

## ANÁLISE DE MASTÓCITOS SEROTONINÉRGICOS NO JEJUNO DE HAMSTER INFECTADOS COM *Leishmania (Viannia) braziliensis*

Lucas Antônio da Silva Guerra (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Lainy Leiny de Lima, Aline Rosa Trevizan (coorientadora), Debora de Mello Gonçalves Sant' Ana (Orientador), e-mail: ra108078@uem.br

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

**Área do conhecimento:** Morfologia

**Subárea:** Histologia

**Palavras-chave:** leishmaniose, serotonina, sistema digestório

### Resumo:

A leishmaniose é uma protozoonose amplamente distribuída pelo mundo. Sua transmissão ocorre durante o repasto sanguíneo do vetor pertencente ao gênero *Lutzomyia*. A *Leishmania (Viannia) braziliensis* é considerada endêmica no Brasil, ocorrendo em todos os estados brasileiros. Hospedeiros infectados apresentam lesões em diversos órgãos, incluindo o trato gastrointestinal que acumula funções digestivas e imunes. Os mastócitos serotoninérgicos são células secretoras de 5-Hidroxitriptamina (5-HT), e exercem papel na resposta imunológica gastrointestinal. O objetivo desse trabalho foi quantificar os mastócitos serotoninérgicos imunorreativos (mastócitos 5-HT-IR) no jejuno de hamster (*Mesocricetus auratus*), infectados por *Leishmania (Viannia) braziliensis*, após 90 dias. Os animais (n=4) foram infectados com a cepa 2311, onde, o grupo infectado recebeu 50 µL de suspensão com formas promastigotas ( $2 \times 10^7$ ) e o grupo controle (GC) recebeu solução salina no membro posterior esquerdo. Os animais foram submetidos a eutanásia e o jejuno coletado, em seguida, foi realizada a técnica de imunohistoquímica que evidencia os mastócitos 5-HT-IR. Não foram observadas variações significativas no número de mastócitos, portanto concluímos que este grupo de células, residentes na mucosa intestinal, não são afetadas por este tipo de parasito no modelo experimental utilizado.

### Introdução:

A leishmaniose tegumentar é uma doença tropical negligenciada, constituindo um problema de saúde pública mundial, possui como agente etiológico, protozoários do gênero *Leishmania*. Sua transmissão ocorre durante o repasto sanguíneo das fêmeas do inseto *Lutzomyia*, que inoculam o parasito na forma de promastigotas metacíclicas, dando início ao ciclo biológico (NEVES, 2016).

A Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) pode se manifestar como leishmaniose cutânea (LC), leishmaniose mucocutânea (LMC), leishmaniose cutânea difusa (LCD) e leishmaniose cutânea disseminada (LCDD), causando lesões na pele e/ou nas mucosas oral e nasofaríngea (FERNANDES *et al.*, 2016).

Estudo recente atestou que o parasito não se restringe à periferia, podendo migrar e atingir órgão internos, como o trato gastrointestinal (TGI) (SANTOS *et al.*, 2018). O TGI, possui em sua composição variados tipos de células, dentre elas os mastócitos que localizam-se nas superfícies mucosas e desempenham papel fundamental nas reações inflamatórias agudas, secretando grânulos contendo mediadores pré-formados, modulando a resposta imune contra bactérias, vírus e parasitos (SIGRID, 2007).

Os mastócitos serotoninérgicos são uma subpopulação de mastócitos, e quando degranulados secretam serotonina (5-hidroxitriptamina; 5-HT), um importante neurotransmissor para neurônios do sistema nervoso central e entérico que reduz os potenciais pós-sinápticos excitatórios e influencia na motilidade e homeostase intestinal (SIKANDER, RANA e PRASAD, 2009).

Deste modo, objetivou-se quantificar a subpopulação de mastócitos que secretam serotonina presentes no jejuno de hamster (*Mesocricetus auratus*) após 90 dias de infecção pela cepa MHOM/BR/2003/2311 de *Leishmania (Viannia) braziliensis*.

## **Materiais e métodos:**

### *Delineamento Experimental*

Todos os procedimentos experimentais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Maringá (CEUA/UEM) sob nº 7587260416. Foram utilizados 8 hamsters fêmeas, da espécie *Mesocricetus auratus*, linhagem Dourada (n=4), provenientes do Biotério da Universidade Estadual de Maringá. Onde, de forma randômica foram distribuídas em dois grupos distintos, sendo um grupo infectado (2311) e um controle (GC). As hamsters receberam 50µl ( $2 \times 10^7$ ) de formas promastigotas dos isolados de *Leishmania (Viannia) braziliensis*, no dorso do membro posterior esquerdo. A cepa utilizada de *L. (V) braziliensis* foi a MHOM/BR/2003/2311 (2311), advinda de pacientes tratados no Laboratório de Ensino e Pesquisa em Análises Clínicas (LEPAC) da Universidade Estadual de Maringá (UEM) e identificadas no CLIOC – Coleção de Leishmania do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil.

### *Eutanásia e Coleta de Amostras*

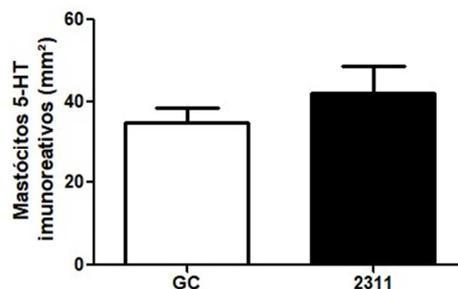
Os hamsters foram submetidos a eutanásia por meio de aprofundamento anestésico por vapor de halotano, em seguida realizada a laparotomia para a coleta do jejuno. Os fragmentos de intestino foram incluídos em parafina, cortados em micrótomo e dispostos em lâminas (4 cortes transversais semi-seriados de 4 µm por lâmina/animal).

### Imunohistoquímica 5-HT e análise estatística

Os cortes foram desparafinizados e reidratados, posteriormente foi realizado recuperação antigênica e exposto ao anticorpo primário anti-5HT, over night. Após, foi adicionado um polímero conjugado a peroxidase por 30 minutos e revelado pela coloração castanha do cromógeno diamino benzidina (DAB) por 5 minutos. Por fim, foi feita a contra-coloração com hematoxilina e a lâmina foi montada com permount e lamínula. A análise foi feita em microscópio óptico e quantificou-se todos os mastócitos 5-HT-IR presentes em 50 campos microscópicos na objetiva de 40x por animal. Os dados apresentaram distribuição normal e foram expressos como média  $\pm$  erro padrão (mastócitos 5-HT-IR por  $\text{mm}^2$ ). O teste aplicado foi o teste t considerando um nível de significância de 5%.

### Resultados e Discussão:

A contagem de mastócitos 5HT-IR presentes nos cortes de jejuno não apresentaram diferenças significativas no grupo infectado com a cepa 2311 ( $42,15 \pm 6,37$  mastócitos/ $\text{mm}^2$ ), quando comparado ao GC ( $34,91 \pm 3,68$  mastócitos/ $\text{mm}^2$ ) (Figura 1).



**Figura 1**– Mastócitos 5-HT-IR por  $\text{mm}^2$  de jejuno. Grupo controle (GC) e grupo infectado pela cepa MHOM/BR/2003/2311 (2311) de *Leishmania (Viannia) braziliensis*

Os mastócitos são células inflamatórias e exercem diversas funções efetoras frente a infecção aguda por leishmaniose (SIGRID, 2007).

Os mastócitos serotoninérgicos, secretam proteases, histamina, heparina e serotonina quando estimulados, a serotonina possui diversas funções no trato gastrointestinal, sendo responsável por iniciar os reflexos peristálticos e secretórios regulando a motilidade intestinal (SIGRID, 2007).

Em nossos estudos, envolvendo o jejuno, não foi observado diferenças significativas na subpopulação de mastócitos serotoninérgicos imunorreativos, possivelmente, por se tratar de uma infecção crônica.

### Conclusões:

Não foram observadas, alterações significativas no jejuno de hamsters *Mesocricetus auratus* após 90 dias de infecção, portanto

concluimos que neste órgão em questão, estas células não são os alvos principais do parasito, assim como a via de infecção e tempo de experimento podem ter influenciado neste resultado.

### Agradecimentos:

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

### Referências

FERNANDES, A. C. B. S. *et al.* In vitro characterization of *Leishmania (Viannia) braziliensis* isolates from patients with different responses to Glucantime® treatment from Northwest Paraná, Brazil. **Experimental Parasitology**, v. 167, 2016.

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

SANTOS, A. G. A. DOS *et al.* Insights of *Leishmania (Viannia) braziliensis* infection in golden hamster (*Mesocricetus auratus*) intestine. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 106, n. March, p. 1624–1632, 2018.

SIGRID, S. C. B. Mastócitos humanos , bactérias e imunidade intestinal. p. 329–337, 2007.

SIKANDER, A.; RANA, S. V.; PRASAD, K. K. Role of serotonin in gastrointestinal motility and irritable bowel syndrome. **Clinica Chimica Acta**, v. 403, n. 1–2, p. 47–55, 2009.