

EFEITO TRATAMENTO COM *Camellia sinensis* (chá preto) SOBRE A PAREDE INTESTINAL DE CAMUNDONGOS INFECTADOS COM O GENÓTIPO BIV DE *Giardia duodenalis*.

Giovanna Natallia Fidelis Pereira (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Mariana Cristina Tenorio Leonardi, Liara Izabela Lopes Romera, Maria Gabriela Lima da Silva, Mônica Lúcia Gomes, Debora de Mello Gonçalves Sant´Ana, Gessilda de Alcantara Nogueira-Melo (Orientador). E-mail: ganmelo2@uem.br.

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

Área: Ciências da Saúde **Subárea:** Parasitologia

Palavras-chave: Produtos naturais; intestino delgado; giardíase.

RESUMO

Giardia duodenalis é a espécie de protozoário intestinal que causa a giardíase, uma doença negligenciada, devido sua grande incidência em áreas com más condições de saneamento. Sua forma de transmissão é via fecal-oral, ou seja, pela ingestão de alimentos ou água contaminados com cistos do parasito. Objetivo: Analisar o efeito da *Camellia sinensis* (chá preto) sobre a parede do intestino delgado de camundongos infectados com o genótipo BIV de *G. duodenalis*. Método: Os animais dos grupos infectados receberam uma suspensão de 300 µL contendo cistos viáveis *G. duodenalis* do genótipo BIV via intragástrica. Após a confirmação da infecção foi iniciado o tratamento com 200 mg/kg de *C. sinensis* isoladamente ou 100mg/kg em associação com 500mg/Kg de metronidazol por 7 dias por gavagem. Após a eutanásia, amostras do duodeno foram coletadas, emblocadas em parafina. Foram obtidos cortes histológicos de 5 µm e corados pela técnica de hematoxilina eosina (HE). Foram realizadas capturas de imagens da parede e vilos intestinais para determinação da altura e largura dos vilos, profundidade e largura das criptas, espessura da túnica submucosa, camadas musculares e parede total. Resultado e Discussão: Nos animais infectados tratados com *C. sinensis* e metronidazol houve uma diminuição da espessura da parede total e muscular quando comparado com o grupo sem tratamento. A análise da muscular circular, muscular longitudinal, vilosidades e criptas não apresentaram alterações significativas. O tratamento com o chá preto, metronidazol ou com a associação de ambos restabeleceu a espessura da parede total e muscular total dos animais infectados.

INTRODUÇÃO

G. duodenalis é um protozoário intestinal que ocorre em seres humanos, com grande prevalência em países em desenvolvimento. A giardíase é considerada uma doença negligenciada devido sua grande incidência em áreas com más condições de saneamento. Sua forma de transmissão se dá pelo contato com fezes de

humanos ou animais contaminados, ingestão de alimentos, água, frutas mal lavadas e infectadas com cistos de *Giardia spp* (Neves, 2022).

Os sintomas da infecção podem variar entre diarreia fétida, cólicas abdominais, distensão abdominal, gases e náuseas, os sintomas citados também podem evoluir para quadros de desidratação, desnutrição e déficit de crescimento e desenvolvimento em crianças (Groudan, et al., 2021). Para o tratamento da giardíase o medicamento utilizado é o metronidazol, porém esse medicamento possui vários efeitos adversos (Carter, et al., 2018). Com isso, o uso de plantas medicinais, principalmente em casos de giardíase, tornou-se importante abrindo novas possibilidades terapêuticas. Existem relatos do efeito giardicida do chá preto e de sua ação anti-helmíntica (Kham, 2014).

A infecção por *Giardia duodenalis* pode causar alterações na mucosa intestinal como o achatamento e a atrofia das vilosidades. Mesmo que a mucosa se apresente morfológicamente normais, observações em microscopia eletrônica demonstraram presença de lesões nas microvilosidades, possivelmente em combinação com raros mecanismos patológicos, são uma das causas dos distúrbios intestinais associados à giardíase (Neves, 2022). Tendo isso em vista, este trabalho avaliou a morfometria de parede no tratamento da giardíase com *C. sinensis* (chá preto) de forma isolada ou associada ao metronidazol, medicamento frequentemente utilizado para o tratamento da giardíase.

MATERIAIS E MÉTODOS

Aspectos Éticos

A utilização, manutenção e cuidados com os animais experimentais serão realizados de acordo com as diretrizes do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA). O estudo já foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UEM (protocolo CEUA/UEM nº 13600807620).

Delineamento experimental

No presente estudo foram utilizados como tratamentos para a infecção por *G. duodenalis* do genótipo BIV: a infusão de chá preto (*C. sinensis*), o metronidazol e a associação entre os dois. Os animais foram divididos em 8 grupos no qual o (GC) grupo controle, (GI) infectado e não tratado, não infectado e tratado com o chá preto (200 mg/kg), infectado e tratado com chá preto (200 mg/kg), não infectado e tratados com Metronidazol (500 mg/kg), infectado e tratado com Metronidazol (500 mg/kg), não infectados e tratados com chá preto (100 mg/kg) e Metronidazol (500 mg/kg) e infectados e tratados com chá preto (100 mg/kg) e Metronidazol (500 mg/kg).

Os camundongos pertencentes aos grupos infectados receberam uma suspensão de 300 μL contendo 10^4 cistos viáveis de *G. duodenalis* do genótipo BIV via intragástrica. Foram realizados exames parasitológicos de fezes diariamente para a validação da infecção. O tratamento de 7 dias foi administrado por via intragástrica. Ao final dos tratamentos todos os animais foram eutanasiados. As amostras do duodeno foram coletadas, emblocadas em parafina. Foram obtidos cortes histológicos de 5 μm e corados pela técnica de hematoxilina eosina (HE).

Análises morfométricas

As análises foram realizadas no software Motic Images Plus 2.0 a partir de 16 imagens capturadas (objetiva de 10x) de 4 cortes histológicos do mesmo animal utilizando uma câmera digital acoplada a um microscópio de luz trinocular, sendo 1 imagem/quadrante/cortes. Foi determinada a altura e largura dos vilos, profundidade e largura das criptas, espessura da túnica submucosa, das camadas musculares e da parede intestinal total.

Análise estatística

Para a comparação entre os grupos foi aplicado o teste (ANOVA) de duas vias, seguido de Tukey. Foi considerado um nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O duodeno dos camundongos não apresentaram alterações macroscópicas em relação a sua coloração, comprimento ou estruturas. No entanto, microscopicamente verificou-se na espessura da parede total, submucosa e muscular total uma interação entre a infecção e o tratamento.

Nos animais infectados tratados com metronidazol houve uma diminuição da espessura da parede total, muscular total e submucosa comparando-se ao grupo sem tratamento. O tratamento com *C. sinensis* também reduziu a espessura da parede total e muscular total nesses animais. A associação do chá preto com o metronidazol teve efeito em reduzir a espessura da submucosa de animais não infectados e a parede total de animais infectados.

A espessura da muscular circular, muscular longitudinal, altura e largura dos vilos, profundidade e largura das criptas não foi alterada significativamente (Figura 1). Entre os componentes do chá preto, os flavonoides são conhecidos por possuírem efeito anti-inflamatório (Wang, 2021). Já o efeito do metronidazol, assim como a da associação do chá preto e do metronidazol poderiam estar relacionados a sua eficácia em combater a parasitose.

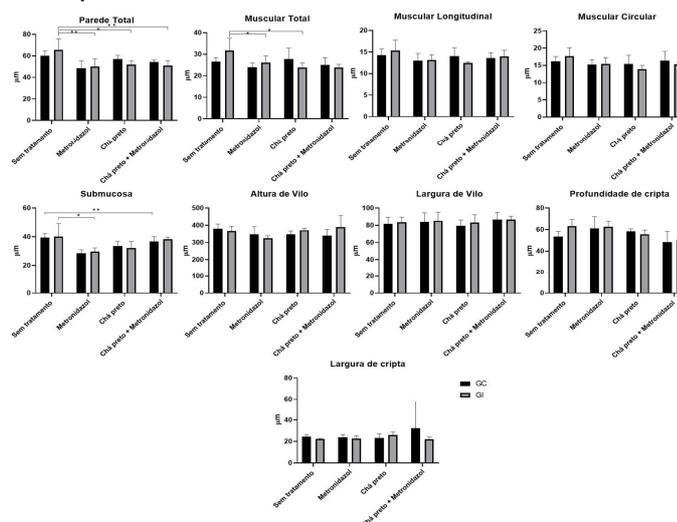


Figura 1. Morfometria de parede intestinal total, camadas musculares, vilosidades e criptas no duodeno de camundongos controles ou infectados com 10^4 cistos viáveis de *G. duodenalis* do genótipo BIV. Grupo controle (GC) Grupo infectado (GI).

CONCLUSÕES

O tratamento com metronidazol, chá preto e a associação de ambos alterou a morfometria da parede duodenal de camundongos com giardíase experimental.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha orientadora Dra. Gessilda de Alcantara Nogueira de Melo pelo apoio e incentivo no decorrer no projeto, a Fundação Araucária e ao CNPq pela bolsa concedida e a todo o laboratório de Neurogastroenterologia pelo auxílio.

REFERÊNCIAS

CARTER, et al. Nitroimidazole-refractory giardiasis: a growing problem requiring rational solutions. **Clinical Microbiology and Infection**. v. 24, n. 1, p. 37-42, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2017.05.028>. Acesso em: 20 set. 2023.

GROUDAN, et al. *Giardia lamblia* diagnosed incidentally by duodenal biopsy. **Journal of investigative medicine high impact case reports**. V. 9, n. 23247096211001649, p. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/23247096211001649>. Acesso em: 20 set. 2023.

NEVES, D. P. **Parasitologia humana**. 14. Ed. Rio de Janeiro: Atheneu, v. 14, C. 14 p.137, 2022.

KHAN, S.H. The use of green tea (*Camellia sinensis*) as a phytogetic substance in poultry diets. **Onderstepoort Journal of Veterinary Research**, v. 8, n.1, p. 1-8, 2014. Disponível em: <http://www.scielo.org.za/pdf/ojvr/v81n1/05.pdf>. Acesso em: 20 set. 2023.

WANG, L.; MENGXUE, G; Kang, G et al. The potential role of phytonutrients flavonoids Influencing gut microbiota in the prophylaxis and treatment of inflammatory bowel disease. **Frontiers in Nutrition**., v. 8, n. 798038, p. 1-21, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.798038>. Acesso em: 20 set. 2023.