

A INFECÇÃO POR *Trypanosoma cruzi* EM ASSOCIAÇÃO A VESÍCULAS EXTRACELULARES NÃO CAUSA ALTERAÇÕES SOBRE OS LINFÓCITOS INTRAEPITELIAIS NO INTESTINO DELGADO DE CAMUNDONGOS

Isabela Maraschi Albuquerque (PIC), Maria Gabriela Lima da Silva Zussa, Gessilda de Alcantara Nogueira de Melo (Coorientador), Amanda Gubert Alves dos Santos (Orientador). E-mail: agasantos@uem.br.

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

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

Palavras-chave: Jejun; Vesículas extracelulares; Linfócitos intraepiteliais.

RESUMO

A doença de chagas causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi* pode causar manifestações agudas e crônicas, afetando principalmente os sistemas cardiovascular e gastrointestinal. No intestino, o epitélio e os linfócitos intraepiteliais (LIEs) são essenciais para a imunovigilância da mucosa. O *T. cruzi* libera vesículas extracelulares (VEs) que modulam a resposta imune, mas a sua influência no jejuno ainda é pouco compreendida. Este estudo teve como objetivo investigar o impacto da infecção por *T. cruzi* em associação com a inoculação de diferentes VEs na quantificação de LIEs no jejuno de camundongos. Foram utilizados 30 camundongos Balb/c, distribuídos em seis grupos. Um grupo controle não foi infectado, e os outros cinco foram infectados com tripomastigotas da cepa CL Brener. Os grupos infectados receberam diferentes preparações de VEs, obtidas a partir de culturas celulares. Após 28 dias de infecção, amostras do jejuno foram coletadas e processadas para análise histológica para a contagem dos LIEs. A análise estatística não revelou diferenças quantitativas nos LIEs, o que pode estar relacionado ao tempo de infecção, ao segmento intestinal analisado ou ao fato de que os efeitos das VEs podem ser mais funcionais do que quantitativos, modulando a ativação celular em vez de sua densidade. Concluímos que são necessários estudos adicionais em diferentes períodos de infecção, em outros segmentos do trato intestinal e com foco em aspectos funcionais dos LIEs, para ampliar a compreensão da interação entre VEs e a imunidade da mucosa intestinal na doença de chagas.

INTRODUÇÃO

A Doença de Chagas, ou tripanossomíase americana, é uma infecção causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi* que permanece como um grave problema de saúde pública nas Américas. Sua transmissão ocorre principalmente por meio do vetor, mas também por outras vias, como oral, transfusional e congênita. A infecção pode

levar a manifestações agudas e crônicas, afetando de forma severa os sistemas cardiovascular e gastrointestinal. Em casos mais graves, a doença provoca o desenvolvimento de megacólon e megaesôfago (Neves, 2022).

Durante o seu ciclo de vida, o *T. cruzi* libera vesículas extracelulares (VEs), que são nanopartículas lipídicas que transportam moléculas bioativas que interagem diretamente com as células do hospedeiro, podendo modular a resposta imune. As VEs podem tanto conferir proteção quanto intensificar a infecção, a depender das condições biológicas (Cortes-Serra *et al.*, 2022).

No intestino, o epitélio intestinal atua como uma barreira física e imunológica, regulando a absorção de nutrientes e protegendo o organismo contra microrganismos. Nesse ambiente, os linfócitos intraepiteliais (LIEs) são essenciais para a imunovigilância da mucosa, eliminando células epiteliais danificadas ou infectadas e mantendo a homeostase do tecido. As próprias células epiteliais não funcionam apenas como uma barreira estrutural, elas também participam ativamente da resposta imune, modulando a atividade dos LIEs (Vandereyken *et al.*, 2020).

Apesar de seu papel central na infecção, a influência das VEs do *T. cruzi* no intestino, especialmente no intestino delgado, ainda é pouco compreendida. Diante disto, este estudo tem como objetivo analisar o impacto da infecção e das VEs sobre os LIEs no jejuno de camundongos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os experimentos foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Maringá (parecer nº 58644311022). Foram utilizados 30 camundongos machos da linhagem Balb/c, distribuídos aleatoriamente em seis grupos experimentais ($n = 5$): um grupo controle não infetado e cinco grupos infetados que receberam, por via intravenosa na veia peniana uma suspensão contendo 1×10^5 tripomastigotas da cepa CL Brener de *T. cruzi*. Para avaliar a influência das VEs, em parte dos animais também foram inoculados 5 μ l de diferentes preparações obtidas a partir de culturas celulares nas quais houve a interação de células intestinais Caco-2 ou mioblastos C2C12 com parasitos da cepa CL Brener ou da cepa Dm28c.

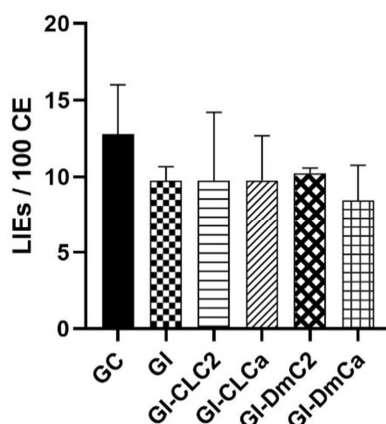
Após 28 dias de infecção, os animais foram eutanasiados por aprofundamento anestésico e fragmentos de 1 cm do jejuno foram coletados, submetidos ao processamento histológico convencional (desidratação, diafanização e inclusão em parafina), cortados em secções semi-seriadas de 5 μ m e corados com hematoxilina e eosina.

A partir destas lâminas, foi realizada a quantificação dos linfócitos intraepiteliais em microscópio óptico, onde foram quantificados os LIEs presentes entre 1260 células epiteliais. A seguir, foi realizada a proporção dessas células a cada 100 células epiteliais para as análises estatísticas.

A distribuição dos dados foi considerada normal pelo teste de Shapiro-Wilk e a comparação entre os grupos foi realizada pela Análise de Variância (ANOVA), seguida do pós-teste de Tukey. Em todos os casos, adotou-se nível de significância de $p < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos indicam que, no modelo experimental utilizado, a infecção por *T. cruzi* associada às VEs não promoveu alterações significativas na quantificação de linfócitos intraepiteliais (LIEs) no jejuno em nenhum dos grupos analisados



(Figura 1).

Figura 1 – Quantificação de linfócitos intraepiteliais (LIEs) por 100 células epiteliais (CE) no jejuno de camundongos infectados por *Trypanosoma cruzi* que receberam vesículas extracelulares (VEs). GC: Grupo controle. GI: Grupo infectado. GI-CLC2: Grupo infectado com *T. cruzi* que recebeu VEs derivadas da cultura de CL Brener em células C2C12. GI-CLCa: Grupo infectado com *T. cruzi* que recebeu VEs derivadas da cultura de CL Brener em células Caco-2; GI-DmC2: Grupo infectado com *T. cruzi* que recebeu VEs derivadas da cultura de Dm28c em células C2C12; GI-DmCa: Grupo infectado com *T. cruzi* que recebeu VEs derivadas da cultura de Dm28c em células Caco-2. Dados apresentados como média ± desvio padrão.

A ausência de alteração quantitativa nos LIEs do jejuno é um achado importante, considerando o potencial imunomodulador das VEs do *T. cruzi*. Essas vesículas são capazes de modular a resposta imune, principalmente em macrófagos, onde podem reduzir citocinas pró-inflamatórias (Lovo-Martins et al., 2018). Sugerindo assim, que o efeito das VEs é específico ao tipo celular e ao microambiente, indicando que a modulação da resposta imune intestinal pode ocorrer sem uma mudança significativa na quantidade de LIEs.

Nossos resultados podem estar relacionados ao tempo de infecção, uma vez que no período de 28 dias a resposta imunológica local pode não ter sido alterada de forma expressiva ou ainda ao segmento intestinal avaliado, sendo possível que alterações mais expressivas ocorram em regiões com maior quantidade de placas de Peyer ou em períodos mais prolongados de infecção. Outra hipótese é que a ausência de mudança quantitativa não reflete a ausência de impacto funcional. É possível que as VEs influenciem a ativação e a função dos LIEs em vez de sua quantidade.

Além disso, a diversidade na composição molecular das VEs, que varia conforme a cepa do parasito e o tipo de célula hospedeira, também pode ter influenciado nossos resultados (Ribeiro et al., 2018). Essa variabilidade pode explicar a ausência de um efeito generalizado nas VEs de diferentes origens.

CONCLUSÕES

Nossos resultados demonstraram que, no período analisado, não houve diferenças estatisticamente significativas entre os grupos experimentais, indicando que o impacto das VEs do *T. cruzi* na imunidade intestinal é complexo e não se manifesta por alterações numéricas imediatas nos LIEs. Esse achado pode estar relacionado ao tempo de infecção, ao segmento intestinal avaliado ou ao fato de que os efeitos das vesículas extracelulares ocorram de forma mais funcional que quantitativa. Assim, destaca-se a necessidade de estudos futuros que explorem diferentes períodos de infecção, outros segmentos intestinais e análises funcionais dos linfócitos intraepiteliais, a fim de aprofundar a compreensão da interação entre vesículas extracelulares e imunidade da mucosa intestinal na doença de chagas.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha orientadora Dra. Amanda Gubert Alves dos Santos, à professora Dra. Gessilda Melo, minha coorientadora, e à Ma. Maria Gabriela Lima Zussa, que me auxiliaram na realização deste projeto. Este trabalho contou com o apoio institucional da Universidade Estadual de Maringá (UEM) e com o auxílio das agências de fomento Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

REFERÊNCIAS

CORTES-SERRA, N.; et al. Extracellular Vesicles in Infection: Immunomodulatory Effects and Future Perspectives as Potential Control Tools against Chagas Disease. **Journal of Immunology Research**, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2022/9476019>. Acesso em: 10 set. 2025.

LOVO-MARTINS, M. I.; et al. Extracellular vesicles shed by *Trypanosoma cruzi* potentiate infection and elicit lipid body formation and PGE2 production in murine macrophages. **Frontiers in Immunology**, v. 9, p. 896, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00896>. Acesso em: 10 set. 2025.

NEVES, D. P. **Parasitologia humana**. 14. ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 2022.

RIBEIRO, K. S.; et al. Proteomic analysis reveals different composition of extracellular vesicles released by two *Trypanosoma cruzi* strains associated with their distinct interaction with host cells. **Journal of Extracellular Vesicles**, v. 7, n. 1, p. 1463779, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/20013078.2018.1463779>. Acesso em: 10 set. 2025.

34º Encontro Anual de Iniciação Científica
14º Encontro Anual de Iniciação Científica Júnior



12 e 13 de novembro de 2025

VANDEREYKEN, M.; et al. Mechanisms of activation of innate-like intraepithelial T lymphocytes. **Mucosal Immunology**, v. 13, n. 5, p. 721–731, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41385-020-0288-2>. Acesso em: 10 set. 2025.