

## **ANÁLISE MORFOLÓGICA DAS CÉLULAS ABSORTIVAS PRESENTES NO INTESTINO DE *Mesocricetus auratus* INFECTADOS POR DIFERENTES CEPAS DE *Leishmania (Viannia) braziliensis***

Bruna Cristina Pagliarini (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Amanda Gubert Alves dos Santos (Doutoranda), Thais Gomes Verzignassi Silveira (Docente), Lainy Leiny de Lima (Coorientadora), Debora de Mello Gonçalves Sant Ana (Orientadora), e-mail: dmgsana@uem.br

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas,  
Departamento de Ciências Morfológicas/Maringá, PR.

### **Morfologia Histologia**

**Palavras-chave:** leishmaniose, enterócitos, trato gastrointestinal

### **Resumo:**

A leishmaniose tegumentar americana (LTA) é uma doença de caráter zoonótico que acomete o homem e diversas espécies de animais silvestres e domésticos, podendo se manifestar através de diferentes formas clínicas. Há relatos da migração de formas tegumentares para órgãos secundários a picada do inseto. Contudo, não há estudos prévios sobre os efeitos da infecção causada por diferentes isolados de *Leishmania (Viannia) braziliensis* sobre o jejuno e colón de roedores, assim, o objetivo deste estudo foi compreender o efeito da infecção por este parasito, sobre as células absortivas do intestino delgado e grosso de hamsters. Foram utilizadas hamsters fêmeas distribuídas aleatoriamente em 12 grupos (n=4), 6 grupos com 90 dias e 6 grupos com 120 dias de infecção, um grupo representando o grupo controle (GC) e cinco grupos representando os grupos infectados por diferentes isolados do protozoário para cada tempo de infecção. Após o período de infecção, os hamsters foram submetidos à eutanásia e foi coletado o jejuno e o colón para realização de técnicas histológicas. Foram realizadas a medida da altura e largura de 80 enterócitos e de seus respectivos núcleos. Os dados foram analisados estatisticamente  $p < 0,05$ . Foram observadas alterações morfológicas nas células em estudo. Houve aumento significativo na altura e largura dos núcleos e largura dos enterócitos.

### **Introdução**

As leishmanioses são antropozoonoses consideradas um grande problema de saúde pública, representam um complexo de doenças com importante espectro clínico e diversidade epidemiológica. A *Leishmania (Viannia) braziliensis* (LVB) foi a primeira espécie de *Leishmania* descrita e atribuída como agente etiológico da Leishmania Tegumentar Americana (LTA). É a

mais importante, não só no Brasil, mas em toda a América Latina (BRASIL, 2017). As principais manifestações observadas nos pacientes com LTA podem ser classificadas de acordo com seus aspectos clínicos, patológicos e imunológicos (NEVES et al., 2016). As formas clínicas encontradas em pacientes com LTA, são agrupadas em três tipos básicos: leishmaniose cutânea (LC), leishmaniose cutaneomucosa (LCM) e leishmaniose cutânea difusa (LCD). A transmissão ocorre pela picada de insetos hematófagos pertencentes ao gênero *Lutzomyia* e a sua disseminação se dá por metástase via hematogênica e linfática, para as mucosas da nasofaringe, com destruição desses tecidos (NEVES et al., 2016). Assim, o parasito *Leishmania* consegue migrar para órgãos secundários ao local de inoculação num processo chamado visceralização. Foram observadas no estudo de Gomes e Silva (2013), alterações histopatológicas no baço, fígado e linfonodo causadas pela LVB e Santos e colaboradores (2018) observaram presença do parasito no linfonodo mesentérico e íleo. Desse modo, o objetivo deste trabalho foi compreender os efeitos da infecção sobre os enterócitos e seus núcleos do intestino de hamsters (*Mesocricetus auratus*) infectados via subcutânea por diferentes isolados de LVB.

## Materiais e métodos

O protocolo experimental foi aprovado sob o parecer de número 7587260416 pela Comissão de Ética no uso de Animais da Universidade Estadual de Maringá (CEUA/UEM). Neste experimento foram utilizadas quatro cepas da espécie *Leishmania (Viannia) braziliensis*, isoladas de pacientes e mantidas pelo Laboratório de Ensino e Pesquisa em Análises Clínicas (LEPAC), da UEM e identificadas no CLIOC – Coleção de Leishmania do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil, MHOM/BR/2000/1655 (1655), MHOM/BR/2003/2311 (2311), MHOM/BR/2003/2314 (2314) e MHOM/BR/2009/3476 (3476), e uma cepa padrão MHOM/BR/1975/M2903 (2903).

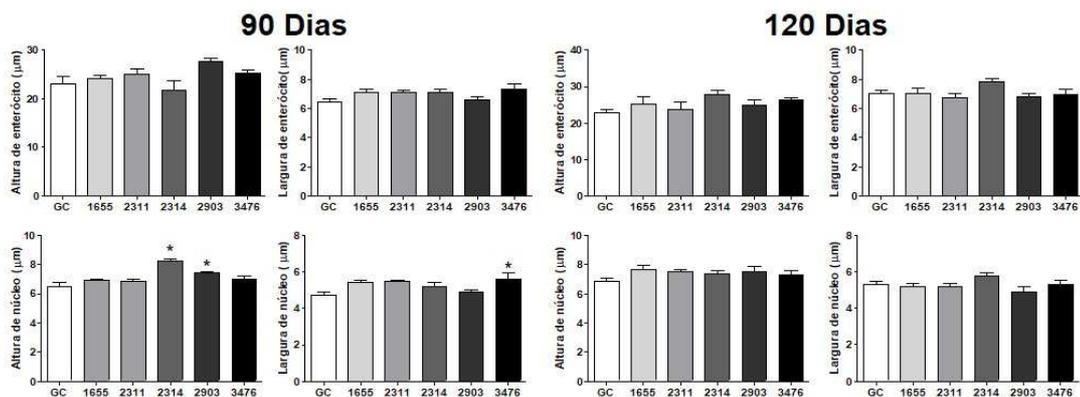
Os animais do estudo, foram hamsters fêmeas, da espécie *Mesocricetus auratus*, linhagem Dourada, com aproximadamente 90 dias de idade provenientes do Biotério da UEM. As hamsters foram experimentalmente infectadas com 50µL ( $2 \times 10^7$ ) de promastigotas dos isolados de *L. (V.) braziliensis*, no dorso do membro posterior esquerdo. Os animais foram distribuídos em 6 grupos para cada tempo de infecção, 90 e 120 dias, um grupo controle e 5 infectados. Depois de infectados, os animais foram mantidos em biotério climatizado, com ração balanceada e água *ad libitum*.

Após o período de 90 e 120 dias de infecção, as hamster foram submetidos à eutanásia por aprofundamento anestésico com vapor de halotano, em seguida foi realizada a laparotomia e coletado o jejuno e o cólon. Os seguimentos coletados foram cortados em cortes transversais semi seriados de 4µm, desparafinados e corados pela técnica de Hematoxilina e Eosina (HE), onde foi realizada a captura e mensuração dos enterócitos e seus respectivos núcleos.

Foram realizadas a medida da altura e largura de 80 enterócitos, assim como altura e largura de seus respectivos núcleos. Para isso foram capturadas 16 imagens de cada fragmento do intestino, sendo no total, 4 cortes, 1 imagem/quadrante/corte, coradas por HE. Todos os dados tiveram distribuição normal e foram representados pela média  $\pm$  erro padrão e comparados entre os grupos, usando ANOVA. Em todos os testes foi considerado um nível de significância de 5%.

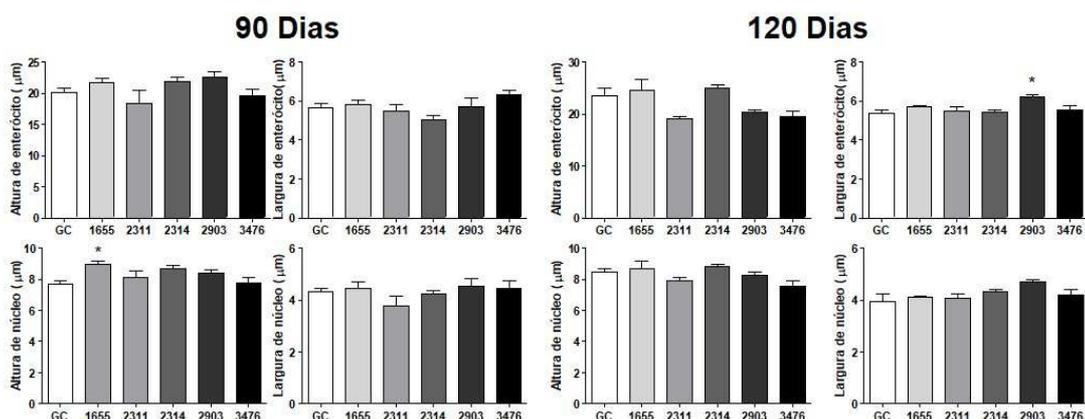
## Resultados e Discussão

No jejuno dos animais com 90 dias de infecção, observamos aumento significativo na altura dos núcleos dos animais pertencentes aos grupos 2314 e 2903, se comparado ao GC. E aumento significativo da largura de núcleos no grupo 3476 se comparado ao GC. Não foi observado diferenças com 120 dias de infecção em nenhum dos parâmetros avaliados para jejuno (figura 1).



**Figura 1.** Altura e largura média ( $\mu\text{m}$ ) de enterócitos e seus núcleos presentes no jejuno por diferentes cepas de *Leishmania (Viannia) braziliensis* (1655, 2311, 2314, 2903 e 3476), comparadas ao grupo controle (GC) nos períodos de 90 e 120 dias de infecção. \*indica diferença significativa se comparado ao GC.

No cólon dos animais com 90 dias de infecção, observamos aumento significativo na altura dos núcleos dos animais pertencentes ao grupo 1655, se comparado ao GC. E com 120 dias de infecção, aumento na largura de enterócitos do grupo 2903 se comparado ao não infectado (figura 2).



**Figura 2.** Altura e largura média ( $\mu\text{m}$ ) de enterócitos e seus núcleos presentes no cólon por diferentes cepas de *Leishmania (Viannia) braziliensis* (1655, 2311, 2314, 2903 e 3476), comparadas ao grupo controle (GC) nos períodos de 90 e 120 dias de infecção. \*indica diferença significativa se comparado ao GC.

Os enterócitos, possuem papel importante na absorção de nutrientes durante a digestão e são um dos tipos celulares mais numerosos no epitélio intestinal (JUNQUEIRA et al., 2017). Santos e colaboradores (2018) mostraram que o parasito *L. (V.) braziliensis* não se restringiu ao local do inóculo, migrando para o intestino e causando alterações morfológicas, como visto em nossos resultados.

## Conclusões

A infecção por diferentes isolados de *L. (V.) braziliensis* promoveram alterações morfológicas nos enterócitos e seus respectivos núcleos do jejuno e cólon de hamsters. Essas alterações podem ser devido a não restrição do parasito ao local de inoculação.

## Agradecimentos

Agradeço à CAPES, ao CNPq e a Fundação Araucária, pelo apoio financeiro e ao DCM e PGB da Universidade Estadual de Maringá, pela infraestrutura e apoio.

## Referências

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

GOMES-SILVA, J.G. et al. Golden hamster (*Mesocricetus auratus*) as an experimental model for *Leishmania (Viannia) braziliensis* infection, **Parasitology** 140 771–779, 2013.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J.; ABRAHAMSOHN, P. **Histologia básica:** texto e atlas. 13. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017.

NEVES, D.P. et al. **Parasitologia Humana.** 13. ed. São Paulo: Atheneu, 2016.

SANTOS, A. G. A. et al. Insights of *Leishmania (Viannia) braziliensis* infection in Golden hamster (*Mesocricetus auratus*) intestine. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, 106, 1624–1632, 2018.