

INFECÇÃO CRÔNICA POR *Toxoplasma gondii* CAUSA ALTERAÇÃO NA DEPOSIÇÃO DE FIBRAS COLÁGENAS TIPOS I E III NO PLEXO CARDÍACO DE RATOS WISTAR

João Marcos Gaspar Junior (PIC / UEM), Carmem Patrícia Barbosa (Orientadora), e-mail: carmemmec1@gmail.com.

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas / Maringá-PR

Morfologia / Anatomia humana

Palavras-chave: Toxoplasmose, neurônios cardíacos, colágeno.

Resumo

Toxoplasmose é uma zoonose de ampla distribuição mundial e diferentes vias de transmissão. Reconhecendo que o parasito se evade do intestino para todo o corpo por meio de vasos, e que o mesmo possui afinidade por tecido muscular e neural, o objetivo deste estudo foi avaliar o perfil quantitativo dos neurônios do plexo cardíaco e a deposição de fibras colágenas no coração de ratos infectados por diferentes inóculos de *Toxoplasma gondii*. Para tanto, foram utilizados 20 animais machos distribuídos aleatoriamente em 4 grupos (n=5). O grupo controle (GC) não foi infectado e os demais grupos foram infectados com diferentes dosagens de oocistos: GI 50 (50 oocistos esporulados), GI 100 (100 oocistos esporulados) e GI 500 (500 oocistos esporulados). Após 30 dias de infecção, os corações foram coletados, incluídos em parafina, cortados e corados pelas técnicas de Giemsa (para análise quantitativa) e Picrosirius (para análise das fibras colágenas). Os dados foram comparados usando o *software* BioEstat 5.4. A fim de determinar a normalidade dos dados, o teste de D'Agostino Pearson foi realizado, seguido pelo teste de Kruskal-Wallis com pós-teste de Dunns (GraphPad Prism 5®). A quantidade de neurônios do plexo cardíaco não foi significativamente diferente entre os grupos. Em contrapartida, houve aumento do colágeno do tipo I e redução do colágeno do tipo III no grupo GI 500. Logo, mesmo que, possivelmente, a carga parasitária não foi o suficiente para alterações neuronais quantitativas, a presença do parasita no organismo leva a respostas inflamatórias que podem alterar o colágeno do plexo cardíaco.

Introdução

A toxoplasmose é uma parasitose com ampla distribuição geográfica. As vias de transmissão do protozoário *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*) incluem a ingestão de cistos presentes em carnes cruas, o rompimento da barreira transplacentária pelos taquizoítos e a ingestão de oocistos presentes em alimentos e/ou água contaminados. Cistos de *T. gondii* podem ser encontrados em diversos órgãos incluindo cérebro e coração, uma vez que

os taquizoítos podem passar pelo intestino e atingir os tecidos nervosos e musculares por meio dos sistemas linfático e circulatório (Silva et al., 2006). O coração dispõe de uma tripla inervação sendo uma delas advinda do sistema nervoso autônomo (SNA), outra do sistema nodal e outra ainda de uma vasta rede de neurônios. Esta rede, conhecida como plexo cardíaco, tem por principal função auxiliar nos batimentos cardíacos (Jimenes et al., 2017). Com essa finalidade, de manter o ritmo cardíaco unindo as diversas células cardíacas, proteínas de colágeno são produzidas, destas, em especial, o colágeno tipo I e tipo III (Cowling et al., 2019).

Uma vez que o *T. gondii* tem afinidade por tecido nervoso e muscular, pressupõe-se que estruturas nervosas do plexo cardíaco possam ser afetadas por este parasita. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o perfil quantitativo dos neurônios do plexo cardíaco e a deposição de fibras colágenas no coração de ratos infectados por diferentes inóculos de *T. gondii*.

Materiais e métodos

Este estudo foi previamente aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Maringá (nº 081/2012).

Foram utilizados 20 ratos machos da linhagem Wistar distribuídos aleatoriamente em 4 grupos (n=5). O grupo controle (GC) foi tratado por via oral com solução salina (0,9% NaCl). Os outros grupos, após completarem 60 dias de vida, foram infectados com diferentes dosagens de oocistos de *T. gondii* da cepa ME 49 (genótipo II): GI 50 (infectados com 50 oocistos), GI 100 (infectados com 100 oocistos) e GI 500 (infectados com 500 oocistos). O período de infecção foi de 30 dias e a confirmação foi feita pela detecção de anticorpos IgG anti-*T. gondii*.

Após a eutanásia, os animais foram submetidos à toracotomia para a remoção cirúrgica do coração. Para o procedimento histológico, inicialmente foi realizado um processo de desidratação do coração, seguido de banhos de parafina granulada. Cortes seriados de 5 µm foram realizados com o auxílio de um micrótomo no sentido transversal do órgão. Apenas cortes acima do septo atrioventricular foram utilizados. As lâminas foram distribuídas para as seguintes técnicas de coloração: Giemsa (para quantificar o número de neurônios) e Picrosirius (para analisar a deposição de fibras colágenas tipos I e III associadas ao plexo cardíaco).

A análise quantitativa dos neurônios foi realizada pela contagem de todos os neurônios presentes nos gânglios de cada animal. A análise das fibras colágenas do plexo cardíaco foi feita com o auxílio de um microscópio de luz polarizada a fim de diferenciar a birrefringência e a organização das fibras colágenas dos tipos I e III da matriz extracelular.

Os dados foram comparados usando o *software* BioEstat 5.4 (Mamirauá®). O teste de D'Agostino Pearson foi realizado para determinar a normalidade dos dados. As variáveis apresentaram distribuição livre e foram avaliadas pelo teste de Kruskal-Wallis com pós-teste de Dunns (GraphPad Prism 5®).

Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão e $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.

Resultados e Discussão

Não houve diferença significativa em relação ao número total de neurônios dos grupos avaliados (Figura 1).

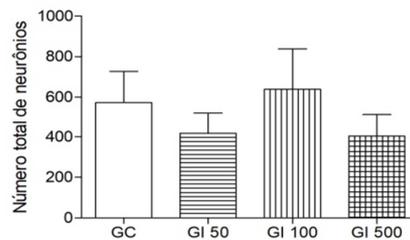


Figura1: Número total de neurônios.

Resultados diferentes foram encontrados por Ferezin et al. (2017) os quais observaram redução de neurônios mioentéricos do cólon em ratos infectados por diferentes quantidades de oocistos, sendo ainda mais significativo com a dose de 5000. É possível que a inalteração do parâmetro analisado deva-se, não só as concentrações de oocistos, mas também a menor capacidade migratória da cepa de genótipo II em relação a outros genótipos (Barragan e Sibley, 2002), e conseqüentemente a baixa capacidade de evasão do parasito pela barreira epitelial do intestino.

Em contrapartida, houve diferença significativa quanto à análise da área corada e preenchida pelas fibras colágenas dos tipos I e III. Assim, o colágeno do tipo I mostrou-se mais presente em animais do grupo GI 500, quando comparado ao GC e ao GI 50. Por outro lado, o colágeno do tipo III apresentou-se em menor proporção no GI 500 em relação ao GI 100 (Figura 2).

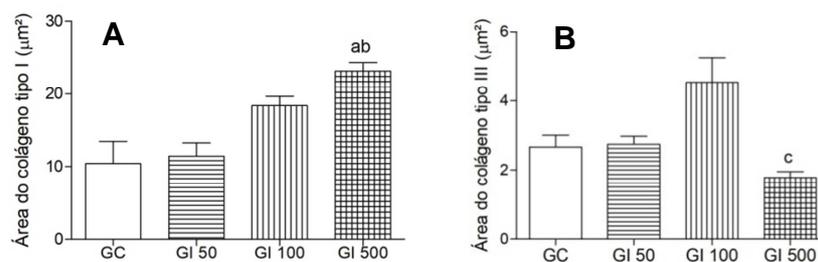


Figura 2. Deposição das fibras colágenas dos tipos I (A) e III (B) ao redor dos gânglios do plexo cardíaco. a: GI 500 em relação ao GC; b: GI 500 em relação ao GI 50; c: GI 500 em relação ao GI 100.

Tais tipos de colágeno estão diretamente relacionados à cicatrização tecidual, sendo comum a proliferação de colágeno do tipo III logo após uma lesão e a do colágeno do tipo I em fase mais tardia. Assim, é frequente identificar tais alterações não só no reparo tecidual, mas também associada à resposta inflamatória, obesidade, diabetes, síndrome metabólica, drogas, radiação e infecções do coração (Cowling et al., 2019).

Logo, mesmo que, possivelmente, a carga parasitária não foi o suficiente para alterações neuronais quantitativas, a presença do parasita no organismo leva a respostas inflamatórias que podem alterar o colágeno do plexo cardíaco.

Conclusões

Conclui-se que a infecção crônica por *T. gondii* não alterou quantitativamente os neurônios do plexo cardíaco, mas causou proliferação de colágeno do tipo I e redução do colágeno do tipo III no grupo infectado por 500 oocistos. Admite-se ser de extrema importância que mais estudos sejam realizados a fim de melhor compreender a influência de outras concentrações de inóculos.

Agradecimentos

A UEM e ao laboratório de Neurogastroenterologia.

Referências

BARRAGAN, A., SIBLEY, L. D. Transepithelial migration of *Toxoplasma gondii* is linked to parasite motility and virulence. **Journal of Experimental Medicine**, [S.l.], v. 195, n. 12, p. 1625-1633, jun. 2000.

COWLING, R. T. *et al.* Mechanisms of cardiac collagen deposition in experimental models and human disease. **Translational Research**, [S.l.], v. 209, n. 8, p. 138-155, mar. 2019.

FEREZIN, R. I. *et al.* Different inoculum loads of *Toxoplasma gondii* induce reduction of myenteric neurons of the rat colon. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 26, n. 1, p. 47-53, jan./mar. 2017.

JIMENES, D. R. *et al.* Inervação cardíaca: Um estudo de revisão com ênfase no plexo cardíaco. **Revista Uningá**, Maringá, v. 52, n. 1, p. 92-99, jan./mar. 2017.

SILVA, F. W. S. *et al.* Toxoplasmose: Uma revisão. **Ciência Animal**, [S.l.], v. 16, n. 2, p. 71-77, 2006.