

O PAPEL DE LINFÓCITOS, CÉLULAS CALICIFORMES E MACRÓFAGOS NA MUCOSA INTESTINAL DE ANIMAIS INFECTADOS POR *TOXOCARA VITULORUM* E OUTROS HELMINTOS INTESTINAIS

Bianca Estevão Rio Criado¹, Thaís da Silva Alves¹, Maurício Stringhetta Mello^{2,6}, Ane Pamela Capucci Torres^{3,6}, Wilma Aparecida Starke-Buzetti^{4,6}, Maria Francisca Neves^{5,6*}

¹ Graduando em Medicina Veterinária, Faculdades Integradas de Três Lagoas- FITL/AEMS; ² Esp. em Reprodução Animal – UNOESTE; ³ Doutora em Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Pública – FCAV/UNESP; ⁴ Doutora em Patologia Animal – FCAV/UNESP; ⁵ Doutora em Zoologia – UNESP; docente da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira – FEIS/UNESP; ⁶ Docente das Faculdades Integradas de Três Lagoas – FITL/AEMS

* autor correspondente: mariafranciscaneves@yahoo.com.br

RESUMO

A expulsão espontânea dos parasitas helmínticos de um hospedeiro é sem dúvida um evento imune com componentes da imunidade inata e adquirida. Numerosas células imunes e seus mediadores foram relacionados às alterações intestinais que acompanham a infecção helmíntica e que participam da expulsão do parasita. Em infecção natural por *Toxocara vitulorum* e outros helmintos, é evidente a hiperplasia de células imunoinflamatórias, que migram para a camada intraepitelial da mucosa intestinal, para atuarem o mais próximo possível dos parasitas. Entre estas células destacam-se os linfócitos intraepiteliais (LIE), as células caliciformes e os macrófagos que possuem importante participação na defesa da mucosa contra infecções parasitárias do lúmen intestinal.

PALAVRAS-CHAVE: linfócitos intraepiteliais; células caliciformes; macrófagos; infecção helmíntica.

1 INTRODUÇÃO

Vários estudos sobre os aspectos imunológicos em infecções helmínticas vêm sendo desenvolvidos com fins de diagnóstico e de controle através da produção de vacinas protetoras. Com relação ao parasita *T. vitulorum*, tem se constatado recentemente que os búfalos quando parasitados naturalmente, são capazes de ser estimulados imunologicamente e armar uma resposta imune celular e humoral. Resta saber se esta resposta imunológica é protetora contra esta infecção. Souza et al. (2004) estudaram as respostas imunes em bezerros búfalos mensurando os níveis de anticorpos contra os antígenos de *T. vitulorum* através do imunoenensaio ELISA indireto e observaram que os animais desenvolveram uma resposta imune humoral por ocasião da expulsão dos parasitas. Poste-

riormente, Ferreira (2002), fracionando estes mesmos antígenos pelo SDS-PAGE, detectou várias bandas de polipeptídeos para os antígenos de *T. vitulorum* e observou que a maioria destas frações antigênicas foi reconhecida por todas as amostras de soro dos bezerros e de soro/colostró das búfalas quando analisadas pelo Western Blot. Em seguida, Paula (2003) imunizou camundongos utilizando estes antígenos e verificou que eles inibiam a migração larval.

A expulsão espontânea dos parasitas helmínticos de um hospedeiro não permissivo é, sem dúvida, um evento imune com componentes da imunidade inata e adquirida. Numerosas células imunes e seus mediadores foram relacionados às alterações intestinais que acompanham a infecção helmíntica e que participam da expulsão do parasita. Estas incluem as células caliciformes/muco,

mastócitos/histaminas, eosinófilos, complemento, anticorpos e citocinas (PALMER; MEERVELD, 2001).

O objetivo deste trabalho é descrever as respostas imunes que ocorrem na mucosa intestinal de animais infectados por *Toxocara vitulorum* e outros helmintos intestinais.

A revisão destacou a importância de linfócitos, células caliciformes e macrófagos em animais parasitados naturalmente por helmintos, com consequente expulsão destes parasitas e a recuperação da infecção helmíntica.

2 LINFÓCITOS, CÉLULAS CALICIFORMES E MACRÓFAGOS NA MUCOSA INTESTINAL DE ANIMAIS INFECTADOS POR *TOXOCARA VITULORUM* E OUTROS HELMINTOS INTESTINAIS

Morfologicamente a mucosa do intestino delgado está disposta de maneira a formar dobras em direção ao lúmen intestinal (placas circulares) e pequenos vilos. Normalmente, os vilos são levemente mais curtos e grossos no duodeno, muito compridos no jejuno e, de menor comprimento no íleo. No duodeno, a proporção normal do comprimento do vilos para a profundidade da cripta é de 3 ou 5:1 (CHANG et al., 2005). O epitélio é composto por uma camada de células de epitélio colunar e estas células epiteliais originam-se da base da cripta. As células da camada epitelial têm funções específicas: as células absorptivas possuem microvilosidades em sua superfície luminal, formando uma borda em escova; as células de Paneth possuem grandes grânulos eosinofílicos apicais contendo proteínas microbicidas; as células caliciformes estão envolvidas na secreção de muco e; as células M facilitam a captura de antígenos (CUVELIER et al., 2001).

Acima da camada epitelial está o glicocálice composto de um complexo de glicoproteínas e mucinas. Esta camada de muco é uma importante barreira física para os patógenos, onde estes

organismos ficam presos e são levados para fora juntamente com as fezes (THOMSON et al., 2001).

A submucosa contém tecido conjuntivo juntamente com pequenos vasos sanguíneos, linfáticos e células nervosas do sistema nervoso autônomo do intestino ou plexo de Meissner. As glândulas de Brünner estão presentes na submucosa do duodeno proximal e são glândulas mucosas que secretam íons de bicarbonato, glicoproteínas e pepsinogênio II (CUVELIER et al., 2001). Existem também células linfóides agregadas com ou sem formação folicular. Os folículos linfóides, ou placas de Peyer, podem ultrapassar a muscular da mucosa e estender-se para a submucosa (CHANG et al., 2005).

Em ovinos, as placas de Peyer é um grande tecido linfóide responsável pela formação da maioria dos linfócitos B (REYNOLDS, 1987). A taxa de produção dos linfócitos B é de 3,6 bilhões de células por hora (REYNOLDS, 1986), podendo a placa de Peyer dobrar de tamanho, mas isto não ocorre porque aproximadamente 95% dos linfócitos B produzidos morrem por apoptose (MOTYKA; REYNOLDS, 1991).

O intestino contém dois compartimentos linfóides principais: o tecido linfóide associado a mucosa (MALT) e as células linfóides difusa da mucosa. O intestino é o maior órgão linfóide do corpo pela quantidade de linfócitos e imunoglobulinas produzidas. Isto reflete a enorme carga de antígenos o qual são expostos diariamente (CHEROUTRE; MADAKA-MUTIL, 2004). As células linfóides difusas da mucosa consistem em linfócitos intra-epiteliais (LIEs) e linfócitos da lâmina própria (CUVELIER et al., 2001). Devido à sua estratégica localização, os LIEs provavelmente são importantes na preservação da integridade da mucosa. A própria lâmina normal está infiltrada com linfócitos, células plasmáticas, macrófagos, eosinófilos e ocasionalmente mastócitos (CHANG et al., 2005).

A primeira barreira da mucosa

intestinal consiste de células epiteliais e linfócitos intraepiteliais. Os LIEs constituem a principal população de linfócitos residentes próximos ao lúmen intestinal. Na coloração por hematoxilina e eosina (HE), linfócitos intraepiteliais tem um padrão cromático do núcleo basofílico, contorno nuclear irregular e um halo perinuclear claro. Fenotipicamente, os LIEs são linfócitos T, onde a maioria (>70%) são células T CD4-/CD8+ e menos de 20% são células T CD4+. As células B não estão presentes. Entretanto, no epitélio associado ao folículo (FAE), existem mais LIEs do tipo CD4+ CD8-. Entre as células M e os folículos linfóides subjacentes estão os linfócitos B intraepiteliais (CHÉROUTRE; MADAKAMUTIL, 2004).

Segundo Simecka (1998), os linfócitos intraepiteliais não tiveram ainda suas funções bem definidas, porém acredita-se que formam uma primeira linha de defesa contra infecções em mucosas e possuem citocinas e atividades reguladoras. Carroll et al. (1984) verificaram as mudanças nos números de linfócitos intraepiteliais granulares e agranulares em camundongos infectados com *Strongyloides ratti*. Na infecção primária, ocorreu pouca mudança no número de linfócitos intraepiteliais granulares no princípio da infecção, o aumento destas células foi evidenciado algumas semanas após a expulsão dos parasitas e, a quantidade destas células granulares não se modificou na infecção secundária. Em contraste, o número de linfócitos intraepiteliais agranulares mostrou-se maior no princípio da infecção primária e declinou após uma infecção secundária (CARROLL et al., 1984).

Guy-Grand et al. (1978) sugeriram que os linfócitos intraepiteliais granulares fossem precursores de mastócitos. Neste caso, a função destas células em animais infectados com helmintos estaria relacionada com os papéis de mastócitos na lâmina própria e possivelmente com leucócitos globulares (CARROLL et al., 1984). Por outro lado, associa-se tanto linfócitos

intraepiteliais granulares como o agranulares com atividades de células “natural killer” (NK) (FLEXMAN et al., 1983). Por esta razão, os dois tipos celulares estariam envolvidos na defesa do hospedeiro contra o parasita (CARROLL et al., 1984).

O *Toxocara vitulorum* é nematódeo de grande porte pertencente à Família Ascarididae que parasita o intestino delgado de ruminantes (SMITH, 1994) e principalmente de búfalos d'água (*Bubalus bubalis*) (ROBERTS, 1989). Este nematódeo causa anorexia, diarreia ou constipação, desidratação e cólicas no hospedeiro, podendo levá-lo até a morte em alguns casos (DAS; SINGH, 1955). Patnaik e Pande (1963) listaram-no em primeiro lugar na ordem de prevalência e patogenicidade para bezerros búfalos bem jovens, nos primeiros quatro meses de vida. Reforçando essa afirmação, Starke et al. (1992) constataram a presença de larvas de *T. vitulorum* no colostro e leite de 14 búfalas examinadas (70%) no período entre o parto e o 26º dia pós-parto. Dos bezerros búfalos, 26,7% encontravam-se parasitados nos primeiros 10 dias, e 100 % aos 30 dias de vida.

Além disso, STARKE et al. (1983) e NEVES et al. (2003) demonstraram que o *T. vitulorum* é prevalente em bezerros búfalos com até quatro meses de idade onde o pico máximo da infecção se dá em torno dos 30 aos 50 dias. A partir de então ocorre auto-cura onde os búfalos eliminam espontaneamente os parasitas com as fezes e em seguida não mais se reinfectam com adultos.

Com relação à imunidade, Roberts (1993) relatou que búfalas adultas produzem anticorpos contra o antígeno excretor-secretor (ES) e somático de *T. vitulorum*. Os anticorpos passam para seus bezerros através do colostro (RAJAPAKSE et al., 1994a; SOUZA et al., 2004). Além disso, Amerasinghe et al. (1992) constataram imunidade humoral em camundongos imunizados com antígenos larvais e adultos de *T. vitulorum* após vários desafios com ovos infectantes deste parasita.

A confirmação da existência de anticorpos específicos foi verificada *in vitro* incubando-se o soro de bezerros búfalos recém-nascidos com larvas de *T. vitulorum*, pela formação de precipitados orais nas larvas e pela morte das mesmas 72 horas após (ROBERTS, 1993).

Rajapakse et al. (1994b) constataram imunidade humoral em ratos pela redução do número de larvas nos tecidos após a injeção de soro e colostro de búfalas adultas infectadas naturalmente com *T. vitulorum*. Starke-Buzetti et al. (2001) e Souza et al. (2004) estudaram as respostas imunes em bezerros búfalos mensurando os níveis de anticorpos contra os antígenos extrato larval bruto (Ex) de larvas infectantes de *T. vitulorum* através do imunoensaio ELISA indireto. Estes autores observaram que a quantidade de anticorpos se encontrava elevados nos animais recém-nascidos logo após a ingestão do colostro. Este aumento permaneceu até 15 dias, decresceu entre 15-30 dias e permaneceu relativamente estável até 120 dias de idade. Como os parasitas são expulsos pelos hospedeiros e estes não se reinfectam, sugere-se que os animais desenvolvem resposta imune protetora.

Algumas pesquisas sobre tipos de hipersensibilidades, principalmente relacionadas com linfócitos T, mostraram que hospedeiros mamíferos possuem mecanismos imunes contra uma variedade de organismos patogênicos diferentes. Isto inclui ambos os componentes, humoral e celular, que podem agir independentemente ou em várias combinações. A infecção por helmintos apresenta um particular problema para o hospedeiro devido ao seu tamanho, dificultando o processo de destruição pelo sistema imune humoral e celular (MEEUSEN, 1999). Nos últimos 10 anos, significativo progresso nos métodos científicos, tem fornecido informações sobre os mecanismos celulares e moleculares induzindo a uma imunidade contra infecções de helmintos parasitas, particularmente após as descobertas de

citocinas liberadas por linfócitos T (MOSMANN; COFFMAN, 1989).

Recentes estudos com roedores infectados com *T. spirallis*, *H. polygyrus*, *N. brasiliensis* e *T. muris* tem proporcionado importantes informações acerca dos mecanismos imuno protetores contra nematódeos gastrointestinais. Destes estudos, Finkelman et al. (1997) destacaram, em uma revisão, quatro generalizações: 1) linfócitos T CD4⁺ são células críticas para a proteção do hospedeiro contra helmintos; 2) IL-12 e IFN γ produzidos por linfócitos Th1 inibem a imunidade protetora; 3) IL-4, produzida por linfócitos Th2 pode: a) ser necessária para a proteção do hospedeiro e expulsão do parasita, b) limitar a severidade da infecção, ou c) induzir mecanismos protetores redundantes e 4) algumas citocinas produzidas em resposta à infecção gastrointestinal podem falhar em induzir a proteção do hospedeiro contra alguns parasitas. Ainda segundo Finkelman et al. (1997), os hospedeiros podem apresentar habilidades para reconhecer características de certos parasitas e estimular resposta protetora efetiva. Por outro lado, os hospedeiros podem também organizar um conjunto de mecanismos de defesa contra os parasitas, mesmo se não necessários para protegê-los contra esse particular parasita e desta maneira causando danos ao hospedeiro infectado.

As células caliciformes também estão associadas aos mecanismos de expulsão de helmintos intestinais (NAWA et al., 1994). Uma variedade de mecanismos foi proposta nos quais as células caliciformes estavam relacionadas com a resistência contra parasitas através da secreção de muco (CARLISLE et al., 1991). Starke e Oaks (2001) estudando a dinâmica de populações de células no intestino de ratos infectados por *H. diminuta*, verificaram aumento na população de células caliciformes, mostrando o papel funcional desta célula em resposta a esta infecção. As mudanças físicas na superfície luminal do intestino causada pelo

aumento do muco liberado por células caliciformes podem ter importante papel na interação física entre hospedeiro e o parasita e assim dificultar a migração deste último dentro do intestino.

Ishikawa et al. (1994) demonstraram que linfócitos T estimulam alterações na secreção das células caliciformes intestinais em ratos parasitados por *N. brasiliensis*. Estas alterações foram o aumento do muco e do número das células caliciformes, diretamente relacionadas com a diminuição no tempo de expulsão deste parasita. Além disso, Carroll et al. (1984) observaram após a primeira infecção com *S. ratti* em camundongos, aumento gradual no número de células caliciformes, com o pico ao redor do décimo segundo dia, que era seguido por rápido declínio. Vinte e oito dias depois da infecção, este número voltou ao normal. Na infecção secundária, o aumento destas células foi mais rápido e o pico foi observado já no sexto dia. Com relação ao *N. brasiliensis*, Levy e Frondoza (1983) observaram que na primeira infecção ocorria um aumento do muco secretado por células caliciformes no jejuno. Mas, durante a segunda semana, estes parasitas estavam envolvidos pelo muco e deslocados para a porção final do intestino, em fase de expulsão.

Os macrófagos fazem parte do sistema mononuclear fagocítico, formam-se na medula óssea, circulam pela corrente sanguínea como monócitos e se diferenciam em macrófagos nos tecidos assim como fígado (células de Kupffer), pulmão (macrófagos alveolares) e peritônio (macrófagos peritoniais) (TAKEMURA; WERB, 1984). Esta célula é um importante componente do sistema imune inato, um fagócito essencial para a defesa do hospedeiro. Além da fagocitose, a secreção de substâncias derivadas destas células também tem um importante papel nas respostas inflamatórias (NATHAN, 1986), podendo funcionar como células exterminadoras, ter atividades pro e/ou anti-inflamatórias e

responder a sinais adaptativos através de uma variedade de citocinas e moléculas coestimulatórias (NOËL et al., 2004). Deste modo, através da sua abundância, distribuição e motilidade, os macrófagos podem influenciar diretamente nas respostas imune e inflamatória, de forma aguda ou na hipersensibilidade tardia, desde a primeira lesão no epitélio até o processo de reparação.

Ao encontrar um material estranho ou um microrganismo, os macrófagos auxiliam na inflamação aguda através da secreção de mediadores, assim como prostaglandinas, fator ativador de plaquetas, leucotrieno C e enzimas proteolíticas. Outros participantes da inflamação aguda, assim como os polimorfonucleares, são atraídos para o local da inflamação por estes mediadores liberados por macrófagos. Caso a reação inflamatória seja controlada, os macrófagos desempenham um papel central na reparação do tecido. Eles secretam fatores de coagulação para limitar o processo de reparo, proteases neutras que removem fragmentos da matriz extracelular ou outros *débris* além de fatores angiogênicos e mitogênicos, que promovem a migração e proliferação de fibroblastos e células endoteliais. Este local será reconstituído por suprimento sanguíneo e tecido conjuntivo (TAKEMURA; WERB, 1984).

Quando o material estranho persiste, ocorre a fase crônica da inflamação e os macrófagos podem participar na excessiva destruição do tecido pela secreção de proteases neutras que são efetivas em pH neutro, ou pela secreção de hidrolases ácidas efetivas em pH ácido, produzindo fibrose excessiva pela secreção de mitógenos pelos fibroblastos (TAKEMURA; WERB, 1984). Estas células podem também ser identificadas por sua capacidade de produzir óxido nítrico (NO) juntamente com a maior expressão do complexo principal de histocompatibilidade de classe II (MHC II) e do CD86 (NOËL et al., 2004). O NO é uma molécula citotóxica/citostática, que inibe o

crescimento e a função de diversos agentes infecciosos, assim como bactérias, fungos protozoários e helmintos parasitas (WOODS et al., 1994). Além do NO, os macrófagos podem liberar citocinas pró-inflamatórias como TNF α , IL-1, e IL-6. Deste modo, a persistência do processo inflamatório muitas vezes resulta em destruição do próprio tecido (NOËL et al., 2004).

Além disso, as funções efetoras de macrófagos influenciam a qualidade, a duração e a magnitude de muitas reações inflamatórias. Tradicionalmente foram descritos como fagócitos, apresentadores de antígenos que secretam mediadores pró-inflamatórios e antimicrobianos (GORDON, 2003).

As infecções por helmintos induzem uma forte resposta imune Th2 em seus hospedeiros. Porque e como os helmintos induzem esta resposta são questões ainda sem respostas. Holland et al. (2000) sugeriram que os produtos excretados/secretados de helmintos têm uma importante participação na resposta Th2. As infecções helmínticas modificam a resposta imune normal do hospedeiro contra outros estímulos antigênicos (COX, 2001) e/ou modifica a suscetibilidade a outros parasitas ou vírus (ACTOR et al., 1993), sugerindo uma importante influência destas infecções no microambiente imunológico (RODRÍGUEZ-SOSA et al., 2002). Estudos sugerem que os macrófagos quando ativados alternativamente desempenham importante papel na resposta Th2 induzida por infecções por nematódeos (ALLEN; LOKE, 2001). Estes macrófagos, ativados alternativamente, também foram mencionados em filarioses, podendo induzir a diferenciação de células T em Th2 (LOKE et al., 2000a). Alguns estudos sugeriram que o concomitante padrão Th2 de produção de citocinas por CD4+ seguido da interação com macrófagos ativados alternativamente podem explicar os níveis reduzidos de IFN- γ e IL-12 observados em certas infecções helmínticas e a inclinação à

resposta tipo Th2 para novos desafios antigênicos resultante de coinfeções helmínticas (KURODA et al., 2001).

De acordo com estudos *in vitro* realizados por Kuroda et al. (2001), o padrão de produção de citocinas por macrófagos na presença de antígenos de *Toxocara canis* e soro imune proveniente de camundongos infectados, mostrou-se alterado; enquanto a produção de IL-10 e TGF- β estava aumentada, a produção de IL-12 e TNF- α estava diminuída. A IL-12 tem um importante papel na polarização da resposta imune para Th1 e a produção de IL-12 por macrófagos está regulada por muitas citocinas (WU et al., 1993). Porém, Kuroda et al. (2001) verificaram que, quando cada componente foi analisado individualmente, a diminuição de IL-12 e TNF- α não estava relacionada com a diminuição de TNF- α , IL-10, TGF- β e de prostaglandinas e com o aumento de IL-4. No entanto, quando em conjunto, a alteração na concentração de citocinas como IL-4, IL-1 TGF- β e de prostaglandinas poderia modular e diminuir a secreção de IL-12 por macrófagos e direcionar a resposta preferencialmente para Th2 na infecção por *T. canis* em camundongos. Desta forma, o *T. canis* poderia polarizar macrófagos por uma via alternativa para seletivamente secretar alguns tipos de citocina, mas não outros. No entanto, o padrão de citocinas nas infecções helmínticas ainda merece maior atenção e estudo.

Na imunidade a helmintos as células T citotóxicas falham algumas vezes em destruir parasitas, já as populações de células fagocíticas, incluindo macrófagos e neutrófilos, muitas vezes desempenham esta tarefa com sucesso (CAPRON et al., 1982). Macrófagos destruíram significativo número de schistosomas (estágio encontrado na pele) *in vitro* na ausência da adição de anticorpo (JAMES et al., 1982), sugerindo que macrófagos ativados podem não somente desempenhar um importante papel na resistência natural ao *Schistosoma*, além de, também,

participar de vários mecanismos imunes envolvidos no desenvolvimento de imunidade adquirida a este parasita (CAPRON et al., 1983).

Durante as infecções por nematódeos, Olgilvie et al. (1978), verificaram que a população de fagócitos mononucleares podia aumentar. Posteriormente, Mackenzie et al. (1980) observaram, *in vitro*, macrófagos destruindo larvas de *N. brasiliensis* na presença de complemento e o aumento na mortalidade de larvas de *T. spiralis* mediada por eosinófilos IgG-dependente. Ouaiissi et al. (1981) demonstraram em estudo ultraestrutural *in vitro* a interação entre macrófagos e microfilárias na presença do anticorpo IgE, e observaram um processo sequencial de morte: primeiro ocorreu a aderência dos macrófagos à superfície do parasita: após oito horas de contato, as células emitiram seus pseudópodos ao redor da microfilária, envolvendo o parasita; após 16 a 24 horas seguiu-se a hipertrofia do complexo de Golgi, retículo endoplasmático e lisossomos dos macrófagos; o acúmulo de grânulos lisossomais ao redor do parasita, junto com a ruptura de sua cutícula que resultou na perda de seu material intracelular.

O mecanismo de morte celular através da citotoxicidade celular mediada por anticorpo (ADCC) também foi observado em outras infecções por nematódeos, principalmente os filarídeos, onde as células mais importantes neste processo eram macrófagos e eosinófilos e, a imunoglobulina era a IgE (FALCONE et al., 2001).

Alguns trabalhos interessantes mostraram a interação entre as células mastócitos e macrófagos desempenhando diferentes funções na resposta imune em infecções de um modo geral. Brooks et al. (2000) observaram que mastócitos tem a capacidade de ligar-se ao IFN- γ via glicosaminoglicanas (GAGs) e apresentá-lo à macrófagos ativos, mostrando uma nova função desempenhada por mastócito como uma célula

apresentadora de citocina. Visto que mastócitos são residentes em muitos tecidos e também são recrutados aos locais de inflamação (ANDERSON et al., 1997), eles poderiam sequestrar estas citocinas e transportá-las para dentro dos tecidos (BROOKS et al., 2000). Além disso, mastócitos apresentando do IFN- γ aos macrófagos, estimularia este último a produzir óxido nítrico que por sua vez induziria a estabilização de mastócitos (DeSCHOLMEESTER et al., 1999), representando um possível mecanismo de feedback negativo na ativação destas células (BROOKS et al., 2000).

Outro tipo de colaboração é quando mastócitos estimulados, antigenicamente ou por qualquer outro fator, liberam seus grânulos gerando um processo inflamatório. Após este processo, os componentes residuais destes grânulos que são componentes solúveis, como as proteases neutras e heparina, permanecem no fluido extracelular. Estas estruturas negativamente carregadas ligavam-se a estruturas básicas através de ligações iônicas, como lipídeos de baixa densidade (LDL) e outras drogas, formando compostos insolúveis que eram fagocitados posteriormente por macrófagos. Outras células como as da musculatura lisa das paredes de artérias podem fagocitar compostos lipídicos e iniciar o processo de arteriosclerose (DECORTI et al., 2000).

Por outro lado, o sistema imune depende de macrófagos por serem um participante incondicional do sistema imune inato, agindo como uma sentinela contra patógenos invasores, esta célula é crucial como primeira linha de defesa, além de manter a homeostase dos tecidos através da rápida fagocitose de células apoptóticas (BHOGAL et al., 2004). Assim, os macrófagos residentes nas placas de Peyer do íleo de ovinos, mediarão a fagocitose e a remoção de linfócitos B apoptóticos e na ausência de macrófagos a apoptose destas células induziria a uma resposta inflamatória descontrolada neste local (BHOGAL et al., 2004). Além disso,

Galeazzi et al. (2000) observaram que na infecção por *T. spiralis* em camundongos a liberação de acetilcolina pelo plexo miotérico era suprimida e verificaram que a presença de macrófagos durante esta infecção era responsável pela alteração da função neuronal.

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A expulsão espontânea dos parasitas helmínticos de um hospedeiro é sem dúvida um evento imune com componentes da imunidade inata e adquirida. Numerosas células imunes e seus mediadores foram relacionados às alterações intestinais que acompanham a infecção helmíntica e que participam da expulsão do parasita. Entretanto, apesar de esforços extensivos em pesquisas, um único mecanismo imune ou um tipo celular crítico ou decisivo para a expulsão ainda não foi identificado. Desta forma, em um animal imunocompetente, a expulsão eficiente dos parasitas entéricos está mais em função de uma resposta coordenada e multicelular envolvendo células imunes, mielóides, epiteliais e nervosas.

REFERÊNCIAS

ACTOR, J. K. et al. Helminth infection results in decreased virus-specific CD8+ cytotoxic T-cell and Th1 cytokine responses as well as delayed virus clearance. Proc. Natl. Acad. Sci., USA, v. 90, p. 948-952, 1993.

ALLEN, J. E.; LOKE, P. Divergent roles for macrophages in lymphatic filariasis. Parasite Immunology, v. 23, p. 345-352, 2001.

AMERASINGHE, P. H., RAJAPAKSE, R. P. V. J., FERNANDO, S. T. Antigen-induced protection against infection with *Toxocara vitulorum* larvae in mice. Parasitology Research, v. 78, p. 643-7, 1992.

ANDERSON, D. F. et al. Seasonal

allergic conjunctivitis is accompanied by increased mast cell numbers in the absence of leukocyte infiltration. Clinical Experimental Allergy, v. 27, p. 1060, 1997.

BHOGAL, H. S. et al. The role of macrophages in the removal of apoptotic B-cells in the sheep ileal Peyer's patch. Developmental and Comparative Immunology, v. 28, p. 843-853, 2004.

BROOKS, B. et al. Presentation of IFN- γ to nitric oxide-producing cells: Novel function for mast cells. The journal of immunology, v. 164, p. 573-579, 2000.

CAPRON, A. et al. Effector mechanisms of immunity to schistosomes and their regulation. Immunological Reviews, v. 61, p. 41-66, 1982.

CAPRON, A. et al. Macrophages as effector cells in helminth infections. Society of Tropical Medicine and Hygiene, v. 77, n. 5, p. 631-635, 1983.

CARLISLE, M. S.; MCGREGOR, D. D.; APPLETON, J. A. intestinal mucus entrapment of *Trichinella spiralis* larvae induced by specific antibodies. Immunology, v. 74, p. 546- 51, 1991.

CARROLL, S. M. et al. Kinetics of intestinal lamina propria mast cells, globule leukocytes, intraepithelial lymphocytes, goblet cells and eosinophils in murine. In Article Allergy Aplicata Immunology, v. 74, p. 311-17, 1984.

CHANG, F.; MAHADEVA, U.; DEERE, H. Pathological and clinical significance of increased intraepithelial lymphocytes (IELs) in small bowel mucosa. Acta Pathologica, Microbiologica et Immunologica Scandinavica, v. 113, n. 6, p.385, 2005.

CHEROUTRE, H.; MADAKAMUTIL, L. Acquired and natural memory T cells join forces at the mucosal front line. Nature

- Review Immunology, v. 4, p. 290-300, 2004.
- COX, F. E. Concomitant infections, parasites, and immune responses. *Parasitology*, v. 122, p. S23-S38, 2001.
- CUVELIER, C. et al. Interpretation of ileal biopsies: morphological features in normal and diseased mucosa. *Histopathology*, v. 38, p. 1-12, 2001.
- DAS, K. M.; SINGH, G. B. Calf ascariasis in India. A nine years survey with special reference to "Hetrazan". *British Veterinary Journal*, v. 111, p. 342-7, 1955.
- DECORTI, G. et al. Biochemical and microscopic evidence for the internalization of drug-containing mast cells granules by macrophages and smooth muscle cells. *Toxicology and Applied Pharmacology*, v. 169, p. 269-275, 2000.
- DESCHOOLMEESTER, M.L. et al. Reciprocal effects of interleukin-4 and interferon- γ on immunoglobulin E-mediated mast cell degranulation: a role for nitric oxide but not peroxynitrite or cyclic guanosine monophosphate. *Immunology*, v. 96, p. 138, 1999.
- FALCONE, F.H. et al. A *Brugia malayi* homolog of macrophage migration inhibitory factor reveals an important link between macrophages and eosinophils recruitment during nematode infection. *The Journal of Immunology*, v. 167, p. 5348-5354, 2001.
- FERREIRA, F. P. Obtenção e caracterização de antígenos de *Toxocara vitulorum* por SDS-Page e "Western blot". Ilha Solteira, 2002. 53p. Dissertação (Mestrado – Sistema de Produção Animal) – Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, Universidade Estadual Paulista.
- FINKELMAN, F. et al. Cytokine regulation of host defense against parasitic gastrointestinal nematodes: Lessons from studies with rodent models. *Annual Review Immunology*, v. 15, p. 505-33, 1997.
- FLEXMAN, J. P.; SHELLAM, G. R.; MAYRHOFER, G. Natural cytotoxicity responsiveness to interferon and morphology of intraepithelial lymphocytes from the small intestine of the rat. *Immunology*, v. 48, p. 733-41, 1983.
- GALEAZZI, F.; HAAPALA, E. M.; ROOIJEN, N. V. Inflammation-induced impairment of enteric nerve function in nematode-infected mice is macrophage dependent. *American Journal Gastrointestinal Liver Physiology*, v. 278, p. G259-G265, 2000.
- GORDON, S. Alternative activation of macrophages. *Immunology*, v. 3, p. 23-35, jan. 2003.
- HOLLAND, M.J. et al. Protein secreted by the parasitic nematode *Nippostrongylus brasiliensis* act as adjuvants for Th2 responses. *European Journal of Immunology*, v. 30, p. 1977-1987, 2000.
- ISHIKAWA, N. et al. Goblet cell mucins as the selective barrier for the intestinal helminthes: T-cell-independent alteration of goblet cell mucins by immunologically 'damage' *Nippostrongylus brasiliensis* worms and its significance on the challenge infection with homologous and heterologous parasites. *Immunology*, v. 81, p. 480-486, 1994.
- JAMES, S. L. et al. Macrophages as effector cells of protective immunity in murine schistosomiasis. II. Killing of newly transformed schistosomula in vitro by macrophages activated as a consequence of *Schistosoma mansoni* infection. *Journal of Immunology*, v. 128, p. 1535-1540, 1982.
- KURODA, E. et al. Suppression of macrophage interleukin-12 and tumour

- necrosis factor- α production in mice infected with *Toxocara canis*. Parasite Immunology, v. 23, p. 305-311, 2001.
- LEVY, A. M.; FRONDOZA, C. Immunity to intestinal parasites: role of mast cells and goblet cells. Federation Proceedings, v. 42, p. 1750-5, 1983.
- LOKE, P.; MACDONALD, A. S.; ALLEN, J. E. Antigen-presenting cells recruited by *Brugia malayi* induce Th2 differentiation of naive CD4+ T cells. European Journal of Immunology, v. 30, p. 1127, 2000a.
- MACKENZIE, C.D. et al. The activation of complement, the induction of antibodies to the surface of nematodes and the effect of these factors and cells on worm survival *in vitro*. European Journal of Immunology, v. 10, p. 594-601, 1980.
- MEEUSEN, N. T. Immunology of helminth infections, with special reference to immunopathology. Veterinary Parasitology, v. 84, p. 259-73, 1999.
- MOSMANN, T. R.; COFFMAN, R. L. Th1 and Th2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. Annuals Reviews immunology, v.7, p. 145, 1989.
- MOTYKA, B.; REYMONDS, J. D. Apoptosis is associated with the extensive B cell death in the sheep ileal Peyer's patch and the chicken bursa of Fabricius: a possible role in B cell selection. European Journal of Immunology, v. 21, n. 8, p. 1951-1958, 1991.
- NATHAN, C. F. Peroxide and pteridine: a hypothesis on the regulation of macrophage antimicrobial activity by interferon. In Interferon. Vol. VII. I. Gresser and J. Vilcek, editors Academic Press, Inc., New York., p. 125-143, 1986.
- NAWA, Y. et al. Selective effector mechanisms for the expulsion of intestinal helminths. Parasite Immunology, v. 16, N.7, p.333-338, 1994.
- NEVES, M. F.; STARKE-BUZETTI, W. A.; CASTRO, A. M. M. G. Mast cell and eosinophils in the wall of the gut and eosinophils in the blood stream during *Toxocara vitulorum* infection of the water buffalo calves (*Bubalus bubalis*). Veterinary Parasitology, v. 113, p. 59-72, 2003.
- NOEL, A. et al. Membrane associated proteases and their inhibitors in tumor angiogenesis. Journal of Clinical Pathology, v. 57, n. 6, p. 577-584, jun. 2004.
- OGILVIE, B. M.; HESKETH, P.; ROSE, M. E. *Nippostrongylus brasiliensis*: Peripheral blood leucocyte response of rats, with special reference to basophils. Experimental Parasitology, v. 46, n. 20, 1978.
- OUASSI, M. A.; HAQUE, A.; CAPRON, A. *Dipetalonema viteae*. Ultrastructural study on the *in vitro* infection between rat macrophages and microfilariae in the presence of IgE antibody. Parasitology, v. 82, p. 55-62, 1981.
- PALMER, J. M.; MEERVELD, B. G. integrative neuroimmunomodulation of gastrointestinal function during enteric parasitism. Journal of the Parasitology, v. 87, n. 3, p. 483-504, 2001.
- PATNAIK, M. M., PANDE, B. P. Notes on helminthic infestations encountered in one month old buffalo calves. Indian Veterinary Journal, v. 40, p. 128-33, 1963.
- PAULA, S. H. S. Inibição da migração de larvas para os tecidos de camundongos pela imunização com antígenos de *Toxocara vitulorum* e o estudo da histopatologia das lesões. Ilha Solteira, 2003. 50p. Dissertação (Mestrado – Sistema de Produção Animal) – Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, Universidade Estadual Paulista.

- RAJAPAKSE, R. P. V. J.; LLOYD, S.; FERNANDO, S. T. *Toxocara vitulorum*: maternal transfer of antibodies from buffalo cows (*Bubalis bubalis*) to calves and levels of infection with *T. vitulorum* in the calves. *Research in Veterinary Science*, v. 57, p. 81-7, 1994a.
- RAJAPAKSE, R. P. V. J., LLOYD, S., FERNANDO, S. T. The effect of serum and colostrum immunoglobulins from buffaloes infected with *Toxocara vitulorum* or *T. vitulorum* larvae *in vitro* and *in vivo* in mice. *Research Parasitology*, v. 80, p. 426-30, 1994b.
- REYMONDS, J. D. Evidence of extensive lymphocyte death in sheep Peyer's patches. I. A comparison of lymphocyte production and export. *Journal of Immunology*, v. 136, n. 6, p. 2005-2010, 1986.
- REYMONDS, J. D. Peyer's patches and the early development of B lymphocytes. *Current Topics Microbiology Immunology*, v. 135, p. 43-56, 1987.
- ROBERTS, J. A. The extraparasitic life cycle of *Toxocara vitulorum* in the village environment of Sri Lanka. *Veterinary Research Communications*, v.13, p.377- 88, 1989.
- ROBERTS, J. A. *Toxocara vitulorum* in ruminants. *Helminthological Abstracts*, v. 62, n. 4, p. 151-74, 1993.
- RODRÍGUEZ-SOSA, M. et al. Chronic helminth infection induces alternatively activated macrophages expressing high levels of CCR5 with low interleukin-12 production and Th2-biasing ability. *Infection and Immunity*, v. 70, n. 7, p. 3656-3664, 2002.
- SIMECKA, J. W. Mucosal immunity of the gastrointestinal tract and oral tolerance. *Advanced Drug Delivery Reviews*, Amsterdam, v.34, p. 235-59, 1998. SMITH, J.D. Phasmid nematoda: rhabditida and oxyurida. In: Introduction to animal parasitology. 3.ed. New York: Cambridge,1994. p.397- 409.
- SMITH, J. D. Phasmid nematoda: rhabditida and oxyurida. In: Introduction to animal parasitology. 3.ed. New York: Cambridge,1994. p.397- 409.
- SOUZA, E.M. et al. Humoral immune response of water buffalo monitored with three different antigens of *Toxocara vitulorum*. *Veterinary Parasitology*, v. 122, p. 67- 78, 2004.
- STARKE, W.A. et al. Curso natural das helmintoses gastrintestinais em búfalos no município de Andradina (SP). *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária Zootecnia*, v.35, p.651-64,1983.
- STARKE, W. A.; ZOCOLLER, M. C.; MACHADO, R. Z. Transmissão transmamária de larvas de nematódeos gastrintestinais a bezerros búfalos. II. Larvas de 99 *Toxocara vitulorum*. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 44, p. 97-103, 1992.
- STARKE, W. A.; OAKS, J. A. Ileal mucosal mast cell, eosinophil, and goblet cell populations during *Hymenolepis diminuta* infection of the rat. *The Journal of Parasitology*, Kansas, v. 87, n. 7, p. 1220-25, 2001.
- STARKE-BUZETTI, W. A.; MACHADO, R. Z.; ZOCOLLER, M. C. An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for detection of antibodies against *Toxocara vitulorum* in water buffaloes. *Veterinary Parasitology*, v. 97, p. 55-64, 2001.
- TAKEMURA, R.; WERB, Z. Secretory products of macrophages and their physiological functions. *American Journal of Physiology*, v. 246, p. C1-C9, 1984.
- THOMSON, A.B.R. et al. Small bowel review: normal physiology part 2. *Dig. Dis.*

Science, v. 46, p. 2588-2607, 2001.

173-181, 1 jul. 1994.

WOODS, A. et al. Human major histocompatibility complex class II-restricted T-cell responses in transgenic mice. *Journal of Experimental Medicine*, v. 180, n. 1, p.

WU, C.Y. et al. IL-12 induces the production of IFN- γ by neonatal human CD4 T cells. *Journal of Immunology*, v. 151, p. 1938-1949, 1993.