

EFEITO DO TRATAMENTO COM *Camellia sinensis* SOBRE AS CÉLULAS CALICIFORMES NO DUODENO E JEJUNO DE CAMUNDONGOS INFECTADOS POR *Giardia duodenalis*

Laura Targino Luque (PIBIC/CNPq), Caroline Guedes Pereira da Silva, Isabela Mochi Gonçalves, Liara Izabela Lopes Romera, Maria Gabriela Lima da Silva, Mariana Cristina Tenório Leonardi, Débora de Mello Gonçalves Sant'Ana, Mônica Lúcia Gomes, Amanda Gubert Alves dos Santos, Gessilda de Alcantara Nogueira-Melo
E-mail: ganmelo2@uem.br.

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

Área e subárea do conhecimento: Ciências da Saúde/Farmácia.

Palavras-chave: *Giardia duodenalis*; chá preto; intestino delgado.

RESUMO

A giardíase, causada pelo protozoário *Giardia duodenalis*, é uma zoonose transmitida por via fecal-oral que afeta as vilosidades e células do epitélio intestinal, incluindo as células caliciformes. Essas células secretam mucinas, que formam uma barreira protetora contra patógenos. O tratamento da giardíase pode ter efeitos adversos, destacando a necessidade de novas abordagens terapêuticas. Estudos apontam o chá preto (*Camellia sinensis*) como uma alternativa promissora. Desse modo, o objetivo do presente trabalho foi quantificar as células caliciformes no duodeno e jejuno de camundongos tratados com metronidazol (MT), chá preto (CP) ou ambos associados. Foram utilizados 32 camundongos suíços, distribuídos em 8 grupos: controle negativo (GC), controle positivo (GI), e grupos parasitados ou não tratados com chá preto (GI-CP, GC-CP), metronidazol (GI-MT, GC-MT), ou ambos (GI-CM, GC-CM). Após o experimento, segmentos do duodeno e jejuno foram coletados e corados com Alcian Blue 2,5, Alcian Blue 1,0 e PAS. No jejuno, a combinação de MT com CP aumentou as caliciformes AB 2,5+ nos animais parasitados, mas reduziu as células AB 1,0+ no duodeno. O CP isolado diminuiu as células PAS+ no duodeno dos infectados, enquanto o MT aumentou essas células. A associação CP e MT aumentou a fluidez do muco no jejuno dos animais parasitados e diminuiu no duodeno. O CP isolado tornou o muco no duodeno de animais infectados mais fluido.

INTRODUÇÃO

A giardíase, causada pelo protozoário *Giardia duodenalis*, é uma zoonose transmitida por via fecal-oral ou ingestão dos cistos, através de água e alimentos contaminados. Embora frequentemente assintomática ou branda, pode causar diarreia crônica, perda de peso e desidratação em casos graves (Neves, 2022). A infecção compromete a absorção intestinal ao danificar as vilosidades, reduzindo a superfície de absorção. O intestino delgado é o órgão mais afetado pela giardíase. A camada mucosa é formada por projeções alongadas de epitélio simples cilíndrico chamadas vilosidades, onde são encontradas as células caliciformes. Elas possuem função de proteção e lubrificação do intestino ao produzirem glicoproteínas (mucinas neutras ou ácidas). Estudos ligando alterações nas células caliciformes e a giardíase são escassas, como aponta Ponce-Macotela *et al.* (2008), porém há evidências que *G. duodenalis* leva a hiperplasia das células caliciformes configurando uma resposta inespecífica. O tratamento da giardíase com metronidazol, um antiprotozoário, pode causar efeitos adversos (Neves, 2022). Isso destaca a necessidade de pesquisar novas alternativas terapêuticas. Nesse sentido, o chá preto (*C. sinensis*) possui efeitos farmacológicos promissores, porém há uma lacuna na literatura quanto aos efeitos desses compostos sobre as células epiteliais. Desse modo, o presente trabalho tem como objetivo a avaliação das células caliciformes produtoras de mucinas neutras, ácidas e sialomucinas na infecção pelo protozoário *G. duodenalis* associado ao tratamento com chá preto e este em associação com metronidazol.

MATERIAIS E MÉTODOS

Delineamento experimental, infecção, tratamento, coleta e processamento

Foram utilizados 32 camundongos (*Mus musculus*) machos da linhagem Swiss. Todas as condutas seguidas foram aprovadas pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Maringá e seguem o protocolo nº 1360080620. Os animais foram separados em 8 grupos (n=4): controle positivo (GI), controle negativo (GC), parasitados ou não com CP 200 mg/kg (GI-CP, GC-CP), MT 500 mg/kg (GI-MT, GC-MT), e a combinação CP 100 mg/kg com MT 500 mg/kg (GI-CM, GC-CM). Os animais dos grupos infectados receberam via intragástrica suspensão de 300µL com 10⁴ cistos viáveis do parasito do genótipo BIV. Após a infecção, os animais foram tratados conforme o protocolo experimental. Depois foram eutanasiados, o intestino delgado foi coletado, submetido a preparações histológicas, foram corados por Alcian Blue pH 2,5 (AB 2,5) e pH 1,0 (AB 1,0) e ácido periódico de Schiff (PAS) e a quantificação das células caliciformes foi realizada.

Análise estatística

Foi utilizado a análise de variância (ANOVA) de duas vias e teste de Tukey para comparação de médias. Valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A giardíase compromete a barreira epitelial intestinal e leva a hiperplasia das células caliciformes (Reynoso-Robles *et al.*, 2015). Essas células secretam muco, essencial na defesa contra patógenos. Durante a giardíase, há aumento na liberação de mucinas, tanto *in vivo* quanto *in vitro* (Solaymani-Mohammadi, 2022).

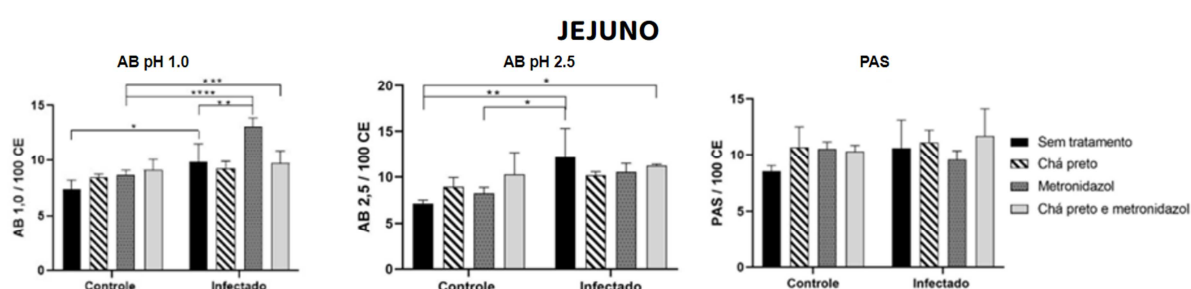


Figura 1. Comparação da proporção de células caliciformes no jejuno entre os grupos corados com Alcian Blue pH 1.0; pH 2.5 e PAS. Asterisco representa comparação significativa ($p < 0,05$).

Conforme a figura 1, isso foi observado no jejuno, com o aumento de células caliciformes AB 1,0+ e AB 2,5+ do grupo controle infectado em relação ao grupo controle não infectado. O tratamento com metronidazol resultou em aumento das células caliciformes produtoras de mucinas ácidas, em comparação aos animais parasitados não tratados. Esse aumento acidifica o muco epitelial e pode facilitar a eliminação do parasito. No jejuno, a associação metronidazol e chá preto aumentou as caliciformes de sialomucinas em relação ao grupo controle negativo. Por outro lado, no duodeno, (figura 2), essa combinação promoveu diminuição das mucinas ácidas, tornando o muco menos fluido.

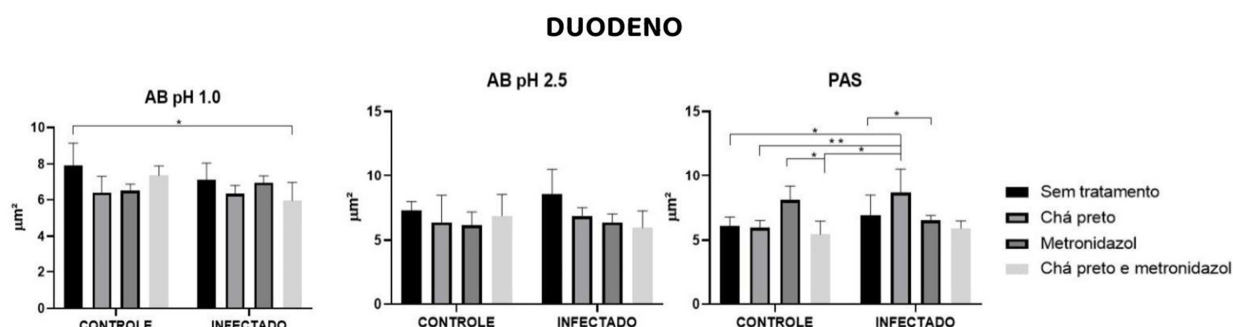


Figura 2. Comparação da proporção de células caliciformes no duodeno entre os grupos corados com

AB pH 1.0; pH 2.5 e PAS. Asterisco representa comparação significativa ($p < 0,05$).

Esses resultados podem mostrar a função dual das células caliciformes durante a giardíase, pois tanto a diminuição, quanto o aumento excessivo das células em resposta ao tratamento, pode prejudicar o parasito ou o hospedeiro (Ishii *et al.*, 2009; Ponce-Macotela, *et al.*, 2015). No duodeno, o tratamento com metronidazol em animais infectados aumentou as células caliciformes PAS+ em relação ao grupo controle negativo. Além disso, o metronidazol incrementou essas células nos animais infectados em relação aos animais controle com o mesmo tratamento, tornando o muco mais espesso, em situação de excesso de muco e diarreia, isso pode ser vantajoso. O tratamento com chá preto não diminuiu as células produtoras de mucinas neutras nos animais controle, mas observou-se diminuição dessas células nos animais infectados em comparação com animais infectados sem tratamento, tornando o muco menos espesso.

CONCLUSÕES

A associação chá preto e metronidazol aumentou a fluidez do muco no jejuno dos animais parasitados e diminuiu no duodeno. O chá preto isolado tornou o muco no duodeno de animais infectados mais fluido.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao CNPq pela bolsa concedida, à minha orientadora Dra. Gessilda de Alcantara Nogueira de Melo e coorientadora Dra. Amanda Gubert Alves dos Santos e a todo o laboratório pelo auxílio na execução do projeto.

REFERÊNCIAS

ISHII, K. *et al.* Medium- chain triglycerides enhance mucous secretion and cell proliferation in the rat. **Journal of Gastroenterology**, v.44, p.204-211, 2009.

NEVES, D. P. Parasitologia dinâmica. 14ª ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2022.

PONCE-MACOTELA, M. *et al.* Goblet cells: are they an unspecific barrier against *Giardia intestinalis* or a gate? **Parasitology research**. 2007 Nov 25; 102:509-513.

REYNOSO-ROBLES, R. *et al.* The invasive potential of *Giardia intestinalis* in an in vivo model. **Scientific Reports**, v. 5, n. 1, 16 out. 2015.

SOLAYMANI-MOHAMMADI, S. Mucosal Defense Against Giardia at the Intestinal

33º Encontro Anual de Iniciação Científica
13º Encontro Anual de Iniciação Científica Júnior



10 e 11 de Outubro de 2024

Epithelial Cell Interface. **Frontiers in Immunology**, v. 13, 17 fev. 2022.

