



## AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL DE CAMUNDONGOS EXPERIMENTALMENTE INFECTADOS COM PARACOCCIDIODES BRASILIENSIS

Hugo Lopes ROCHA<sup>1</sup>; Ana Patrícia de Carvalho da SILVA<sup>2</sup>

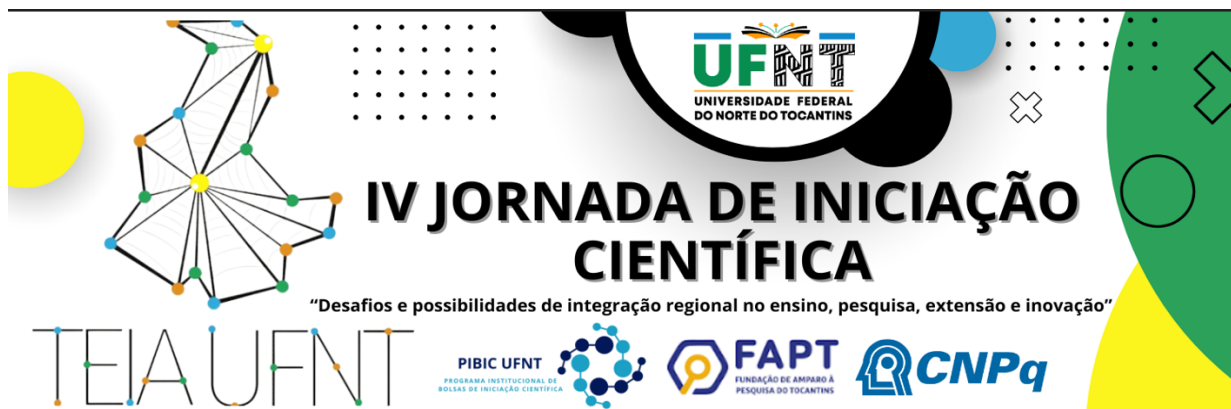
### RESUMO

A paracoccidiodomicose é uma doença sistêmica de grande importância à saúde pública causada pelo fungo dimórfico da espécie *Paracoccidioides brasiliensis*. É uma enfermidade negligenciada, com raros trabalhos experimentais que evidenciam e caracterizam lesões no sistema nervoso central (SNC). Este estudo teve como objetivo caracterizar as alterações macroscópicas e microscópicas do sistema nervoso central de camundongos experimentalmente infectados com *P. Brasiliensis* por via intra-traqueal. Foram utilizados 10 camundongos da linhagem Balb/C, de 6 - 7 semanas de vida, machos, não castrados (CEUA UFT - 23101.002945/2018-6). Os camundongos foram infectados por laringoscopia direta, pós anestesia, seguida de inoculação intratraqueal com 50 µl do inóculo na concentração de  $1 \times 10^6$  a  $5 \times 10^6$  células/ml de levedura de *P. brasiliensis*. Após 21 dias de infecção, os camundongos foram eutanasiados e amostras do encéfalo foram coletadas para avaliação macroscópica e histopatológica. Interessantemente, não foram observadas alterações macroscópicas nos encéfalos avaliados, porém, durante avaliação microscópica, foi possível observar áreas multifocais de vacuolização moderada da substância branca do cérebro, cerebelo e tronco encefálico e gliose multifocal discreta. Não foram observadas alterações inflamatórias nem macroscópicas e nem microscópicas, comumente observadas quando estes são infectados intracranialmente. Esse resultado sugere que os fungos não conseguiram ultrapassar a barreira hematoencefálica, não havendo estímulo suficiente para recrutamento de células inflamatórias e formação dos granulomas, porém são capazes de incitar lesões degenerativas. Esses resultados podem ser esclarecedores para a patogênese e auxiliar nas complicações da doença. Esse é o primeiro trabalho que avalia o SNC de camundongos infectados pela via respiratória com *P. brasiliensis*.

**Palavras-chave:** infecção; paracoccidiodomicose; murino.

1 Voluntário do Programa de Iniciação Científica (PIVIC). Universidade Federal do Norte do Tocantins (UFNT), Centro de Ciências Agrárias. hugolopes\_jpa@hotmail.com

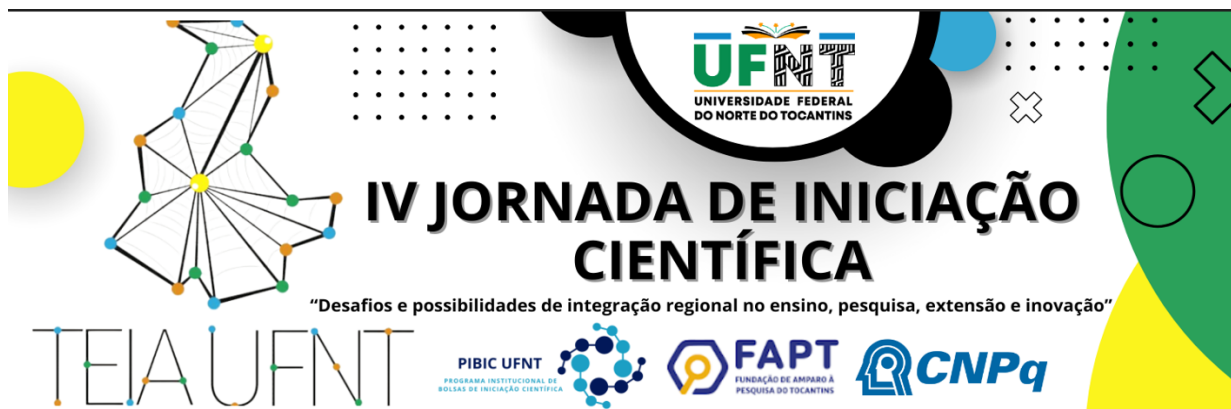
2 Professora Doutora do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Norte do Tocantins (UFNT), Centro de Ciências Agrárias. ana.silva@ufnt.edu.br



## I. INTRODUÇÃO/JUSTIFICATIVA

As infecções fúngicas representam um grande desafio na saúde pública, no território latino americano, sendo responsáveis pela morte de cerca de 1,5 milhões de pessoas no mundo anualmente (Rodrigues, 2016). Em especial, a paracoccidioidomicose é uma doença sistêmica de grande impacto na saúde pública, relatada em 1908 por Adolpho Lutz, com posterior isolamento do agente etiológico em 1912, por Alfonso Splendore (Lacaz et al., 1983). Causada pelo fungo *Paracoccidioides brasiliensis*, a prevalência da paracoccidioidomicose sistêmica, na população, está atrelada a fatores sociais, econômicos e de gêneros, onde as formas clínicas da doença são mais observadas em indivíduos do sexo masculino que estão diretamente ligados a realização de atividades rurais ou agropecuárias (Focaccia, 2015).

A infecção ocorre pela inalação dos esporos fúngicos presentes em certas culturas agrícolas, que demonstram grande potencial de disseminação pelo organismo, alcançando órgãos como os pulmões (50-100%), a pele, as mucosas, os linfonodos, as adrenais e o sistema nervoso. A PCM neurológica ocorre pela capacidade da levedura em disseminar-se pela via linfática e hematogênica atingindo o sistema nervoso central. Autopsia e descrições histopatológicas do encéfalo humano, denotam que lesões potencialmente originados pela neuroparacoccidioidomicose



apresentam características necróticas, supurativas com presença de neutrófilos na região central e circundadas por reação glial e por granulomas epitelioides.

Não há relatos da presença e caracterização de lesões no Sistema Nervoso Central de camundongos experimentalmente infectados com *P. brasiliensis*. Assim, o desenvolvimento de um estudo que supra essa necessidade é de extrema importância, uma vez que, além de caracterizar macro e microscopicamente as lesões no Sistema Nervoso Central de camundongos, pode contribuir com tratamento e profilaxia mais eficazes da PCM.

## II. OBJETIVOS

### Geral

Avaliar as alterações patológicas observadas no SNC de camundongos experimentalmente infectados com *Paracoccidioides brasiliensis*.

### Específicos

(i) Avaliar alterações macroscópicas no SNC de camundongos experimentalmente infectados com *Paracoccidioides brasiliensis*.

(ii) Avaliar as alterações microscópicas no SNC de camundongos experimentalmente infectados com *Paracoccidioides brasiliensis*.

(iii) Atribuir escore às lesões microscópicas observadas no SNC de camundongos experimentalmente infectados com *Paracoccidioides brasiliensis*.

## III. METODOLOGIA

### Animais

Para a realização do estudo foram utilizados 10 camundongos da linhagem BALB/C, de 6 – 7 semanas de vida, machos, não castrados, fornecidos pelo biotério da Universidade Federal de Goiás – UFG. Utilizando-se de 2 caixas grandes para o acondicionamento de 5 animais em cada caixa, com água e ração *ad libitum*, em



temperatura controlada. Os animais foram mantidos no laboratório por 2 semanas para aclimação antes do início do experimento. Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Tocantins. (CEUA – 23101.002945/2018-61).

### **Infecção experimental e tratamento**

A infecção experimental dos camundongos foi realizada com inóculo do fungo *P. brasiliensis*, de acervo próprio do Laboratório de preparação histológica. O inóculo foi utilizado de acordo com o descrito no trabalho de Santos Jr (2019b): padronizado para 0,5 na escala de McFarland, absorvância de 0,1 em 625 nm no espectrofotômetro, utilizou-se uma alíquota para o teste de viabilidade com verde janus à 0,01%, considerando o inóculo como viável quando pelo menos 80% das células/agregados mantiverem sem coloração após 20 minutos da adição do corante. Para inoculação do fungo foi realizada a anestesia dos animais com Cetamina 120 mg/kg + Xilazina 8 mg/kg procedendo de laringoscopia direta e inoculação intratraqueal com 50 µl do inóculo (concentração de  $1 \times 10^6$  a  $5 \times 10^6$  células/ml). Os animais foram mantidos sob observação até se recuperarem da anestesia e após a inoculação do agente etiológico, os animais foram distribuídos aleatoriamente em 2 grupos iguais (Grupo 1 – infectado, Grupo 2 – não infectado)

### **Avaliação macroscópica**

Após 21 dias de infecção, os animais foram eutanasiados, e retirou-se os encéfalos e realizou-se a avaliação macroscópica, levando em consideração a presença de alterações circulatórias, necróticas e inflamatórias nos órgãos.

### **Histopatologia**

Os tecidos coletados após a necropsia (telencéfalo, tálamo, cerebelo, tronco encefálico e medula espinhal) foram processados seguindo as etapas de rotina como desidratação, diafanização, embebição por parafina e emblocamento. Em seguida foram feitos cortes em

**UFNT**  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO NORTE DO TOCANTINS

**IV JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA**

"Desafios e possibilidades de integração regional no ensino, pesquisa, extensão e inovação"

TEIA UFNT

PIBIC UFNT  
PROGRAMA INSTITUCIONAL DE BOLSAS DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

FAPT  
FUNDAÇÃO DE AMPARO À PESQUISA DO TOCANTINS

CNPq

micrótomo na espessura de 4  $\mu\text{m}$  e corados pelo método de Hematoxilina e Eosina (H&E) para avaliação histopatológica. Foi atribuído escore para todas as lesões, atribuindo-se valores de acordo com a intensidade das lesões: 0 para ausência de lesões, 1 para discreta, 2 para moderada e 3 para intensa. O escore foi obtido de acordo com a média de três campos microscópicos aleatórios, analisados em aumento de 200x.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante a avaliação macroscópica do sistema nervoso central dos camundongos



**Figura 1.** Sistema Nervoso Central sem alterações macroscópicas (A) e (B) grupo controle, (C) e (D) animais infarctados.

infarctados não foram observadas alterações (figura 1). Cortes histológicos do sistema nervoso central foram avaliados, observando-se alterações degenerativas como vacuolização e gliose em cérebro e cerebelo (figura 2).

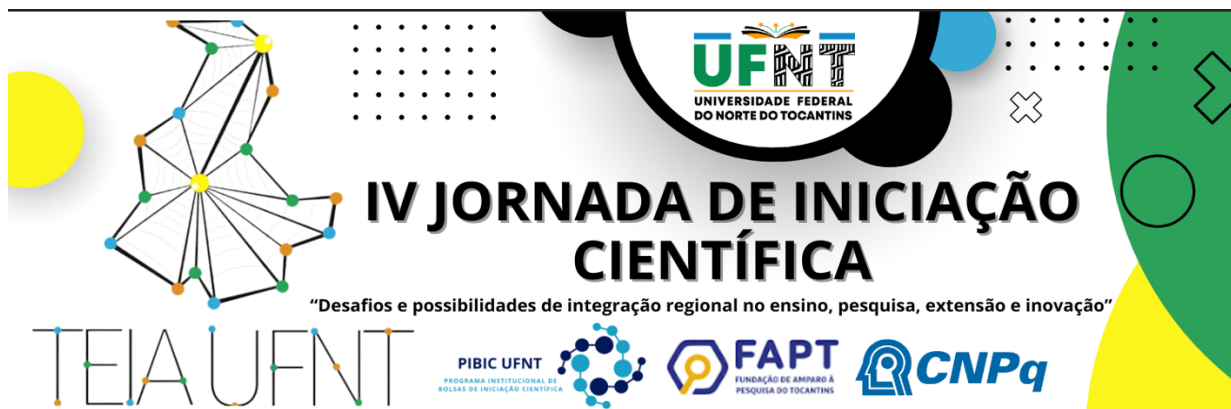
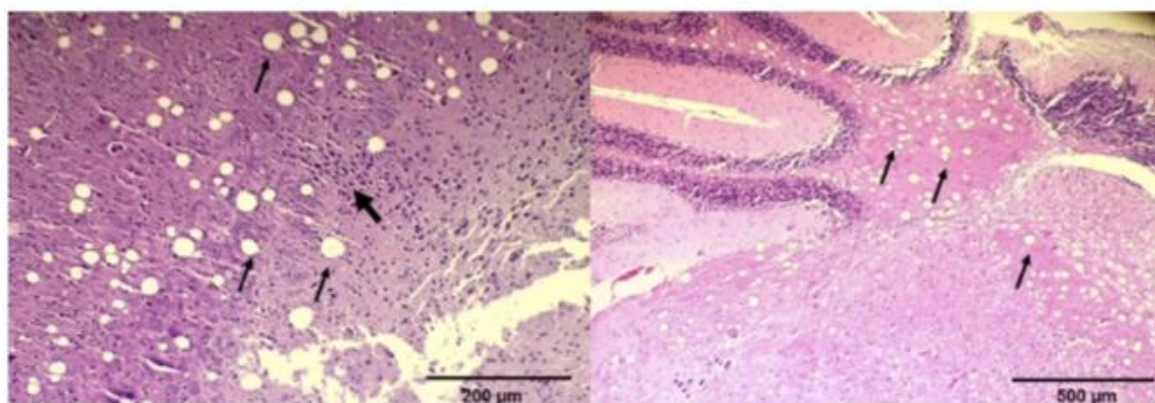
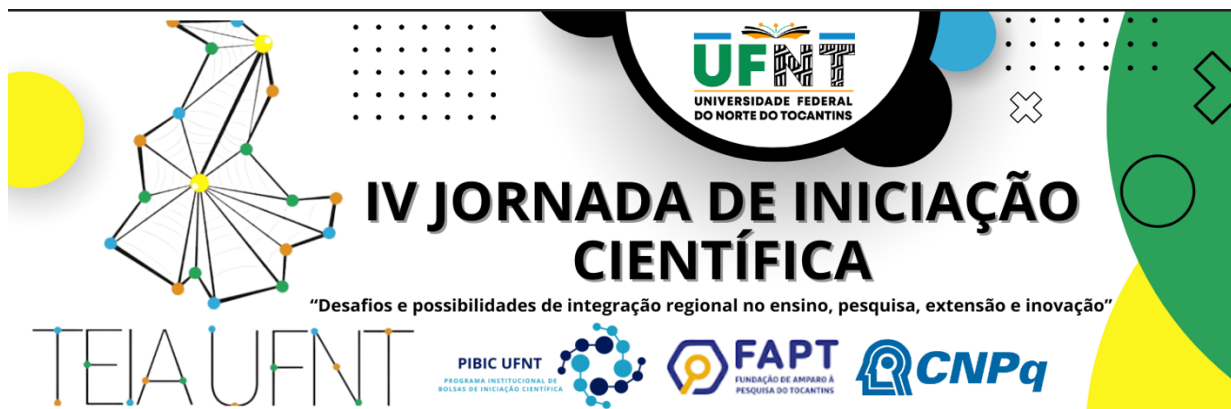


Figura 2 – Histopatologia de cérebro de camundongo infectado apresentando gliose moderada (seta grossa) e vacuolizações (setas finas) em substância cinzenta, obj. 10x, H.E.(A) e cerebelo de camundongo infectado apresentando vacuolizações em substância branca, obj. 10x, H. E. (B).



Este é o primeiro trabalho que avalia, o SNC de camundongos experimentalmente infectados com *P. brasilienses* pela via respiratória, com intuito de obtenção de informações para o desenvolvimento da PCM com o envolvimento do sistema nervoso central em animais experimentalmente infectado. Acredita-se que a disseminação e colonização dos órgãos pela partícula infectante ocorre pela via hematogênica ou linfática. A frente do quadro de infecção a resposta do organismo contra as células leveduriformes depositadas nos tecidos, promove o encapsulamento com a formação de granulomas epitelioides

Gallich et al, 1998, a produção de anticorpos, como principal via de resistência ao desenvolvimento da doença em animais suscetíveis, como BALB/C, usados no presente estudo são da categoria IgM e IgG. PINA 2012, evidencia que nas espécies suscetíveis a infecção de *P. brasilienses*, a inoculação experimental acarreta uma intensa reação imunológica, liderada, principalmente por uma evidente atividade neutrofílica para destruição do patógeno nos estágios iniciais da doença, que tem como objetivo a resistência do organismo ao desafio. Como linha de defesa ao contato com patógenos invasores ao organismo a imunidade adaptativa, responde com uma



intensa resposta inflamatória granulomatosa, com objetivo de eliminar o invasor, frear a disseminação e isolamento (Berbert, 2010).

Ao avaliar, o SNC de camundongos experimentalmente infectados com *P. brasiliensis* pela via respiratória, a partir dos achados, sugere-se que apesar da vacuolização moderada de substância branca e glicose multifocal discreta, que traz consigo, fatores determinantes de lesão neural, o fungo não foi capaz de vencer a barreira hematoencefálica, não havendo o estímulo necessário para recrutamento de células pró-inflamatórias e formação de granulomas.

#### IV. CONCLUSÃO/CONSIDERAÇÕES FINAIS

1. Não são observadas alterações macroscópicas e microscópicas inflamatórias no encéfalo de camundongos Balb/c experimentalmente infectados com *P. brasiliensis* por via intratraqueal.

2. Gliose e vacuolização são as principais alterações microscópicas observadas no encéfalo de camundongos Balb/c experimentalmente infectados com *P. brasiliensis* por via intratraqueal.

#### V. REFERÊNCIAS

**BERBERT, A. L. C. V.** Paracoccidiodomicose: estudo experimental em *Calomys callosus*. 2010. Disponível em: <https://repositorio.ufu.br/handle/123456789/16563>. Acesso em: 24 ago. 2025.

**CALICH, V. L. et al.** Susceptibility and resistance of inbred mice to *Paracoccidioides brasiliensis*. *British Journal of Experimental Pathology*, v. 66, n. 5, p. 585–594, 1985. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2042050/>.

**FOCACCIA, R.** *Tratado de infectologia*. 5. ed. São Paulo: Atheneu, 2015.

**HUISACAYNA, N. B. et al.** Tecido nervoso e gliose. *Revista Médica do Paraná*, v. 79, n. 2, p.1639–1639, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.55684/79.2.1639>.

**JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J.** Tecido nervoso. In: **JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J.** *Histologia básica: texto e atlas*. 12. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013. cap. 9, p. 328– 379.



### **TRABALHO PUBLICADO EM EVENTO**

Hugo Lopes ROCHA; Ana Beatriz Saldanha MORAES; Felipe Ramos da SILVA; Antônio Oliveira dos Santos JUNIOR; Auricélio Alves de MACEDO; Ana Patrícia de Carvalho da SILVA: AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA DO ENCÉFALO DE CAMUNDONGOS EXPERIMENTALMENTE INFECTADOS COM *Paracoccidioides brasiliensis* In: XVII SEMAVET e II CONTVET, 2025, Araguaína, TO. Anais do XVII SEMAVET e II CONTVET.

#### **I. AGRADECIMENTOS**

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Universidade Federal do Tocantins - UFT