

ANÁLISE QUANTITATIVA DE CÉLULAS CALICIFORMES DE DUODENO DE CAMUNDONGOS INFECTADOS COM *Toxoplasma gondii*

Isabela Alessandra Mariano (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Cristiany Schultz, Nelson Raimundo de Miranda Júnior, Débora de Mello Gonçalves Sant'Ana, Gessilda de Alcântara Nogueira de Melo (Orientador), e-mail: ganmelo2@uem.br

Universidade Estadual de Maringá / CCS-DAB Departamento de Análises Clínicas e Biomedicina- UEM/Maringá, PR.

Área e subárea do CNPq: Ciências da Saúde, Farmácia

Palavras-chave: protozoário, sialomucinas, intestino

Resumo

O protozoário *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*) é amplamente difundido e acomete grande percentual da população brasileira causando diversos efeitos no sistema digestório. O parasito pode desencadear inflamação na mucosa que afetam as células do epitélio intestinal. O atual tratamento da infecção pelo protozoário não é eficaz, pois gera efeitos danosos, logo, é de extrema importância, a busca por novos fármacos. Dentre as possíveis opções terapêuticas, as estatinas, além de inibirem a biossíntese de colesterol interferem na biossíntese de isoprenóides no parasito apresentando ação anti-*Toxoplasma*. Sendo assim, o objetivo desse estudo foi investigar o efeito da infecção pelo *T. gondii* e do tratamento com a rosuvastatina sobre as células caliciformes do duodeno de camundongos infectados. Para este estudo, utilizamos 20 camundongos Swiss fêmeas com 21 dias de idade distribuídos em 4 grupos (n=5): grupo controle (GC) que recebeu solução salina, grupo tratado com rosuvastatina 40mg/kg/dia (GTR), grupo infectado (GI) e grupo infectado com 25-30 cistos do parasito (cepa ME-49) e tratado com rosuvastatina (GIR). O material coletado foi cortado em seções transversais semi-seriadas de 4µm de espessura e coradas nas seguintes técnicas histológicas: Alcian-blue pH 1,0, 2,5 e ácido periódico de Schiff para identificação e quantificação das células caliciformes produtoras de sialomucinas ácidas e neutras. Os resultados obtidos mostram que a rosuvastatina promoveu alterações na quantidade de células caliciformes no duodeno de camundongos Swiss.

Introdução

O protozoário *T. gondii* é o agente causador da toxoplasmose, uma das zoonoses mais endêmicas no mundo. Trata-se de um parasito intracelular obrigatório cuja disseminação varia de um país para outro de 5-80% da população humana. Após a infecção do hospedeiro o *T. gondii* atravessa a barreira intestinal para se espalhar pelo organismo, causando um processo inflamatório na mucosa intestinal (TREVIZAN et al., 2016). O atual tratamento da toxoplasmose não é eficaz e acarreta efeitos adversos, assim, é de extrema importância, a busca por novos fármacos. Dentre as novas opções terapêuticas estão as estatinas que além de inibirem a biossíntese de colesterol interferem na biossíntese de isoprenóides

podendo agir contra o parasito apresentando ação anti-*Toxoplasma*. A rosuvastatina, uma estatina sintética, mostrou resultados promissores no tratamento de parasitoses (SANFELICE et al., 2017). Não encontramos relatos na literatura sobre estudos da ação de rosuvastatina na infecção pelo *T. gondii* (TREVIZAN et al., 2016). Por isso, o objetivo desse estudo foi investigar o efeito da infecção pelo *T. gondii* e do tratamento com a rosuvastatina sobre as células caliciformes do duodeno de camundongos infectados.

Materiais e métodos

Este trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética no uso de Animais (CEUA) sob registro 4804/2017 da Universidade Estadual de Maringá. Utilizamos 20 camundongos *Swiss* fêmeas com 21 dias de idade distribuídos em 4 grupos (n=05): controle (GC) que receberam solução salina, grupo tratado com rosuvastatina (GTR) que recebeu a dose de 40mg/kg/dia por via oral, grupo infectado (GI) que recebeu 25-30 cistos do parasito (cepa ME-49) por via oral e grupo infectado e tratado com 40mg/kg/dia de rosuvastatina (GIR). Após o período de 40 dias de infecção os animais foram submetidos a eutanásia, os duodenos coletados e processados de acordo com as técnicas histológicas de: ácido periódico-Schiff; Alcian Blue (AB) pH1,0 e pH2,5 para análise quantitativa de células caliciformes. Os dados foram organizados e analisados no software BioEstat 5.0[®]. Os dados apresentaram distribuição normal e foi utilizada análise de variância (ANOVA) seguido do teste de Tukey e apresentados como média e erro padrão com auxílio do Software GraphPad Prism[®] version 5.01. Os valores e * p <0,05 foram considerados estatisticamente significativo.

Resultados e Discussão

Nossos resultados demonstraram o aumento significativo no número de células caliciformes coradas na técnica histológica AB pH1,0 no GIR (27,83±1,58), GTR (25,62±1,42) e GI (20,60±0,47) quando comparados ao GC (22,31±0,9) (Figura1A). Segundo Andrade e colaboradores (2015) o epitélio intestinal é composto por células especializadas formando uma barreira física e bioquímica contra micro-organismos comensais e patogênicos, corroborando com nossos resultados. Esta barreira então, atua como mecanismos de defesa, contra infecções e processos inflamatórios. Além disso, observamos aumento de células caliciformes na técnica histológica AB pH2,5 nos seguintes grupos: GIR (35,43±1,13), GTR (34,21±3,39) e no GI (26,65±0,43) se comparado ao GC (29,08±1,14) (Figura 1B). Estes valores sugerem alterações na função da barreira epitelial, o que pode levar ao aumento da permeabilidade intestinal e translocação bacteriana através da mucosa intestinal (BARRET, 2015).

Os valores foram significativos no número de células caliciformes coradas na técnica histológica PAS grupos GTR (33,97±2,36), GIR (27,21±1,50) e GI (27,96±1,40) ao compararmos com o GC (24,28±0,69) (Figura 1C). Mucinas neutras, são um subtipo predominante expresso na mucosa intestinal, indicando maior produção de muco intestinal e proteção contra agentes patógenos no intestino delgado (DEPLANKE et al., 2001). Trevizan e colaboradores (2016), também observaram um aumento de

células que secretam mucinas ácidas no grupo infectado se comparado ao GC, e concluíram que o aumento das mesmas deixa o muco mais fluido e conseqüentemente, auxilia na expulsão do parasito. E nas primeiras horas de infecção, as mucinas neutras também aumentaram, caracterizando uma maior densidade de muco e proteção contra a invasão do parasito e conseqüentemente microrganismos oportunistas.

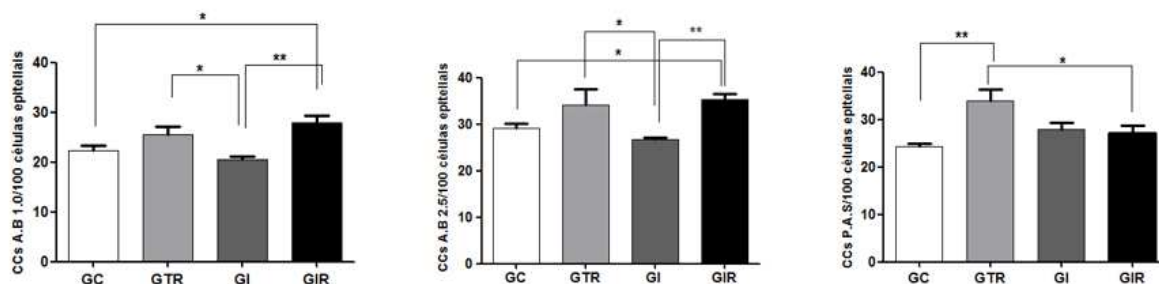


Figura I: Número de células caliciformes presentes em 100 epiteliais no duodeno de camundongos *Swiss*. * $p < 0,05$. (GTR) Grupo Tratado Rosuvastatina, (GI) Grupo Infectado e (GIR) Grupo Infectado Rosuvastatina, (GC) Grupo Controle

Conclusões

Podemos concluir por meio deste estudo que a rosuvastatina na concentração de 40mg/kg/dia promove sim alterações na quantidade de células caliciformes produtoras de sialomucinas ácidas e neutras no duodeno de camundongos *Swiss* não infectados e infectados por *Toxoplasma gondii*.

Agradecimentos

A Fundação Araucária, ao Departamento de Análises Clínicas e Biomedicina e ao Departamento de Ciências Morfológicas da Universidade Estadual de Maringá onde o trabalho foi desenvolvido.

Referências

ANDRADE, M. E.; ARAÚJO, R. S.; DE BARROS, P. A.; SOARES, A. D.; ABRANTES, F. A.; GENEROSO, S. de V.; FERNANDES, S. O.; CARDOSO, V. N. The role of immunomodulators on intestinal barrier homeostasis in experimental models. **Elsevier Ltd and European Society for Clinical Nutrition and Metabolism**. v. 34, n. 6, p. 1080-1087, 2015.

BARRETT, K. E. **Fisiologia Gastrointestinal**. 2. ed. Porto Alegre: AMGH Editora, 2015.

DEPLANCKE, B.; GASKINS, H.R. Microbial modulation of innate defense: goblet cells and the intestinal mucus layer. **American Journal of Clinical Nutrition**.v.73, 2001.



SANFELICE, A. R.; MACHADO, L. F.; BOSQUI, R. L.; SAPLA, M. M. M.; PELLISSIER, T. F.; DALEVEDO, A. G.; IORIS, D.; REIS, F. G.; PANAGIO A. L.; NAVARRO, T. I.; BORDIGNON J.; COSTA, C. I.; PAVANELLI, W. R.; ALMEIDA, S. R.; COSTA, N. I. Activity of rosuvastatin in tachyzoites of *Toxoplasma gondii* (RH strain) in HeLa cells. **Experimental Parasitology**, v.181, p.75-81, 2017.

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