

Alterações histopatológicas em camundongos AKR/J reinfectedos por *Strongyloides venezuelensis*

Alan Lane de Melo¹

Anilton César Vasconcelos²

Sandro Eugênio Pereira Gazzinelli³

Resumo

Camundongos da linhagem AKR/J reinfectedos por 500 larvas filarióides L₃ de *Strongyloides venezuelensis* apresentaram reação inflamatória nos pulmões no 3º dia e no intestino no 7º dia após a reinfecção em relação aos animais somente infectados, não verificada quando esses animais foram submetidos ao tratamento pela dexametasona. Os resultados indicam que a reação inflamatória nos pulmões e no intestino exerce um papel importante na diminuição da população dos parasitos durante o processo de reinfecção pelo *S venezuelensis* em camundongos AKR/J. Quando esses camundongos foram submetidos à terapia pela dexametasona, a resposta inflamatória apresentou-se diminuída ou suprimida, apesar de ocorrer um grande número de parasitos.

Palavras-chave. *Strongyloides venezuelensis* Camundongos AKR/J- Histopatologia; Dexametasona.

INTRODUÇÃO

O *Strongyloides venezuelensis* um parasito intestinal de roedores, tem sido mantido em camundongos da linhagem AKR/J, com passagens sucessivas desde 1987, ocorrendo sua eliminação natural do hospedeiro cerca de 14 dias após a infecção (MELO et al., 1990; MARTINS, 2004; GAZZINELLI, 2005). Por essas peculiaridades, trata-se de um modelo interessante no estudo da relação entre hospedeiro e parasito.

Verifica-se que poucas larvas de *S. venezuelensis* se desenvolvem até a forma adulta em ratos ou camundongos reinfectedos, e apenas um pequeno número de fêmeas do intestino são recuperadas, apresentando tamanho e

fecundidade reduzidos, com raros ovos encontrados nas fezes, além de aumento no número de mastócitos intestinais e diminuição do tempo necessário para eliminação do parasito (SATO; TOMA, 1990; BAEK et al., 2003; OLIVEIRA-SEQUEIRA; AMARANTE, 2001; AMARANTE; OLIVEIRA-SEQUEIRA, 2002; GAZZINELLI, 2005).

Entretanto, em casos de imunossupressão terapêutica, o curso da infecção é alterado, verificando-se aumento no número de larvas que conseguem migrar até o intestino e na fecundidade das fêmeas presentes no local, ocorrendo ainda atraso na eliminação do parasito

¹ Professor Adjunto. Departamento de Parasitologia. Instituto de Ciências Biológicas. UFMG

² Professor Adjunto. Departamento de Patologia Geral. Instituto de Ciências Biológicas. UFMG

³ Mestre em Parasitologia. Departamento de Parasitologia. Instituto de Ciências Biológicas. UFMG

Correspondência para / Correspondence to:

Alan Lane de Melo

Laboratório de Taxonomia e Biologia de Invertebrados. Departamento de Parasitologia. Instituto de Ciências Biológicas Universidade Federal de Minas Gerais.

Caixa postal 486.30123-970 Belo Horizonte - Brasil.

E-mail: aldemelo@icb.ufmg.br

(MOQBEL, 1980; BAEK et al., 2003; MARTINS, 2004; GAZZINELLI, 2005).

No presente estudo, procurou-se verificar as alterações histopatológicas nos pulmões e no intestino de camundongos da linhagem AKR/J, reinfectedados por *S. venezuelensis* e submetidos à terapia por dexametasona, glicocorticóide, com conhecidas ações antiinflamatórias e imunossupressoras.

MATERIAIS E MÉTODOS

Animais

Sessenta camundongos machos, adultos, convencionais da linhagem AKR/J, com peso de cerca de 30 gramas, provenientes do Biotério do Laboratório de Taxonomia e Biologia de Invertebrados do Departamento de Parasitologia do ICB/UFMG, foram utilizados em todos os experimentos. A linhagem de *S. venezuelensis* utilizada neste estudo, vem sendo mantida em camundongos AKR/J, com passagens sucessivas desde 1987 em condições laboratoriais (MELO et al., 1990).

Infecção e tratamento

Alíquotas de 0,5ml de suspensão com aproximadamente 500 larvas filarióides de *S. venezuelensis* foram inoculadas por via subcutânea, na região dorsal de camundongos de três grupos experimentais. O grupo **C** foi mantido como controle infectado pela primeira vez, o grupo **R** foi reinfectedado com o mesmo número de larvas 14 dias após o dia em que ocorreu a negatização do exame de fezes (28º dia após a infecção), e o grupo **D** também foi reinfectedado no mesmo período e tratado um dia antes da reinfecção, além do próprio dia, com 50mg/Kg de dexametasona, e diariamente até o 7º dia com 25mg/Kg.

Histopatologia

Os camundongos do grupo **C**, infectados pela primeira vez, e o mesmo número de animais dos grupos **R** e **D**, no terceiro, sétimo e décimo segundo dias após a reinfecção, foram

sacrificados por deslocamento cervical, para realização de cortes histológicos, sendo retirado o pulmão e o intestino desses animais. Um grupo de cinco camundongos não infectados também foi sacrificado para realização de cortes histológicos do intestino e pulmões.

O intestino delgado foi lavado com solução salina 0,85%, pH 7,2 a 37°C, para retirada das fezes e, então, dividido em quatro partes, no sentido proximal-distal (20%, 30%, 30% e 20%). Cada porção foi aberta e enrolada com auxílio de um palito de madeira, ficando a parte proximal no interior do rolinho.

Os fragmentos do pulmão e os rolinhos de intestino delgado foram fixados em formalina a 10%. Posteriormente, o material foi desidratado em séries crescentes de álcool (70º GL a absoluto), clarificado em xilol, embebido em parafina, e codificado. A seguir, foram realizados cortes de 4µm de espessura, sendo os cortes corados com Hematoxilina e Eosina para observação de reações inflamatórias.

As lâminas permanentes foram examinadas com auxílio de microscopia óptica convencional. A decodificação somente foi feita após a obtenção dos resultados.

RESULTADOS

Histopatologia

Pulmões

As lesões foram consideradas leves ou discretas no grupo **C** e no grupo **D**, no 3º dia após a infecção ou reinfecção, apresentando discreto infiltrado inflamatório e pequenos focos esparsos de hemorragias, atribuídas à passagem das larvas do parasito (FIGURA 1). No grupo **R**, por outro lado, observou-se, nesse 3º dia, uma resposta mais intensa, com lesões multifocais mais numerosas de infiltrado inflamatório constituído de macrófagos e predominantemente de linfócitos, que envolviam os vasos. Secreção mucosa, hemorragia e espessamento do interstício também estavam evidentes (FIGURA 2).

No 7º e 12º dias após infecção ou reinfecção, os pulmões dos camundongos dos quatro grupos experimentais se encontravam

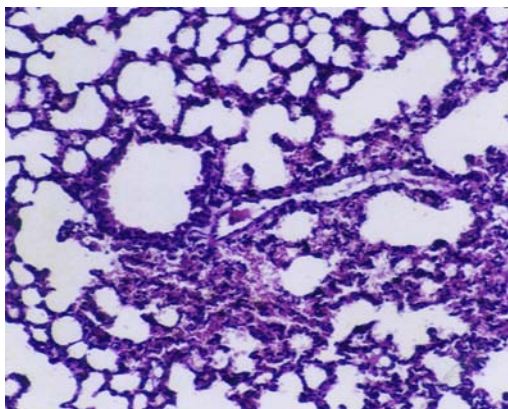


Figura 1 - Fotomicrografia do pulmão de camundongo AKR/J no 3º dia após infecção por 500 larvas L₃ de *Strongyloides venezuelensis*

Nota: Observar discreto infiltrado inflamatório e pequenos focos hemorrágicos. H & E, aumento de 264 x.

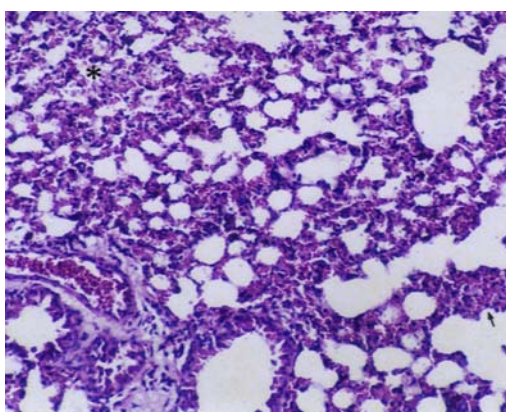


Figura 2 - Fotomicrografia do pulmão de camundongo AKR/J no 3º dia após reinfecção por 500 larvas L₃ de *Strongyloides venezuelensis*

Nota: Observar espessamento de septos interalveolares com hiperemia, infiltrados inflamatórios (→) e focos hemorrágicos (*). H & E, aumento de 132 x.

normais, com alvéolos bem aerados, sem edema, com presença de poucos linfócitos.

· Intestino

Não foram detectados parasitos no intestino de camundongos de todos os grupos no terceiro dia após infecção ou reinfecção.

No 7º dia, foi observada, nos animais do grupo **C**, a presença de parasitos no duodeno, além de infiltrado mononuclear, constituído de macrófagos e linfócitos na submucosa, e erosão das extremidades da mucosa intestinal (FIGURA 3). O grupo **R** apresentou maior intensidade e freqüência de lesões na mucosa intestinal que o grupo **C**, ocorrendo amplas áreas de necrose e desprendimento epitelial, com eliminação conjunta de restos de mucosa e parasitos, além de maior intensidade e freqüência de infiltrados inflamatórios (FIGURA 4). No grupo **D**, foram observados muitos parasitos e, ao contrário dos grupos **C** e **R**, observou-se menor reação inflamatória, não se constatando desprendimento algum do epitélio. As células caliciformes eram menos numerosas (FIGURA 5).

No 12º dia, verificou-se, no grupo **C**, que algumas extremidades do epitélio intestinal ainda se desprendiam, mas a maioria das vilosidades se encontrava íntegra ou se regenerando. Focos inflamatórios, quando presentes, eram pouco intensos. Nos grupos **R** e **D**, não ocorreu desprendimento da mucosa ou reação inflamatória, sendo observada regeneração epitelial.

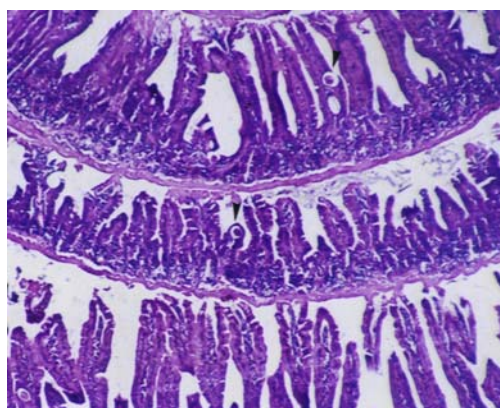


Figura 3 - Fotomicrografia de duodeno de camundongo AKR/J no 7º dia após infecção por 500 larvas L₃ de *Strongyloides venezuelensis*

Nota: Observar a presença do parasito (→), e discreto infiltrado inflamatório na submucosa. H & E, aumento de 132 x.

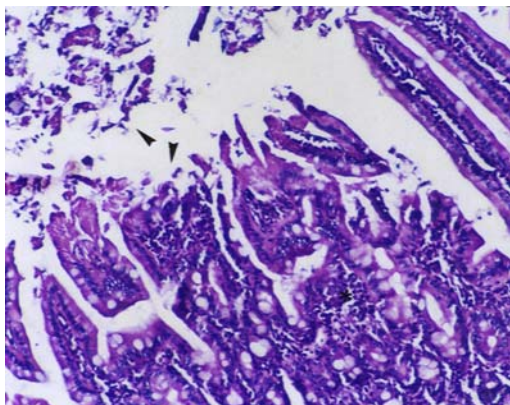


Figura 4 - Fotomicrografia de duodeno de camundongo AKR/J no 7º dia após reinfecção por 500 larvas L₃ de *Strongyloides venezuelensis*

Nota: Observar erosão e desprendimento do epitélio apical (→) e presença de intenso infiltrado inflamatório (*). H & E, aumento de 264 x.

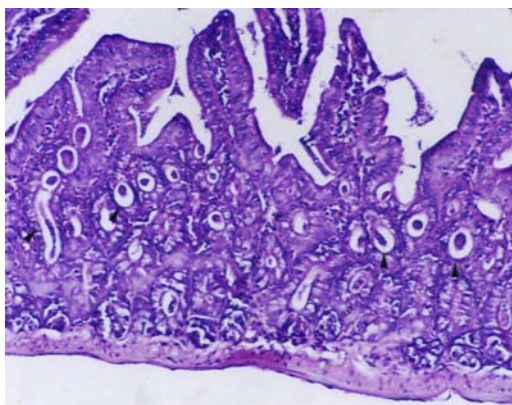


Figura 5 - Fotomicrografia de duodeno de camundongo AKR/J, tratados com dexametasona, no 7º dia após reinfecção por 500 larvas L₃ de *Strongyloides venezuelensis*

Nota: Observar pouca reação inflamatória, células caliciformes menos evidentes e presença de vários parasitos na mucosa (→). H & E, aumento de 132 x.

DISCUSSÃO

O resultado obtido no exame histopatológico dos pulmões dos animais do grupo **R**, no 3º dia após reinfecção, foi semelhante ao verificado em ratos reinfecados por *S. ratti*, com presença de intenso infiltrado inflamatório em torno das larvas (MOQBEL, 1980; DAWKINS; MUIR; GROVE, 1981). Essa reação inflamatória, verificada no período de passagem das larvas pelos pulmões, provavelmente contribui para uma pequena recuperação de larvas de *S. ratti* e de *S. venezuelensis* dos pulmões de ratos e camundongos reinfecados (MOQBEL, 1980; DAWKINS; MUIR; GROVE, 1981; GAZZINELLI, 2005).

Já no intestino delgado, no 7º dia após reinfecção, a presença de infiltrado mononuclear na submucosa e a ocorrência de desprendimento do epitélio mais exacerbado no grupo **R**, em relação aos demais grupos, provavelmente favorece uma eliminação mais rápida dos parasitos adultos do intestino desses animais, verificada por vários autores em ratos WISTAR e camundongos reinfecados por *S. ratti* ou *S. venezuelensis* (MOQBEL, 1980; MURREL, 1980; DAWKINS; GROVE, 1980; SATO; TOMA, 1990; BAEK et al., 2003; GAZZINELLI, 2005).

Entretanto, nos animais do grupo **D**, a ausência de infiltrado inflamatório ou de lesões apreciáveis nos pulmões ou intestino possivelmente está relacionada com a presença de um maior número de fêmeas adultas no intestino desses animais. Nesse sentido, ratos e camundongos AKR/J, quando tratados com dexametasona e reinfecados por *S. venezuelensis* apresentam maior recuperação de larvas dos pulmões e fêmeas do intestino, persistindo o parasitismo por um período superior em relação a animais somente reinfecados (BAEK et al., 2003; GAZZINELLI, 2005). A dexametasona, entre outros efeitos, aparentemente apresenta capacidade de inibir a migração de neutrófilos para os tecidos em que se encontra o parasito, além de suprimir a expressão de receptores da superfície de mastócitos para IgE, ocasionando diminuição na capaci-

dade de desgranulação dessas células e alterando o sistema imunológico do hospedeiro (MELO, 1990; WEISMAN et al., 1998; YAMAGUCHI et al., 2001; WINKELSTEIN et al., 2001; KAWAKAMI; GALLI, 2002; ANDRADE; IRAGUN; BEAVEN, 2004; GAZZINELLI, 2005).

Os resultados obtidos indicam que, nas reinfecções por *S. venezuelensis* em camundongos da linhagem AKR/J, as reações inflamatórias nos pulmões e no intestino participam na diminuição da população parasitária, fato que não é verificado quando esses camundongos são tratados com dexametasona e têm suas respostas inflamatórias suprimidas ou deprimidas.

Histopathological changes in AKR/J mice reinfected by Strongyloides venezuelensis

Abstract

AKR/J mice, reinfected with 500 filariform larvae (L3) of Strongyloides venezuelensis, developed a strong inflammatory reaction in the lungs and intestine on day 7 post-reinfection. When mice were treated with dexamethasone, it was not verified inflammatory reactions in the lungs or intestine. Results indicate that the inflammatory reaction in lungs and intestine play an important role in decreasing the parasitic population during reinfection with S venezuelensis in AKR/J mice, fact that is not verified when these mice are treated with dexametasona and has its inflammatory responses suppressed or depressed.

Keywords: Strongyloides venezuelensis Histopathology. Dexamethasone. AKR/J Mice

REFERÊNCIAS

- AMARANTE, A.F.T.; OLIVEIRA-SEQUEIRA, T.C.G. *Strongyloides venezuelensis* infection susceptibility of seven inbred strains of mice. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, Belo Horizonte, v.54, n.3, p.273-278, jun. 2002.
- ANDRADE, M.V.M.; HIRAGUN, T.; BEAVEN, M.A. Dexamethasone suppresses antigen-induced activation of phosphatidylinositol 3-kinase and downstream responses in mast cells. *J. Immunol.*, Baltimore, v.172, p.7254-7262, 2004.
- BAEK, B.K. et al. Characterization of the protective response against a homologous challenge infection with *Strongyloides venezuelensis* in rats. *Vet. Parasitol.*, Amsterdam, v.113, p.217-227, 2003.
- DAWKINS, H.J.S.; GROVE D.I. Kinetics of primary and secondary infections with *Strongyloides ratti* in mice. *Int. J. Parasitol.*, Oxford, v.11, p.89-96, 1980.
- DAWKINS, H.J.S.; MUIR, G.M.; GROVE D.I. Histopathological appearances in primary and secondary infections with *Strongyloides ratti* in mice. *Int. J. Parasitol.*, Oxford, v.11, p.97-103, 1981.
- GAZZINELLI, S.E.P. *Reinfecção de Mus musculus da linhagem AKR/J por Strongyloides venezuelensis Brumpt, 1934*. 2005. 86 f. Dissertação (Mestrado em Parasitologia) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2005.
- KAWAKAMI, T.; GALLI, S.J. Regulation of mast cell and basophil functions and survival by IgE. *Nat. Rev. Immunol.*, London, v.2, p.773-786, 2002.
- MARTINS, W.A. *Efeitos da microbiota digestiva normal, ceftazidina e dexametasona no curso da strongiloidíase experimental em camundongos das linhagens NIH e AKR/J*. 2004. 112f. Tese (Doutorado em Parasitologia) – Ins-

tituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2004.

MELO, A.L. *Aspectos da adesão celular a formas evolutivas de Schistosoma mansoni inoculadas na cavidade peritoneal de camundongos (Mus musculus)*. 1990. 277f. Tese (Doutorado em Parasitologia) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1990.

MELO, A.L. et al. The AKR/J mouse as a laboratory host for maintenance of cycle of *Strongyloides ratti*. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF LABORATORY ANIMAL SCIENCE, 1., 1990, Águas de Lindóia. *Resumos..* Águas de Lindóia: Colégio Brasileiro de Experimentação, 1990. p.72.

MOQBEL, R. Histopathological changes following primary, secondary and repeated infections of rats with *Strongyloides ratti*, with special reference to tissue eosinophils. *Parasite Immunol.*, Oxford, v.2, p.11-27, 1980.

MURREL, K.D. *Strongyloides ratti*: acquired resistance in the rat to the preintestinal

migrating larvae. *Exp. Parasitol.*, Orlando, v.50, p.417-425, 1980.

OLIVEIRA-SEQUEIRA, T.C.G.; AMARANTE, A.F.T. Dynamics of *Strongyloides venezuelensis* infection and relationship between fecal egg counts and parasite burden in Swiss mice. *R. Bras. Med. Vet.*, Rio de Janeiro, v.23, p.99-102, 2001.

SATO, Y.; TOMA, H. *Strongyloides venezuelensis* infections in mice. *Int. J. Parasitol.*, Oxford, v.20, p.57-62, 1990.

WEISMAN, D. et al. L-selectin expression on polymorphonuclear leukocytes and monocytes in premature babies: reduced expression following dexamethasone treatment for bronchopulmonary dysplasia. *J. Pediatr.*, St. Louis, v.132, p.53-56, 1998.

WINKELSTEIN, A. et al. *White cell*. 5th ed. Pittsburg: F. A. Davis, 2001.

YAMAGUCHI, M. et al. Regulation of mouse mast cell surface FcεRI expression by dexamethasone. *Int. Immunol.*, Oxford, v.13, p.843-851, 2001.

Recebido em / *Received*: 29/12/2005
Aceito em / *Accepted*: 25/04/2006