

INFECÇÃO CRÔNICA POR *Toxoplasma gondii* ALTERA POPULAÇÕES DE CÉLULAS EPITELIAIS E ESTRUTURA DA PAREDE DO ÍLEO DE RATOS

Matheus da Silva de Novaes¹ (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Giovana Alves Santos¹, Larissa Carla Lauer Schneider¹, Débora de Mello Gonçalves Sant'Ana¹, Nilza Cristina Buttow¹ (Orientadora), e-mail: ncbuttow@gmail.com

¹Universidade Estadual de Maringá/ Centro de Ciências Biológicas/ Maringá, PR.

Ciências Biológicas: Morfologia/Histologia.

Palavras-chave: toxoplasmose, fase crônica, imunidade.

Resumo:

A toxoplasmose é uma doença que acomete milhares de pessoas pelo mundo e é ocasionada pelo parasita *Toxoplasma gondii*. O objetivo desse trabalho foi analisar os efeitos da infecção crônica pelo *T. gondii* sobre as células epiteliais e a parede intestinal no íleo de ratos. Foram utilizados 10 ratos sendo 5 controles e 5 infectados. O grupo infectado recebeu por gavagem solução salina contendo 5000 oocistos de *T. gondii* (cepa ME-49). Após 30 dias foram eutanasiados, e o íleo foi retirado para a realização de técnicas histológicas de rotina. Os resultados mostraram um aumento de linfócitos intraepiteliais e, diminuição de células calciformes secretoras de sulfomucinas, células de Paneth e colágeno tipo III. Ocorreu também atrofia da túnica submucosa, redução da profundidade da cripta e largura do vilão. A infecção por *T. gondii* provoca alterações nas células epiteliais e na parede do íleo durante a fase crônica.

Introdução

O *Toxoplasma gondii*, causador da toxoplasmose, apresenta ciclo sexual heterógeno facultativo (SILVA et al., 2010). Parasita intracelular obrigatório, amplamente distribuído ao redor do mundo, pertencente ao filo Apicomplexa, e que pode infectar diversos hospedeiros, inclusive o homem (SILVA, 2017). O intestino delgado é um órgão-chave no ciclo de vida do *T. gondii* e apresenta ciclos intestinais e extra intestinais do parasito. A integridade morfológica e imunológica da barreira epitelial intestinal é essencial para que o primeiro tenha o seu desenvolvimento normal e o segundo tenha limitação em sua gravidade. Quando chegam à mucosa intestinal, parasitos enfrentam uma barreira imunológica caracterizada especialmente pela presença da IgA, que desempenha um papel importante no combate a infecção oral do *T. gondii*, e uma barreira física formada pelos enterócitos e pelo muco produzido pelas células calciformes. Para vencer a barreira física, os

parasitos desenvolvem várias estratégias de aderência e invasão dos enterócitos e disseminação além do epitélio (SILVA et al., 2010).

Apesar da importância desta infecção no intestino, poucos são os estudos que avaliam as consequências da infecção sobre a parede intestinal. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da infecção pelo *Toxoplasma gondii* na fase Crônica sobre as células epiteliais e a parede do íleo em ratos infectados experimentalmente.

Materiais e métodos

Foram utilizados 10 *Rattus norvegicus Wistar* machos, com 60 dias de idade. Os animais foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos experimentais: grupo controle (n=5) (GC) e grupo infectado (n=5) (I30D) com 5000 oocistos (cepa ME-49). Após 30 dias de infecção os animais foram eutanasiados, e retirou-se o íleo para realização de técnicas histológicas. As colorações utilizadas foram: Hematoxilina e Eosina (HE) para análise da população de linfócitos intraepiteliais (LIEs) e células de Paneth, Picro Sirius para tipos de colágeno (I e III), Alcian Blue (AB) pH 1.0 (sulfomucinas) e 2.5 (sialomucinas) e Ácido Periódico de Schiff (PAS) (mucinas neutras) para células caliciformes. Foi realizado também a morfometria da parede intestinal, imagens capturadas através de microscópio de captura em aumento de 10 vezes (10x) para a morfometria da parede e 40 vezes (40x) para a quantificação de células de Paneth e células caliciformes. As imagens capturadas foram analisadas pelo programa IPWIN Application versão 4.5.0.29, e, os dados obtidos foram submetidos ao teste t com nível de significância de 5% com o auxílio do programa GraphPad Prism 5.

Resultados e Discussão

Ao analisar a tabela 1, observamos um aumento significativo de 229% de Linfócitos Intraepiteliais (LIEs) no grupo I30D. Os LIEs do intestino são importantes na barreira de infecção por via oral, pois participam da resposta imune através da liberação de várias citocinas, prevenindo a infecção aguda e a mortalidade (BUZONI-GATEL et al., 1997) e induzindo proteção por longos períodos (LEPAGE et al., 1998).

Quanto as células caliciformes houve uma redução significativa da subpopulação marcada por AB pH 1.0 no grupo I30D em relação ao grupo controle, conforme tabela 1, demonstrando uma alteração no perfil secretório de sulfomucinas. O equilíbrio na composição química do muco que recobre a mucosa pode ter sido quebrado, passando ao predomínio de muco neutro, possivelmente devido a uma resposta de proteção do epitélio intestinal (SILVA et al., 2010). Observou-se também diminuição das células de Paneth, o que leva a crer que, esse desequilíbrio nos mecanismos protetores permitem que patógenos entrem em contato direto com o epitélio e com células imunes da mucosa induzindo processos inflamatórios que resultam na cronicidade da inflamação (SILVA, 2017).

Outro achado importante, de acordo com a tabela 1, é a diminuição do colágeno tipo III, considerada uma fibrilina, esta normalmente aumenta em estágios iniciais de inflamação. Em um processo inflamatório intenso pode resultar uma diminuição, em resposta a reação inflamatória no local onde ocorre a fixação do parasito, provocando assim como resposta uma arquitetura anormal (RODRIGUES, 2018).

Tabela 1 – Média de células e colágenos do intestino.

Células	Grupos	
	GC	G30d
Caliciformes PAS	2.637,4±53	2.859,6±275,4
Caliciformes AB 1.0	3.918,8±252	3.248,4±140,5*
Caliciformes AB 2.5	2.931,6±172,6	3.146,8±140,7
Células de Paneth	420,2±3,8	261,6±39***
Linfócitos intraepiteliais	600,2±11,75	1.376,6±49,1***
Colágeno tipo I	875,42±161,6	780,26±199,7
Colágeno tipo III	1.497,42±170,6	133,58±35,8***

De acordo com a tabela 2, observou-se uma atrofia da túnica submucosa, profundidade da cripta e largura do vilo. A redução da túnica submucosa pode ser consequência da redução de colágeno do tipo III como observado. Segundo Elia & Souza 2001 apud Silva et al. 2010, a atrofia intestinal, pode ser descrita como uma característica tolerante imune resultante da cronificação de uma infecção parasitária.

Tabela 2 – Medidas da parede intestinal em micrometros.

Parâmetros	Grupos	
	GC	G30d
Parede total	52,12±6,02	47,82±1,85
Túnica muscular	6,87±1,01	5,94±0,91
Túnica submucosa	3,05±0,3	2,02±0,04**
Túnica mucosa	40,25±4,8	33,47±1,16
Altura do vilo	26,02±2,9	24,92±0,5
Profundidade da cripta	10,85±1,4	6,42±0,12*
Largura do vilo	11,53±1,7	7,07±0,6*

Conclusões

A infecção crônica por *T. gondii*, leva a alterações nas populações celulares epiteliais principalmente com aumento de linfócitos intraepiteliais e redução de células caliciformes marcadas com AB pH 1.0 e células de Paneth.

Promove atrofia da túnica submucosa principalmente pela redução do colágeno tipo III, além de alterar a morfometria das criptas e vilos.

Agradecimentos

À Fundação Araucária por financiar esta pesquisa. As minhas professoras orientadoras Dr. Nilza Cristina Buttow e Dr. Larissa Carla Lauer Schneider, por toda paciência e ensinamento. Aos meus pais Marli e Anderson por todo apoio e confiança.

Referências

BUZONI-GATEL, D. et al. Adoptive transfer of gut intraepithelial lymphocytes protects against murine infection with *Toxoplasma gondii*. **J. Immunol.**, v. 158, n. 12, p. 5883-5889, 1997.

LEPAGE, A.C. et al. Gut derived intraepithelial lymphocytes induce long term immunity against *Toxoplasma gondii*. **J. Immunol.**, v. 161, n. 9, p. 4902-4908, 1998.

RODRIGUES, C. C. **A imunização com a proteína recombinante P21 diminui a carga parasitária e reduz a fibrose no coração dos animais infectados por *Trypanosoma cruzi***. 2018. 79 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Estrutural Aplicadas, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2018.

SILVA, T. L. **Avaliação da atividade anti-inflamatória da BmooMP-alfa-I. uma metaloprotease isolada da peçonha da serpente *Bothrops moojeni* em modelo de ileite induzida por *Toxoplasma gondii***. 2017. 76f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2017.

SILVA, J.M. et al. Efeitos da infecção crônica por *Toxoplasma gondii* sobre a parede intestinal de gatos domésticos. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, Jaboticabal, v. 19, n. 1, p. 55-61, 2010.