

ANÁLISE DE MASTÓCITOS NO DUODENO DE RATOS WISTAR SUBMETIDOS A DIFERENTES TEMPOS DE INFECÇÃO AGUDA POR *Toxoplasma gondii*

Bárbara Cipulo Legabão (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Aline Rosa Trevizan (Participante/Doutoranda), Gessilda de Alcantara Nogueira de Melo (Coorientador) Débora de Mello Gonçalves Sant'Ana (Orientador), e-mail: dmgsantana@gmail.com

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

Área do conhecimento: Ciências Biológicas

Subárea: Morfologia

Palavras-chave: inflamação, sistema digestório, toxoplasmose.

Resumo:

O *Toxoplasma gondii* é o parasito intracelular obrigatório causador da toxoplasmose. Quando ingerido, atravessa a barreira intestinal provocando a migração de células da resposta imune. Dentre estas células estão os mastócitos que armazenam mediadores químicos da inflamação, envolvidos na resposta imunológica durante a infecção aguda. Por isso, o objetivo deste estudo foi analisar a população total de mastócitos no duodeno de ratos submetidos a diferentes tempos de infecção aguda. Os ratos foram distribuídos em grupo controle (GC), que recebeu solução salina, e grupos infectados, mantidos por 6 horas (G6), 12 horas (G12), 24 horas (G24), 48 horas (G48), 72 horas (G72), 7 dias (G7d) e 10 dias (G10d), que receberam suspensão contendo 5000 oocistos esporulados do parasito por via oral. Os animais foram mortos, os duodenos coletados e corados pela técnica de Azul de Toluidina, que permite a evidenciação de todos os mastócitos. Foram contados todos os mastócitos presentes na túnica mucosa. A contagem de mastócitos não demonstrou diferença significativa entre os grupos estudados. Portanto, concluímos que a infecção aguda por *T. gondii* não altera o número da população total de mastócitos no duodeno de ratos Wistar até 10 dias de infecção, o que sugere uma menor resposta inflamatória nesta fase da infecção.

Introdução

O *T. gondii* é o parasito causador da Toxoplasmose, uma das zoonoses mais difundidas pelo mundo. As principais vias de transmissão do *T. gondii* são pela ingestão de água ou alimentos contaminados por oocistos e também pela ingestão de carne crua ou malcozida contendo cistos. Quando ingeridos os oocistos liberam os parasitos para transposição intestinal. Estes se multiplicam rapidamente, invadindo qualquer célula nucleada por penetração ativa. A passagem dos parasitos pela barreira intestinal causa inflamação no trato digestório, levando a migração de células da resposta imune para o local de entrada do parasito (WEISS; KIM, 2007). Dentre estas células estão os mastócitos que normalmente estão em locais expostos

ao ambiente, tais como a mucosa intestinal, e possuem grânulos contendo mediadores pré-formados, como aminas vasoativas e proteases, permitindo uma resposta imune imediata diante da invasão por um patógeno (BISCHOFF; KRAMER, 2007). Várias alterações estruturais e nervosas têm sido demonstradas no intestino de animais submetidos a infecção aguda por *T. gondii* (TREVIZAN et al., 2018). No entanto, o número de mastócitos ainda não foi avaliado. Por isso, o objetivo foi analisar os mastócitos totais no duodeno de ratos submetidos a diferentes tempos de infecção aguda por *T. gondii*.

Materiais e Métodos

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UEM (protocolo 013/2013). Para realização dessa pesquisa utilizamos 40 ratos Wistar machos com 60 dias de idade provenientes do Biotério Central da UEM. Os ratos foram distribuídos aleatoriamente em grupo controle (GC) e em grupos inoculados por *T. gondii* e mantidos por 6 horas (G6), 12 horas (G12), 24 horas (G24), 48 horas (G48), 72 horas (G72), 7 dias (G7d) e 10 dias (G10d).

Cada rato dos grupos infectados recebeu por via oral 5000 oocistos esporulados de *T. gondii* (cepa ME-49, genótipo II) e ressuspendidos em 1 mL de solução salina estéril, enquanto os animais do GC receberam apenas solução salina.

Após os períodos experimentais, os ratos foram submetidos à eutanásia por aprofundamento anestésico com vapor de halotano, foi feita a laparotomia vertical e o duodeno foi coletado e processado.

Foram coletados de todos os animais, anéis de dois centímetros do duodeno, fixados em isopor com auxílio de espinhos e colocados no fixador Bouin por 6 horas. Os duodenos foram incluídos em parafina e os blocos foram cortados em micrótomo para obtenção de cortes transversais semi-seriados de 4 μm . Esses cortes passaram por baterias de desparafinização e foram corados pela técnica de Azul de Toluidina, que permite a evidenciação de mastócitos totais. A contagem dessas células foi feita diretamente no microscópio, realizando a contagem de todos os mastócitos corados presentes na túnica mucosa de 100 campos microscópicos observados na lente objetiva de 100x. O número de mastócitos totais contados para cada animal foi convertido para mm^2 .

A análise estatística foi feita no Bioestat 5.1. Os dados apresentaram distribuição normal e por isso foram expressos como média \pm desvio padrão. Foi realizado o teste de variância Anova de um critério e os grupos foram comparados entre os si pelo teste Tukey. Foi considerado um nível de significância de 5%.

Resultados e Discussão

A contagem de mastócitos totais na mucosa do duodeno não demonstrou diferença significativa nos grupos estudados. Apesar de não ter sido observada diferença significativa na contagem de mastócitos, é possível evidenciar um discreto aumento nos valores dessas células em alguns grupos infectados (Figura 1). Os mastócitos são células que residem na mucosa intestinal, e quando ativadas secretam substâncias, como a serotonina, para combater o agente invasor (TURNER et al., 2014). Na infecção por *T. gondii* os mastócitos participam da imunidade inata do

organismo, e são capazes de manter a regulação da resposta imune (FERREIRA, 2005). Portanto, é possível observar que os mastócitos auxiliam na regulação da resposta imunológica do hospedeiro, para que o parasito seja combatido sem causar maiores danos ao tecido, o que pode explicar o discreto aumento não significativo dos mastócitos totais no duodeno diante da infecção aguda por *T. gondii*.

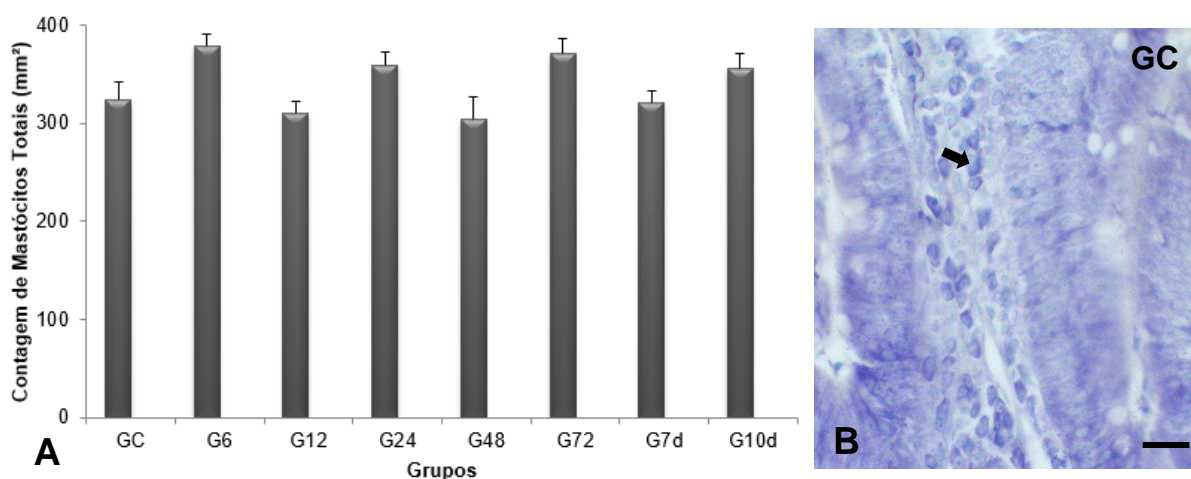


Figura 1. A - Contagem total de mastócitos por mm² no duodeno de ratos do GC e dos grupos infectados por *T. gondii*. Não houve diferença significativa entre os grupos estudados. **B** - Fotomicrografia representando mastócitos totais corados pela técnica de Azul de Toluidina no duodeno de ratos do GC. Objeto 40x. Barra 50 µm.

Conclusões

A infecção aguda por oocistos de *T. gondii* não altera significativamente o número de mastócitos totais na túnica mucosa do duodeno de ratos Wistar até 10 dias de infecção, o que indica uma menor resposta inflamatória e menores danos teciduais diante da entrada do parasito no intestino.

Agradecimentos

A CNPq pela bolsa de iniciação científica e ao Departamento de Ciências Morfológicas da UEM onde o trabalho foi desenvolvido.

Referências

BISCHOFF, S.C.; KRAMER, S. Human mast cells, bactéria, and intestinal immunity. *Immunological Reviews*, v. 217, p. 329-337, 2007.

FERREIRA, G.L.S. **Mastócitos de camundongos BALB/c e C57BL/6 e a susceptibilidade a infecção por *Toxoplasma gondii* (cepas RH e ME-49)**. 2005. 135 f. Tese de Doutorado em Ciências Biológicas - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2005.

TREVIZAN, A.R. et al. Acute *Toxoplasma gondii* infection alters the number of neurons and the proportion of enteric glial cells in the duodenum in Wistar rats. **Neurogastroenterology & Motility**, v. 31, n. 3, p.13523-13525, 2018.

TURNER, M.D. et al. Cytokines and chemokines: At the crossroads of cell signalling and inflammatory disease. **Biochimica et Biophysica Acta Molecular Cell Research**, v. 1843, p.2563-2582, 2014.

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