

ANÁLISE DE MASTÓCITOS TOTAIS NO JEJUNO DE HAMSTERS INFECTADOS PELA CEPA 2311 DE *Leishmania (Viannia) brasiliensis*

Henrique Cazanti Sona (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Lainy Leiny de Lima, Maria José Pastre (Co-orientadora), Débora de Mello Gonçalves Sant'Ana (Orientadora), e-mail: henriquesonac1@uem.br.

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

Área e subárea: Parasitologia; protozoologia de parasitos

Palavras-chave: Intestino delgado, doença parasitária, mastocitose

Resumo:

A leishmaniose é uma doença disseminada por todo planeta e, no Brasil, causada especialmente pela *Leishmania (Viannia) brasiliensis*. Estudos prévios mostraram comprometimento do intestino em leishmaniose experimental por esta espécie. O jejuno, parte do intestino delgado especializado em absorção, possui vilos e criptas, e, na lâmina própria células imunes. O mastócito está na linha de frente do intestino contra infecções. Este estudo objetivou quantificar os mastócitos presentes no jejuno de hamsters (*Mesocricetus auratus*) infectados por *Leishmania (Viannia) brasiliensis*. Para isso foram utilizados 8 fêmeas divididas em dois grupos (n=4), sendo um grupo controle (GC) e outro infectado (GI). Após 120 dias os animais foram submetidos a eutanásia e o jejuno de cada animal coletado, fixados e corados por Azul de Toluidina e Fucsina G. A contagem foi realizada em microscópio óptico em 100 campos, na objetiva de 100x. A infecção provocou o aumento no número de mastócitos ($p < 0,005$), possivelmente como parte da resposta imune intestinal a presença local do parasito.

Introdução

A leishmaniose é uma das principais antroponoses no Brasil. É causada pelo parasito do gênero *Leishmania*, protozoário com ciclo de vida digenético e intracelular obrigatório. Transmitidos pela picada de insetos fêmeas da subfamília Phlebotominae (BRASIL, 2017).

Os órgãos de saúde dividem a leishmaniose em duas variedades, a Leishmaniose visceral (LV), que é caracterizada pela perda de peso, hepatomegalia e esplenomegalia (OMS, 2020) e a leishmaniose tegumentar americana (LTA), que pode se manifestar na forma mucocutânea (LM), a qual exterioriza úlceras nasobucofaríngeas (OMS,2020); forma cutânea (LC),

apresenta ferida com bordas elevadas no ponto de inoculação do parasito (OMS, 2020); e a forma disseminada, que difere por exibir diversas lesões pelo corpo. A LTA é causada principalmente pela espécie *Leishmania (Viannia) braziliensis* (BRASIL, 2017).

O parasito se encontra na forma promastigota no tubo digestivo do inseto vetor passando pelo processo de metacicloênese, o qual as transformam em promastigotas metacíclicas, forma infectante que se desloca para a cavidade bucal e é transmitida no próximo repasso sanguíneo. Assim que é inoculado ocorre o recrutamento de macrófagos e células dendríticas no hospedeiro, e, a *Leishmania* é fagocitada. Nos fagócitos o parasito se modifica em amastigota e é transportado e utiliza das vias linfáticas e sanguíneas para se difundir por outros órgãos (BRASIL, 2017).

Apesar de pouco descrito o intestino também pode ser um órgão alvo deste parasito, especialmente por se tratar de um órgão com grande papel imune. Abaixo do epitélio intestinal se encontra a lâmina própria (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2017) caracterizada por diversas células imunes dentre as quais o mastócito. Este é uma célula preenchida por grânulos secretores de mediadores químicos inflamatórios (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2017) envolvido em episódios infecciosos. Sendo uma célula de grande importância na detecção e combate de patógenos por desencadear sinalizações que iniciam a resposta imune do intestino e impedir maiores danos (BISCHOFF, 2016). Tendo em vista que são escassos os estudos que analisam a quantidade de mastócitos no jejuno sobre infecção de leishmaniose e mudança intestinais que essa célula pode causar, este trabalho teve por objetivo quantificar os mastócitos presentes no jejuno de hamsters (*Mesocricetus auratus*) infectados por *Leishmania (Viannia) braziliensis*

Materiais e métodos

O experimento foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Maringá (protocolo 7587260416). Foi utilizado a cepa 2311 de *Leishmania (Viannia) braziliensis*, isolado de paciente pelo Laboratório de Ensino e Pesquisa em Análises Clínicas (LEPAC) da Universidade Estadual de Maringá e identificada no CLIOC – Coleção de Leishmania do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil. Foram usados 8 hamsters dourados fêmeas (n=4) obtidos no Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá.

Os hamsters foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos: grupo controle (GC) e grupo infectado que recebeu 2×10^7 formas promastigotas do isolado MHOM / BR / 2003/2311 de *L. (V.) braziliensis* no membro posterior traseiro. Todos animais foram mantidos em biotério recebendo ração padrão para roedores (Nuvilab, Colombo, PR, BR) e água filtrada.

Após 120 dias todos os animais foram submetidos a eutanásia por vapor de halotano. Posteriormente, realizado uma laparotomia vertical na qual foi coletado o jejuno e fixados em Bouin por 6 horas. Passaram por processo de

emblocamento em parafina para obtenção de cortes transversais semi-seriados em 4µm feito em micrótomo e depositado em lâminas de vidro. As lâminas passaram por processo de desparafinização e corados por Azul de Toluidina e Fucsina G que evidencia mastócitos. Foram contatos 100 campos microscópios na objetiva de 100x e expressos por mm². Foi realizado teste D'Agostinho-Pearson que verificou a distribuição dos dados, apresentados como média ± erro padrão e comparados entre grupos pelo teste *t* de Student considerado significância de 5%.

Resultados e Discussão

A contagem dos mastócitos totais demonstrou aumento significativo no grupo infectado pela cepa 2311 de *L. (V.) brasiliensis* em comparação com o grupo controle (GC). O gráfico exibe a diferença do grupo controle (374.0±23.41 mastócitos) e o grupo infectado (503.4±15.49 mastócitos) utilizando teste *t*, sendo $p < 0,05$, como mostrado na figura 1.

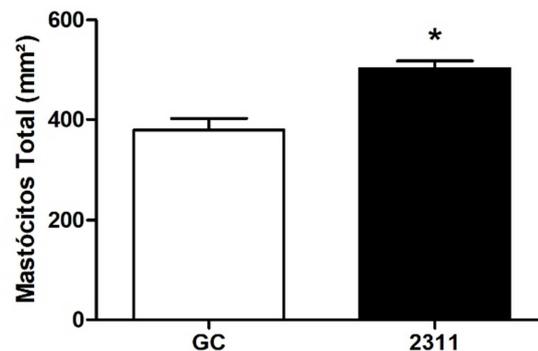


Figura 1 – Número total de mastócitos em mm² do grupo controle (GC) e grupo infectado com a cepa 2311. Coloração de Azul de Toluidina e Fucsina G. * indica aumento significativo ($p < 0,05$).

Quando a *Leishmania* é inoculada, inicia-se a resposta imune no hospedeiro recrutando macrófagos para fagocitar o patógeno, porém o parasito consegue burlar este processo e difundir-se para todo o corpo por meio de vias sanguíneas e linfáticas (CONTER et al, 2015).

Assim que o parasito chega ao intestino, inicia-se a resposta imune inata que recruta mastócitos e libera uma serie de compostos provocando a resposta inflamatória acentuada (BISCHOFF, 2016).

Deste modo a infecção por *Leishmania (Viannia) brasiliensis* pode chegar ao intestino por meio de vias linfáticas e sanguíneas sendo mediada por mastócitos com a função de promover o recrutamento celular. Estas células liberam grânulos de histamina, amina e serotonina que auxiliam na barreira intestinal (BISCHOFF, 2016), assim o maior número de mastócitos na mucosa intestinal está associado a resposta imune do órgão perante a infecção de *L. (V.) brasiliensis*.

Conclusões

A infecção de hamsters pela cepa 2311 de *Leishmania (Viannia) brasiliensis* demonstrou que o parasito se disseminou para órgãos internos, como o jejuno, causando o aumento significativo na quantidade de mastócitos.

Agradecimentos

Agradeço a CAPES, CNPq, UEM, PBF, DCM e equipe de neurogastroenterologia.

Referências

BISCHOFF, S. C. Mast cells in gastrointestinal disorders. **European Journal of Pharmacology**, v.778, n.5, p.139-145, 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana**. Brasília: Ministério da Saúde. 2017.

CONTER, C. C.; ABREU, H. C. N.; PEDROSO, R. B.; LONARDONI, M. V. C.; SILVEIRA, T. G. V.; ARISTIDES, S. M. A. Detection of *Leishmania (Viannia)* DNA in leucocytes from the blood of patients with cutaneous leishmaniasis. **Res. Soc. Bras. Med. Trop**, v.48, n.5, sept./oct. 2015.

JUNQUEIRA, L. C. U.; CARNEIRO, J.; ABRAHAMSOHN, P. **Histologia Básica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017.

Organização Mundial da Saúde, Leishmaniasis, (2020). Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/q-a-detail/leishmaniasis>>. Acessado em: 24 de julho 2020.