram anestesiados com uma combinação de xilazina (Calmium Agener-Union Animal Health) e ketamina (Francotar®-Virbac Animal health). A infecção foi realizada via intradérmica no dorso da pata esquerda traseira com uma suspensão de 50µl de 5x10⁶ parasitos e no grupo controle foi inoculado o mesmo volume de tampão fosfato-salino.

Coleta e processamento histológico

Após 8 semanas de infecção os animais foram eutanasiados por aprofundamento anestésico e em seguida, foram coletados segmentos de 1 cm do jejuno e do íleo. Esses segmentos fixados e submetidos a rotina histológica, sendo realizados cortes transversais semi-seriados de 5 µm, que foram corados pela técnica de Hematoxilina e Eosina (HE).

Análise morfométrica da parede intestinal

Foram capturadas 16 imagens de cada seguimento intestinal por animal, totalizando 1 imagem/quadrante/corte. Com o auxílio do programa Motic Images Plus 2.0 foi realizada a morfometria da profundidade e largura das criptas, altura e largura dos vilos, espessura da camada muscular, tela submucosa e parede total do jejuno e do íleo dos animais.

Análise estatística

A normalidade dos dados foi testada no programa BioEstat, com o teste de D'Agostino-Pearson. Os dados com distribuição normal foram avaliados por teste T e os de distribuição livre por teste T seguido de Mann-Whitney cm o software GraphPad Prism 6®.

Resultados e Discussão

As manifestações clínicas mais comuns da infecção por *L. (V.) braziliensis* são lesões cutâneas e mucocutâneas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017). Porém, estudos realizados com essa espécie, detectaram alterações morfológicas e a migração do parasito para baço, linfonodos (GOMES-SILVA, 2013) e intestino (Santos, 2017). Logo, nós avaliamos a morfologia da parede do jejuno e íleo de hamsters infectados por *L. (V.) braziliensis*.

O jejuno apresenta grande capacidade absorptiva, já que é a maior porção do intestino delgado e a maioria das células em sua superfície são enterócitos (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2017). Nós observamos que os vilos e criptas estavam reduzidos nos grupos infectados. Com diminuição de

35,5% na altura e de 37,2% na largura dos vilos, enquanto na cripta houve redução de 21,1% na profundidade e 20,7% na largura (Figura 1).

A atrofia dos vilos, nos leva a sugerir, que a infecção atua não somente na morfologia do órgão como em sua funcionalidade, já que esta é uma característica de redução na área de absorção de nutrientes. Além disso, as criptas reduzidas levam a crer que os animais infectados apresentam uma menor capacidade de renovação celular (TREVIZAN, 2016), o que reflete na diminuição das vilosidades.

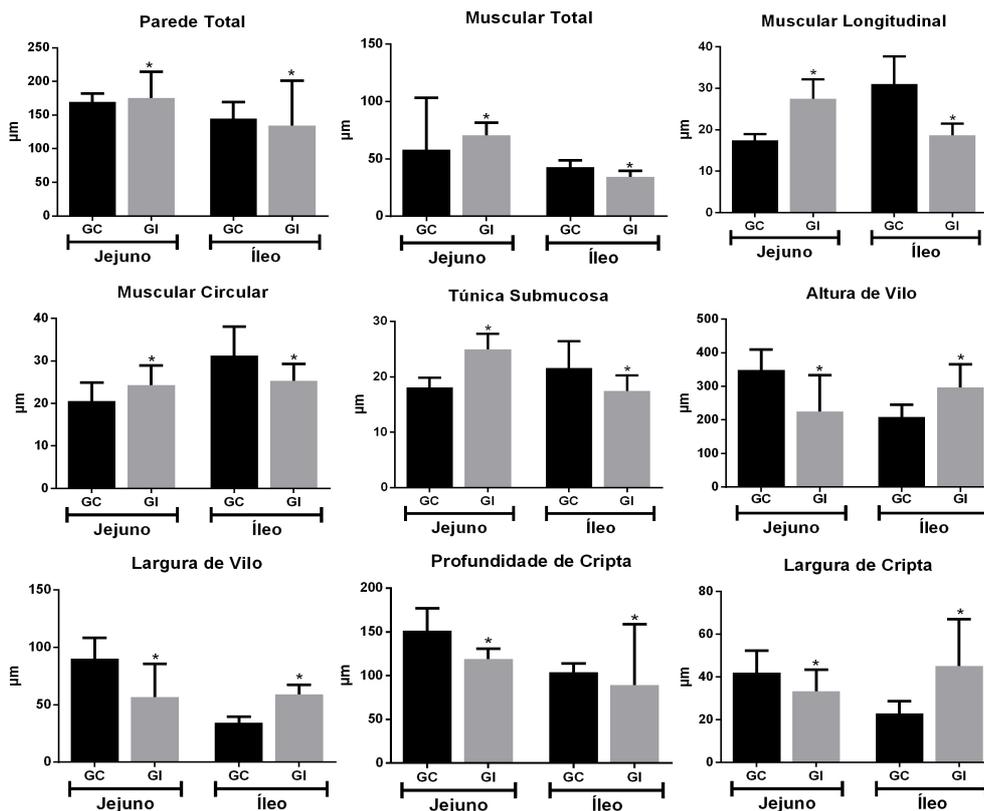


Figura 1. Morfometria da parede do jejuno e íleo de hamsters infectados por *L. (V.) braziliensis*. Dados expressos em média \pm desvio padrão. * indica significância estatística com $p < 0,05$. GC: Grupo Controle. GI: Grupo infectado por *L. (V.) braziliensis*.

As camadas musculares são responsáveis pelos movimentos de mistura e propulsão intestinal (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2017). Assim, o comprometimento na área de absorção de nutrientes, pode ter levado a um aumento na contratilidade das células musculares, levando ao aumento na espessura da camada muscular (muscular total - GC: $58 \pm 45,22$ GI: $70,56 \pm 11,29$; muscular longitudinal - GC: $17,49 \pm 1,48$ GI: $27,50 \pm 4,65$; muscular circular - GC: $20,57 \pm 4,38$ GI: $24,27 \pm 4,62$). Esses parâmetros levam ao aumento da espessura da parede total no grupo infectado ($175,3 \pm 39,24$) quando comparado ao controle ($169,7 \pm 12,12$).

No íleo ocorre intensa atividade imune, já que ele apresenta importantes componentes do GALT, as placas de Peyer (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2017). No nosso estudo, seus vilos aumentaram 29,6% na

altura e 41,7% na largura mostrando que está ocorrendo a migração de células imunes, o que poderia estar relacionado com a presença do parasito (SANTOS, 2017). Além disso, o aumento de 49,31% na largura das criptas pode estar relacionado a uma maior proliferação celular, contribuindo para vilos mais longos (TREVIZAN, 2016).

Nós ainda observamos uma diminuição nas camadas musculares total (GC: 42,97±5,95; GI: 34,37±5,37), longitudinal (GC: 31,01±6,69; GI: 18,73±2,72) e circular (GC: 31,23±6,86; GI: 25,27±4,05), na túnica submucosa (GC: 21,61±4,83; GI: 17,49±2,74) e também na parede total do órgão (GC: 144,70±24,72 ; GI: 134,60±66,39) quando comparamos o grupo infectado com o controle (Figura 1). Essas alterações foram também observadas na infecção por outros protozoários e estão relacionadas ao processo inflamatório intestinal (TREVIZAN, 2016).

Apesar do jejuno e íleo constituírem o intestino delgado e serem próximos anatomicamente, a suas constituições são distintas (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2017) e isso, juntamente com a capacidade e via de migração do parasito para esses órgãos, pode ter levado a esses diferentes perfis de alterações encontrados nos nossos animais.

Conclusões

A infecção por *L. (V.) braziliensis* causa alterações nas camadas musculares e mucosa, túnica submucosa, vilos e criptas do jejuno e íleo. Esses resultados mostram a importância de mais estudos na área visando elucidar a relação parasito-hospedeiro.

Agradecimentos

Agradecemos à Universidade Estadual de Maringá pelo oferecimento da bolsa, ao laboratório de Leishmanioses da UEM e aos departamentos de Análises Clínicas e Biomedicina e de Ciências Morfológicas.

Referências

- GOMES-SILVA, A. et al. **Golden hamster (*Mesocricetus auratus*) as an experimental model for *Leishmania (Viannia) braziliensis* infection.** Parasitology, v. 140, n. 06, p. 771–779, maio 2013.
- JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia Basica.** 13ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE, **Manual de vigilância da Leishmaniose Tegumentar**, 1st ed, Editora do Ministério da Saúde, Brasília, 2017.
- SANTOS, A. G. A. **Efeitos da infecção por *Leishmania (Viannia) braziliensis* sobre o íleo e linfonodo mesentérico de hamsters.** 2017. Dissertação (Mestrado em biociências e fisiopatologia) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá.
- TREVIZAN, A. R. et al. **Kinetics of acute infection with *Toxoplasma gondii* and histopathological changes in the duodenum of rats.** Experimental Parasitology, v. 165, p. 22–29, jun. 2016.