

ANÁLISE DO PROCESSO INFLAMATÓRIO EM CAMUNDONGOS INFECTADOS NO SUBCUTÂNEO POR *TAENIA CRASSICEPS*/ CISTICERCOSE

Gonçalves, Sabrina Fernandes¹, **Lino-Junior**, Ruy de Souza²; **Rodrigues**, Ariana Alves; **Moura**, Vânia Beatriz Lopes; **Oliveira**, Flavia Aparecida.

Palavras-Chave: Cisticercose, Patologia, Imunologia.

1. INTRODUÇÃO (justificativa e objetivos)

A *Taenia crassiceps* é um parasito de canídeos e pode ser encontrada em camundongos, experimentalmente. É similar a *T. solium*, e com o qual possui antígenos comuns. Os cisticercos da *T. crassiceps* (*Cysticercus longicollis*), quando inoculados em camundongos, multiplicam-se rapidamente no peritônio do animal. Tal fato justifica o seu intenso uso em pesquisas científicas como importante modelo experimental, principalmente em pesquisas imunológica e imunohistoquímica de diagnóstico da cisticercose (Bueno *et al.* 2000).

Existe uma correlação entre a viabilidade do parasito e a produção de citocinas. Nos primeiros estágios, a resposta imunológica é do tipo Th1, determinando a resposta citotóxica que causa a destruição do parasito. Entretanto, nos estágios mais avançados, predomina a resposta do tipo Th2, com expressão de IL4, IL5 e IL10, que desenvolvem um papel importante na modulação da resposta inflamatória, levando a uma ativação policlonal (ROBINSON *et al.*, 1997; RODRIGUES *et al.*, 2000).

O objetivo deste projeto foi comparar o número total e diferencial de células do infiltrado inflamatório no subcutâneo de camundongos BALB/c infectados com *Taenia crassiceps* / cisticercose.

2. METODOLOGIA

Foram selecionados dois grupos experimentais: 1) Cinco animais infectados com cisticercos de *Taenia crassiceps* por um período de 90 dias após inoculação (DAÍ) e; 2) Cinco animais infectados com cisticercos de *Taenia crassiceps* por um período de 300 DAÍ. Durante o preparo dos animais e o período em que ficaram infectados, não ocorreu mortalidade não programada sendo que os animais foram sacrificados utilizando-se uma câmara de CO₂. O tecido subcutâneo adjacente ao local de implantação dos cisticercos foi retirado e processado em álcoois com concentrações crescentes (70 a 100%), diafanizado em xilol e embocado em parafina. Posteriormente, foram confeccionadas 10 lâminas em cortes seriados de 4 µm de espessura, sendo 5 lâminas dos animais com 90 DAÍ e 5 lâminas dos animais com 300 DAÍ. Essas lâminas foram coradas por hematoxilina e eosina (HE) para evidenciar os tipos celulares presentes no infiltrado inflamatório (Junqueira, 1983).

Os campos para quantificação foram capturados por meio de uma câmera digital e analisados pelo sistema analisador de imagens Axiovision-Zeiss. Os dados foram avaliados em campos microscópicos, que correspondem à interface parasito-hospedeiro formada pelo granuloma e o tecido subcutâneo adjacente. Ao final, havia 25 campos para cada lâmina confeccionada. Na análise estatística foi utilizado o teste de Mann – Whitney.

Os resultados foram considerados estatisticamente significantes quando $p < 0,05$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foram encontrados trabalhos que descrevessem o processo inflamatório causado pela infecção do *Cysticercus longicollis* no subcutâneo de camundongos BALB/C.

Ambos os animais apresentavam na região dorsal do pescoço uma protuberância correspondente ao local de inóculo dos cisticercos.

Nos animais com 90 DAI, foram observados nódulos envoltos por uma membrana levemente brancacenta, delgada, onde foi possível visualizar os parasitos no interior destes. Notou-se que os cisticercos estavam viáveis e ao redor do nódulo observou-se hiperemia ativa e inflamação crônica.

Nos animais com 300 DAI observou-se uma lesão nodular de coloração amarelada, circundada por uma membrana espessada característica do processo de fibrose. A área ao redor do nódulo apresentava hiperemia ativa e inflamação crônica.

As análises foram feitas em animais adultos (5 meses de idade – 90 DAÍ) e animais idosos (12 meses de idade – 300 DAÍ). Na microscopia dos campos obtidos observou-se a formação de um granuloma (Inflamação Crônica Granulomatosa).

Nos animais adultos (90 DAÍ) encontrou-se grande concentração de células totais ($n=62$) com predomínio de macrófagos ($n=59$). Havia também hiperemia, cristais de colesterol e áreas de necrose. Além de macrófagos, podiam ser vistos linfócitos ($n=2$), polimorfonucleares ($n=1$) e plasmócitos, sendo esta última célula menos freqüente (Tabela 1). O número total de polimorfonucleares apresentou um ligeiro aumento em relação aos animais de 300 DAÍ.

Na microscopia dos animais idosos (300 DAÍ) observou-se um decréscimo no número de células totais ($n=51$), mais ainda com o predomínio de macrófagos ($n=47$). Houve um aumento no número de linfócitos ($n=4$) em relação aos animais de adultos ($n=2$) e o granuloma encontrava-se espessado devido ao aumento de colágeno. Observaram-se macrófagos com depósitos de hemossiderina, cristais de colesterol, áreas de necrose e calcificação.

Tabela 1: Comparação dos tipos celulares encontrados entre os animais de 90 e 300 DAI (Dias Após Inoculação).

	90 DAI Mediana (min-max)	300 DAI mediana (min-max)	P*
Macrófago	59 (23-106)*	47 (44-139)	<0,001
Linfócito	2 (0-4)	4 (0-58)*	<0,001
Polimorfonucleares	1 (0-9)*	0 (0-4)	<0,443
Total	62 (17-125)*	51 (23-187)	<0,008

Legenda: DAI = Dias após infecção, Min = mínimo, Max = Maximo. Teste de Mann-Whitney.

* $p < 0,05$

4. CONCLUSÕES

O número de macrófagos é significativamente menor nos animais de 300 DAI, mas o número de linfócitos tende a aumentar. Foi observada a presença de inclusões de colesterol e hemossiderina.

Notou-se um maior número de polimorfonucleares nos animais com 90 DAI.

Conclui-se que o número de células totais diminui de modo significativo nos animais com 300 DAI. Isso se deve à evolução da inflamação para a cura por fibrose. Neste processo, as células inflamatórias são substituídas por fibroblastos que secretam fibras colágenas e elásticas.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BUENO E. C., VAZ A. J., MACHADO L. R., LIVRAMENTO J. A., MIELLE S. R. Specific *Taenia crassiceps* and *Taenia solium* antigenic peptides for neurocysticercosis immunodiagnosis using serum samples. *Journal of Clinical Microbiology*, vol. 38, n.1, p. 146-151, 2000.
2. Junqueira, L.C.U.; Junqueira, L.M.M.S. Técnicas Básicas de Citologia e Histologia, cap 5, p 39 –67, 1ª ed, 1983.
3. Padilla, Alejandro; Govezensky, Tzipe; Sc lutto, Edda; Jimenez-Garcia, Luis; Gosenbatt E., Maria; Ramirez, Patrícia; Larralde, Carlos. Kinetics and Characterization of Cellular Responses in the Peritoneal Cavity of Mice Infected with *Taenia crassiceps*. *The journal of Parasitology*, vol. 87, n.3, p. 591-600, 2001.
4. ROBINSON, P., ATMAR, R.L., LEWIS, D.E., WHITE, A.C. Granuloma cytokines in murine cysticercosis. *Infection and Immunity*, v.65, p.2925-2931, 1997.
5. RODRIGUES, JR. V., MELLO, F.A., MAGALHÃES, E.P., RIBEIRO, S.B.F., MARQUEZ, J.O. Interleukin-5 and interleukin-10 the major cytokines in cerebrospinal fluid from patients with active neurocysticercosis. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, v.33, p.1059-1063, 2000.

FONTE DE FINANCIAMENTO – CNPq/PIBIC

¹Bolsista de iniciação científica. Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, sabrina_fernandes20@hotmail.com.

²Orientador/Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública/ Departamento de Microbiologia, Patologia, Imunologia e Parasitologia/UFG, ruy@iptsp.ufg.br.