

## IMPACTOS DA INFECÇÃO POR *Leishmania (Vianna) braziliensis* SOBRE OS MASTÓCITOS TOTAIS DO ÍLEO DE HAMSTERS

Isabela Alessandra Mariano (PIBIC/AF-IS-CNPq-FA), Gessilda Alcantara  
Nogueira de Melo (orientador) email: ganmelo2@uem.br.

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

**Subárea de Conhecimento CNPq:** 2.13.01.01-8 Protozoologia Parasitária  
Humana

### Resumo

A leishmaniose tegumentar americana (LTA) é uma doença infecciosa de caráter zoonótico que possui ampla distribuição geográfica no Brasil. Estudos encontraram DNA da espécie *Leishmania (Vianna) braziliensis* (LVB) no intestino de hamsters. Esta espécie geralmente causa a forma muco-cutânea da doença, porém esta disseminação pode provocar alterações no órgão semelhantes às encontradas na Leishmaniose Visceral. O objetivo deste estudo foi analisar a resposta tecidual do íleo e jejuno de hamsters infectados por LVB. Foram utilizados 10 hamsters machos (*Mesocricetus auratus*) e distribuídos em grupo controle (GC) e grupo infectado (GI) com  $10^5$  promastigotas de LVB MHOM/BR/2314 (cepa isolada de paciente) na pata posterior direita dos animais do GI. O material coletado foi submetido a rotina histológica e corado na técnica Azul de toluidina para identificação e quantificação dos mastócitos. Os resultados foram analisados estatisticamente pelo teste de normalidade de D'Agostino Pearson e a seguido pelo teste *t* de Student, e expressados por Média  $\pm$  Desvio Padrão. A infecção pela cepa MHOM/2314 de LVB não alterou significativamente o número de Mastócitos totais no jejuno e íleo de hamsters dourados após 8 semanas de infecção.

**Palavras-chave:** imunidade nas mucosas, leishmaniose, histologia.

### Introdução

As leishmanioses são doenças parasitárias causadas por protozoários do gênero *Leishmania sp.* As manifestações clínicas variam de acordo com a espécie causadora podendo apresentar-se na forma tegumentar (pele), muco-cutânea (membranas mucosas) e visceral (órgãos internos). A espécie *Leishmania (Vianna) braziliensis* (LVB) está amplamente difundida no Brasil como agente da forma tegumentar da doença, a qual pode evoluir em lesões ulcerativas das mucosas nasofaríngeas (SANTOS, 2018; MARTINS, 2015).

Estudos tem demonstrado a presença do parasito para outros órgãos além da pele, e entre eles o intestino, onde foram observadas alterações histopatológicas resultantes da infecção por LVB (SANTOS, 2018). O

intestino é um órgão muito importante para a homeostase corporal, absorção de nutrientes, regulação imunológica e endócrina, e está em constante interação com os microrganismos da microbiota (SANTOS, 2018).

Os mastócitos são células teciduais, presentes na lâmina própria do intestino e por muito tempo implicados apenas como mediadores de respostas alérgicas, mas com o tempo estudos evidenciaram seu papel nas respostas imunes inata e adaptativa, devido à sua capacidade de produzir diversas substâncias pró-inflamatórias, as quais ficam armazenadas em seus grânulos como citocinas e quimiocinas (MARTINS, 2015). Estudos estabelecem a relação destas células com patologias intestinais como colite, megacólon chagásico e síndrome do intestino irritável (FERREIRA, 2018)

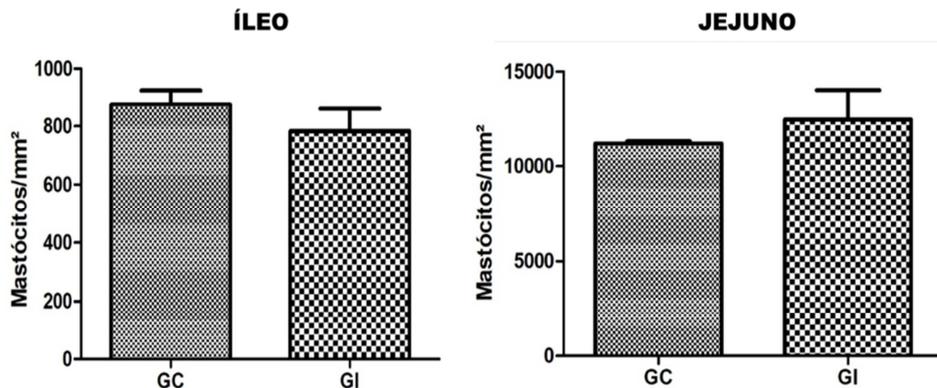
Estudos têm demonstrado que mesmo espécies causadoras da forma cutânea e muco-cutânea da leishmaniose podem agir sobre outros órgãos além da pele, como baço, fígado e intestino, causando alterações na morfologia e atividade dos órgãos. Também já se observam alterações histopatológicas intestinais devido à infecção crônica por espécies de *Leishmania (Vianna) braziliensis*, no entanto ainda não se tem com clareza informações sobre alterações ocorridas na infecção causada por LVB bem como a atuação dos mastócitos frente à infecção ainda não está elucidada, sendo necessário investigar o papel desta célula de defesa nos órgãos afetados por esta patologia.

## Materiais e métodos

Todos os procedimentos experimentais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Maringá (CEUA/UEM) sob nº 3062060916. Foram utilizados 10 hamsters machos (*Mesocricetus auratus*) obtidos do biotério central da UEM. Os animais foram separados em grupo controle (GC) e grupo infectado (GI). Formas promastigotas de LVB MHOM/BR/2314 (cepa isolada de paciente) em fase estacionária ( $10^5$  parasitas) foram inoculadas na pata posterior direita dos animais do GI. Os animais controles receberam PBS na pata posterior direita. Após 8 semanas de infecção os animais foram submetidos a aprofundamento anestésico com isoflurano e posterior eutanásia por dióxido de carbono. Foi coletado 1 cm do íleo e jejuno de todos os animais e fixados em paraformaldeído 4% tamponado. Depois de fixados, diafanizados e embebidos em parafina foram cortados transversalmente de forma semi-seriada em  $4\mu\text{m}$  para realização da coloração de azul de toluidina para quantificar os mastócitos totais. Foram contados os mastócitos em 100 campos da objetiva de 100x em microscópio óptico em de cada animal. Os dados foram analisados estatisticamente no software GraphPad Prism 5.0 (GraphPad Prism Inc.) e considerados de distribuição normal pelo teste de D'Agostino Pearson. Em seguida, comparados pelo teste de *t* de Student. Os dados foram expressos em média  $\pm$  desvio padrão. Os resultados foram expressos em  $\text{mm}^2$ .

## Resultados e Discussão

Não foram observadas alterações estatisticamente significativas na população de mastócitos no íleo do GI ( $780,7 \pm 172$  mast/mm<sup>2</sup>) em relação ao GC ( $877,5 \pm 107,4$  mast/mm<sup>2</sup>), nem do jejuno GI ( $1249 \pm 317,7$  mast/mm<sup>2</sup>) em relação ao GC ( $1109 \pm 22,22$  107,4 mast/mm<sup>2</sup>) (**Figura 1**).



**Figura 1.** Quantificação de mastócitos totais por mm<sup>2</sup> no íleo (A) e jejuno (B) de hamsters grupo controle (GC) e infectados por *Leishmania (Vianna) brasiliensis* (LVB) em 8 semanas grupo infectado (GI). \*p<0,05

Os mastócitos são células importantes da resposta imunológica, principalmente devido à liberação de substâncias pró-inflamatórias. Estudos observaram intenso aumento no número dessas células no trato gastrointestinal de pacientes infectados por *Trypanosoma cruzi*, protozoário da mesma família da *Leishmania sp.* (MARTINS, 2015).

Também foram observadas alterações na população de mastócitos e na permeabilidade da barreira mucosa em outras patologias intestinais como o megacólon chagásico e a síndrome do intestino irritável (FERREIRA, 2018; MARTINS 2015), nas quais há intensa atividade do sistema imune e processo inflamatório (FERREIRA, 2018)

Tuon et al (2008) sugerem em seu estudo que a interação entre o parasito *Leishmania* e os mastócitos resulta no aumento destas células no local de infiltrado inflamatório. Além disso a LVB aumenta a expressão de quimiocinas das quais os mastócitos possuem receptores, indicando a sua participação na resposta inflamatória à *Leishmania spp.* (TUON, 2008). Por outro lado, Maurer et al (2006) demonstraram que a deficiência dos mastócitos leva a diminuição da produção de IL-12, uma citocina importante na resistência a LVB por ser promotora da resposta imune Th1. Assim os mastócitos podem induzir uma resposta imunológica sistêmica à *Leishmania spp.* por meio do recrutamento de células imunológicas para o local da lesão. Entretanto, os nossos achados sugerem que esta resposta não envolve alteração quantitativa dessas células no período estudado ou poderia ser dependente do tempo de infecção.

## Conclusões

A resposta intestinal desencadeada pela cepa MHOM/BR/2314 de *Leishmania (Vianna) braziliensis* não envolve o aumento do número de mastócitos totais no íleo e jejuno de hamsters dourados após 8 semanas de infecção. Estudos com outros tempos de infecção são necessários para melhor elucidar a interação dos mastócitos no intestino após a infecção por LVB.

## 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

FERREIRA, Nathália Segatto et al. Neuroregulação e imunoregulação no megacólon chagásico: avaliação da expressão de neurotrofinas, serotonina e concentração de mastócitos. 2018.

MARTINS, Patricia Rocha. Avaliação do papel de mastócitos na imunopatologia do megacólon chagásico, com ênfase na sua interação com neurônios e eosinófilos. 2015.

MAURER, Marcus et al. Skin mast cells control T cell-dependent host defense in *Leishmania major* infections. **The FASEB journal**, v. 20, n. 14, p. 2460-2467, 2006.

SANTOS, Amanda Gubert Alves dos et al. Alterations induced in the ileum of mice upon inoculation with different species of *Leishmania*: a preliminary study. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 51, n. 4, p. 537-541, 2018.

TUON, F. F.; DUARTE, M. I. S.; AMATO, V. S. A quantitative and morphometric study of mast cells in cutaneous leishmaniasis. **Parasite immunology**, v. 30, n. 11-12, p. 641-645, 2008.