



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Instituto de Biociências
Campus do Litoral Paulista



INFECÇÃO EXPERIMENTAL POR *Leishmania (Leishmania)*
infantum EM HAMSTERS: ALTERAÇÕES MORFOFUNCIONAIS
NO CÓLON

Thaís Martins Chucri

São Vicente -SP

2022



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Instituto de Biociências
Campus do Litoral Paulista



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“Júlio de Mesquita Filho”
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS
CÂMPUS DO LITORAL PAULISTA

INFECÇÃO EXPERIMENTAL POR *Leishmania (Leishmania)*
infantum EM HAMSTERS: ALTERAÇÕES MORFOFUNCIONAIS
NO CÓLON

Candidata: Thaís Martins Chucri

Orientadora: Prof.^a Dra. Renata de Britto Mari.

Co-orientador: Prof.^o Dr. Luiz Felipe Domingues Passero.

Tese apresentada ao Instituto de Biociências,
Câmpus do Litoral Paulista, UNESP, para
obtenção do título de Doutor no Programa de
Pós-Graduação em Biodiversidade de Ambientes
Costeiros.

São Vicente -SP

2022

C559i Chucri, Thaís Martins
Infecção experimental por Leishmania (Leishmania) infantum em hamsters : alterações morfofuncionais no cólon / Thaís Martins Chucri. -- São Vicente, 2022
49 p. : il., tabs., fotos

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências, São Vicente
Orientador: Renata de Britto Mari
Coorientador: Luiz Felipe Domingues Passero

1. Leishmaniose Visceral. 2. Sistema Nervoso Entérico. 3. Intestino Grosso. 4. Histopatologia. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Biociências, São Vicente. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Agradecimentos

À minha orientadora Renata de Britto Mari, agradeço pelo acolhimento, pela excelente condução do trabalho, pela paciência e pela confiança depositada.

Ao meu co-orientador Luiz Felipe Domingues Passero, pelas orientações e ajuda no transcorrer do trabalho.

Aos colegas do laboratório LABMA, em especial à Gabriela P. Marinsek, Ítalo N, Cavallone, Sarah K. Santos de Lima, Karine S. Oliveira, Alexandre R. Gonçalves e Nathalia Sales, vocês me ajudaram demais.

À minha família pela compreensão nas horas de ausência.

Aos meus pais, Antônio Jorge e Vera Lúcia pelo amor e incentivo. Vocês são meu alicerce.

À minha irmã Christiane e à amiga Thaís Trombin pelo companheirismo e por me engajarem sempre.

Ao programa de Pós-graduação em Biodiversidades dos Ambientes Costeiros e a todos colegas, técnicos e funcionários do Instituto de Biociências - Câmpus do Litoral Paulista, pela oportunidade e execução da tese.

À professora Márcia Dalastra Laurenti e ao Laboratório de Patologia de Moléstias infecciosas (LIM 50) pela colaboração na execução de parte do trabalho.

Aos queridos coordenadores Luiz Roberto Biondi e Juliana Plácido Guimarães pelo apoio dispensado. Através deles agradeço as duas Instituições que leciono, UNIMES e Centro Universitário São Judas Tadeu – Campus Unimonte.

Aos meus alunos, fonte de motivação para continuar melhorando sempre.

Finalmente, eu agradeço à Deus por colocar no meu caminho seres tão especiais que me permitiram chegar até aqui, dar-me resiliência, manter a esperança para concluir meu doutorado.

*Dedico este trabalho ao meu filho Arthur,
você é a conquista mais importante da minha vida.*

Resumo

Background e Objetivo:

A degradação ambiental e as mudanças climáticas são alguns dos fatores que contribuem para uma maior ocorrência de doenças. Dentre elas, a leishmaniose visceral (LV), uma importante zoonose com letalidade de aproximadamente 95%. É uma infecção sistêmica crônica e quando o parasito atinge o trato gastrointestinal pode provocar alterações morfofisiológicas significativas. No entanto, pouco se sabe sobre o impacto causado por *Leishmania* no sistema nervoso entérico (SNE). Os neurônios desse plexo desempenham importante papel em manter o peristaltismo e auxiliar na resposta imune do órgão. Diante do exposto e dada a importância do SNE para manter a homeostase do organismo, o objetivo desse estudo foi investigar o comprometimento morfofisiológico das subpopulações de neurônios NADH-dp e NADPH-dp e histopatológico do intestino grosso de *hamsters* infectados experimentalmente.

Métodos:

Os animais foram infectados com formas promastigotas de *Leishmania (L.) infantum* e aos 30, 60 e 90 dias pós infecção foram conduzidos para a eutanásia. Posteriormente as regiões do cólon ascendente e descendente foram coletadas e destinadas para a análise de unidades *Leishman-Donovan*, técnicas de evidenciação e morfometria neuronal, além das análises histopatológicas através de cortes histológicos por hematoxilina-eosina (HE), ácido periódico de Schiff (PAS+) e Alcian Blue (AB+) pH 2,5.

Resultados:

Foram observadas a presença de amastigotas no intestino dos animais, bem como alterações na densidade e morfometria de ambas as subpopulações neuronais,

causando alterações na plasticidade neuronal. Na análise histopatológica, foram evidenciadas alterações na estratigrafia e nas células da mucosa, no entanto, nenhum sinal clínico da doença foi registrado.

Conclusões:

A infecção por *Leishmania (L.) infantum* causa alterações morfofisiológicas no intestino grosso de *hamsters* infectados, além de alterações no plexo mioentérico que podem ocorrer de forma direta, por ação do patógeno ou indiretamente por mecanismos imunes envolvidos na defesa contra o parasito.

Palavras-chave: Leishmaniose visceral; Sistema Nervoso Entérico; Intestino Grosso; Histopatologia.

INTRODUÇÃO

A Leishmaniose é uma doença parasitária de carácter zoonótico causada pelo protozoário do gênero *Leishmania*, na qual os cães são considerados como o principal reservatório do ciclo doméstico [1]. É considerada uma das doenças causadas por protozoários mais preocupantes do mundo [2], sendo um grave problema de saúde pública, onde as condições precárias de higiene, a falta de saneamento básico e a degradação ambiental, são fatores que contribuem com a sua crescente transmissão e propagação [3;4;5].

A forma visceral da leishmaniose, possui como agente etiológico a *Leishmania (Leishmania) infantum*, sendo considerada uma das mais graves, especialmente para pacientes com comorbidades imunossupressoras, como por exemplo, infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) [6;7]. No mundo, estima-se que ocorram mais de 50.000 novos casos por ano e, o Brasil, está entre os 10 países que mais notifica, sendo o responsável por 97% dos casos que

ocorrem nas Américas. Quando não tratada, a doença pode ser fatal em 95% dos casos [2;8].

As principais manifestações clínicas e histopatológicas na leishmaniose visceral (LV) ocorrem principalmente no fígado, baço, linfonodo e medula óssea [9;10;11]. No entanto, pode afetar também outros órgãos, como o sistema nervoso, genito-urinário e o trato gastrointestinal, sendo este último o mais comprometido [12;13;14]. Alterações histológicas no intestino de animais e humanos com LV são amplamente discutidas [15;16;17;18;19;20]. A carga parasitária presente no órgão em questão pode levar a presença de infiltrados inflamatórios, hiperplasia celular, alterações na camada mucosa e submucosa, lesão no epitélio, perda de criptas ou fibrose na lâmina própria [21].

O trato gastrointestinal (TGI) é composto por diversos órgãos, que compreende o estômago, intestino delgado e o intestino grosso. Estes possuem características distintas permitindo que o corpo mantenha seu metabolismo. A região do intestino grosso, mais especificamente o cólon, é responsável pela absorção de água e eletrólitos, formação e transporte de fezes e, digestão química realizada pela microbiota intestinal [22]. Quando associado ao sistema linfático, o TGI constitui o maior e mais complexo órgão, onde estão presentes aproximadamente 50% dos linfócitos de todo o corpo [23]. A barreira gastrointestinal, possui diversos mecanismos de defesa, sendo eles, a presença de bactérias comensais, a morfologia das túnicas intestinais, a camada de muco, o sistema imunológico da mucosa e o sistema nervoso entérico (SNE) [24;25;26].

O sistema imune do intestino, possui a maior concentração de células do corpo, especialmente de macrófagos, que possuem um papel importante na resposta imune inata e na homeostase do órgão [27]. Dado o constante contato com

diversos microrganismos comensais, patogênicos ou mesmo moléculas derivadas da ingestão de alimentos, o intestino possui uma intrincada interação antigênica. Assim sendo, as respostas imunológicas no órgão devem ser reguladas para que por um lado não sejam exacerbadas e prejudiciais ao organismo frente aos antígenos, e por outro, efetivas contra patógenos quando houver necessidade.

Além disso, no intestino encontra-se o GALT (tecido linfoide associado ao intestino), que contribui com a proteção do organismo gerando respostas imunológicas contra patógenos e, no intestino grosso é representado por folículos isolados [28;29]. Componente importante para a defesa do organismo é a barreira física epitelial do intestino. Dentre as células que compõem essa barreira, estão as células produtoras de muco, como as caliciformes que são produtoras de mucinas que formam uma camada protetora no epitélio intestinal e, os linfócitos intraepiteliais (IELs) que possuem a função proteger a barreira mucosa, participar de respostas inflamatórias e contribuir no reparo de lesões, além, de regular e manter a homeostase intestinal [30;31].

Ao longo de todo o TGI, encontra-se o SNE. Um sistema composto por uma rede de milhares de neurônios entéricos, dispostos em pequenos gânglios que são ligados por fibras nervosas e, embora receba uma ampla contribuição do sistema nervoso central através da inervação simpática e parassimpática, o SNE atua de forma independente [26; 32]. Esse sistema consiste em dois plexos ganglionares principais, o plexo submucoso e o plexo mioentérico, sendo esse último localizado entre a túnica muscular longitudinal externa e a circular interna. Os neurônios do SNE são responsáveis por controlar a motilidade, o transporte de fluidos na mucosa e o fluxo sanguíneo local [26;33].

O SNE está suscetível a sofrer diversas alterações ao longo do tempo, podendo ocasionar distúrbios na motilidade e homeostase do intestino [34]. Além disso, alguns estudos já relataram que infecções ocasionadas por protozoários, como o da espécie *Toxoplasma gondii*, podem acarretar diversas alterações na plasticidade dos neurônios do plexo mioentérico, como mudanças na densidade e morfometria neuronal [35;36;37]. Já com protozoários da espécie *Leishmania (Viannia) braziliensis*, foi relatada a hipertrofia dos neurônios mioentéricos imunorreativos HuC / HuD no íleo de hamsters, justificada pelo aumento da atividade metabólica dos mesmos, como um mecanismo de adaptação do órgão diante da infecção parasitária [38]. No entanto, pouco se sabe das alterações no sistema nervoso entérico relacionado ao protozoário da LV.

A interação do SNE com o sistema imune, forma uma grande defesa do intestino, atuando em conjunto quando ocorrem infecções, para regular a homeostase e a fisiologia intestinal [39;40]. A interação entre esses sistemas é bidirecional, onde as células do sistema imune são afetadas pelos neurotransmissores, e os neurônios, são afetados pelas citocinas que são liberadas pelas células imunológicas [41;42]. Outra particularidade dos neurônios entéricos é a plasticidade fenotípica, que pode ser alterada em resposta aos patógenos e serve como um mecanismo de resposta adaptativa ao dano produzido no organismo [26]. Ou seja, de acordo com diferentes estímulos pode ocorrer a mudança do seu código químico e liberação de outro neurotransmissor [30]. Fato este de grande relevância para compreensão das doenças intestinais, podendo ser definitivo para determinação de manifestações clínicas e para o desenvolvimento de processos inflamatórios intestinais [39].

REFERÊNCIAS

1. Bern C, Maguire JH, Alvar J. Complexities of assessing the disease burden attributable to leishmaniasis. *PLoS Negl Trop Dis*. 2008; 2(10): e313.
2. WHO (World Health Organization). *Leishmaniasis: epidemiology and access to medicines*. Geneva, Switzerland. 2018.
3. MS (Ministério da Saúde). *Casos confirmados de Leishmaniose Visceral, Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas 1990 a 2015*. 2017.
4. Malafaia G. Leishmaniose visceral e desnutrição: uma relação ainda muito negligenciada. *Ver Soc Bras Med Trop*. 2010; 43(4): 478-479.
5. Almeida AS, Werneck GL, Resendes APC. Classificação orientada a objeto de imagens de sensoriamento remoto em estudos epidemiológicos sobre leishmaniose visceral em área urbana. *Cad Saúde Púb*. 2014; 30(8):1639-1653.
6. WHO (World Health Organization). *Leishmaniasis*. Available online: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis> (Acesso em 04 de dezembro de 2021).
7. Yeshaw Y, Tsegaye AT, Nigatu SG. Incidence of Mortality and Its Predictors among Adult Visceral Leishmaniasis Patients at the University of Gondar Hospital: A Retrospective Cohort Study. *Infect. Drug Resist*. 2020; 13: 881.
8. Organização Pan-Americana da Saúde. *Leishmanioses: Informe epidemiológico nas Américas*. Núm. 9, dezembro de 2020. Washington, D.C.: OPAS; 2020. Disponível em: <https://iris.paho.org/handle/10665.2/51742>
9. Baltazar PI, Da Silva LM, Pessoa GT, De Sá RPR, Sanches MP, Das Neves AD, et al. Comparative B-Mode and Doppler Renal Ultrasonography with

- Histopathological Findings in Dogs Positive for Canine Visceral Leishmaniasis. *Microsc Res Tech.* 2016; 79: 637–645.
10. Lisboa AR, Leite FC, Dantas AEF, Oliveira IB, Evangelista TR, Sousa JBG. Análise Epidemiológica de Leishmaniose Visceral Em Municípios Do Sertão Paraibano. *Rev Bras Educ Saúde.* 2016; 6: 5.
 11. Marinho CP, Souza IM, Xavier MEB, Dourisboure CJ, Braz PH. Achado Citopatológico de Formas Amastigota de *Leishmania* Spp. Na Língua de Um Canino: Relato de Caso. *Pubvet.* 2017; 11: 1104–1107.
 12. Moreira PRR, Franciscato DA, Rossit SM, Munari DP, Vasconcelos RO. Influence of apoptosis on liver and spleen resistance in dogs with visceral leishmaniasis. *Rev Bras Parasitol Vet.* 2016; 25(3): 342-347.
 13. Alvar J, Cañavate C, Molina R, Moreno J, Nieto J. Canine leishmaniasis. *Adv Parasitol.* 2004; 57: 1-88.
 14. Silva ES, Gontijo CMF, Pacheco RS, Fiuza VOP, Brazil RP. Visceral Leishmaniasis in the Metropolitan region of Belo Horizonte, State of Minas Gerais, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.* 2018; 96: 285-291.
 15. Figueiredo MM, Deoti B, Amorim IF, Pinto AJW, Moraes A, Carvalho CS, Da Silva SM, et al. Expression of regulatory T cells in jejunum, colon and cervical and mesenteric lymph nodes of dogs naturally infected with *Leishmania infantum*. *Infect Immun.* 2014; 82(9): 3704-3712.
 16. Silva DT, Neves MF, Queiroz NMGP, Spada JCP, Alves ML, Flóro SM, et al. Correlation study and histopathological description of intestinal alterations in dogs infected with *Leishmania infantum*. *Rev Bras Parasitol Vet.* 2016; 25 (1): 24-36.

17. Souza KD, Fernandes EPA, Santos AGA, Lima LL, Gonzaga WFKM, Xander P, et al. Infection by *Leishmania (Leishmania) Infantum chagasi* causes intestinal changes B-1 cells dependent. *Parasit. Immunol.* 2019; 41, e12661. doi: 10.1111/pim.12661.
18. Passos FC, Gois MB, Sousa AD, Marinho AIL, Corvo L, Soto M, Barral-Netto M, et al. Investigating associations between intestinal alterations and parasite load according to *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus* spp. abundance in the gut microbiota of hamsters infected by *Leishmania infantum*. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2020, 115: e200377.
19. De Lima SKS, Cavallone IN, Oliveira KS, Passero LFD, Laurenti MD, Jesus JÁ, et al. Infection with *Leishmania (Leishmania) infantum* Changes the Morphology and Myenteric Neurons of the Jejunum of Golden Hamsters. *Parasitolo.* 2021; 1.4: 225-238.
20. Luz KG, Tuon FF, Duarte MIS, Maia GM, Matos P, Ramos AMDO, Nicodemo AC. Cytokine expression in the duodenal mucosa of patients with visceral leishmaniasis. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2010; 43: 393-395.
21. Casanova MI, Martín S, Marco A, Solano-Gallego L. Detection of *Leishmania* Spp. Infection by Immunohistochemistry in Archived Biopsy Samples from Dogs with Colitis in an Area Endemic for Leishmaniasis. *J Comp. Pathol.* 2019; 167: 12–17.
22. NIGAM Y, KNIGHT J, WILLIAMS N. Gastrointestinal tract 5: the anatomy and functions of the large intestine. *Nursing Times.* 2019, 115(10): 50-3.
23. Figueiredo MM, Amorim IFG, Pinto AJW, Barbosa VS, Pinheiro LJ, Deoti B, Faria AMC, et al. Expression of Toll-like receptors 2 and 9 in cells of dog

- jejunum and colon naturally infected with *Leishmania infantum*. *BMC immunol.* 2013; 14(1): 1-12.
24. Keita AV, Söderholm JD. The intestinal barrier and its regulation by neuroimmune factors. *Neurogastroenterol Motil.* 2010; 22: 718-733.
25. Bailey MT, Dowd SE, Galley JD, Hufnagle AR, Allen RG, Lyte M. Exposure to a social stressor alters the structure of the intestinal microbiota: Implications for stressor-induced immunomodulation. *Brain Behav Immun.* 2011; 25(3): 397-407.
26. Furness JB. The enteric nervous system and neurogastroenterology. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.*, 2012; 9: 286–294.
27. Powell N, Walker MM, Talley NJ. The mucosal immune system: master regulator of bidirectional gut-brain communications. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2017; 14(3): 143-159.
28. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai SHIV. *Imunologia celular e molecular*. 9. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2019.
29. Matteoli G, Gomez-Pinilla PJ, Nemethova A, Di Giovangiulio M, Cailotto C, van Bree SH, et al. A distinct vagal anti-inflammatory pathway modulates intestinal muscularis resident macrophages independent of the spleen. *Gut.* 2014, 63(6): 938-948.
30. Gonçalves JL, Yaochite JNU, Almeida de Queiroz CA, Câmara CC, Oriá RB. Bases do sistema imunológico associado à mucosa intestinal. Oriá RB, Brito GAC. *Sistema Digestório: Integração Básico-Clínica*. Blucher Open Access. 2016: 369-388.
31. Solé D, Silva LR, Cocco RR, Ferreira CT, Sarni RO, Oliveira LC, et al. *Consenso Brasileiro sobre Alergia Alimentar: 2018-Parte 1-Etiopatogenia,*

- clínica e diagnóstico. Documento conjunto elaborado pela Sociedade Brasileira de Pediatria e Associação Brasileira de Alergia e Imunologia. Arquivos de Asma, Alergia e Imunologia. 2018, 2(1): 7-38.
32. Yoo B, Mazmanian SK. The Enteric Network: Interactions between the Immune and Nervous Systems of the Gut. *Immun.* 2017; 46(6): 910–926.
33. Furness JB. The enteric nervous system: normal functions and enteric neuropathies. *Neurogastroenterol Motili.* 2008, 20(1): 32-38.
34. Verheijden SB, Boeckxstaens GE. The Vagus Nerve in Appetite Regulation, Mood, and Intestinal Inflammation. *Gastroenterology.* W.B. Saunders. 2017, 405(6785): 458-462, 2017.
35. Sant’Ana DMG, Góis MB, Hermes-Uliana C, et al. Acute infection with an avirulent strain of *Toxoplasma gondii* causes decreasing and atrophy of nitrergic myenteric neurons of rats. *Acta Histochemica* 2017; 119(4): 423-427.
36. Tironi LMT, Beraldi EJ, Borges SC, et al. Toxoplasmic Infection-induced Injury in the Ileal Myenteric Plexus in Rats Depends on the Dose of *Toxoplasma gondii* Oocysts. *J. Morphol. Scien.* 2018; 35: 80–86. doi: <https://doi.org/10.1055/s-0038-1660494>.
37. Trevizan AR, Schneider LCL, Araújo EJA, Garcia JL, Buttow NC, Nogueira-Melo GA, Sant’Ana DMG. Acute *Toxoplasma gondii* infection alters the number of neurons and the proportion of enteric glial cells in the duodenum in Wistar rats. *Neurogastroenterol Motil.* 2019; 31(3): e13523.
38. Dos Santos AGA, Da Silva MGL, Carneiro EL, De Lima LL, Fernandes ACBS, Silveira TGV, Sant’Ana DMG, et al. A New Target Organ of *Leishmania*

- (*Viannia*) *braziliensis* Chronic Infection: The Intestine. *Front Cell Infect Microbiol.* 2021; <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.687499>.
39. Kabouridis PS, Pachnis V. Emerging roles of gut microbiota and the immune system in the development of the enteric nervous system. *J Clin Investig.* 2015; 125(3): 956-964.
40. Braga-Silva CF, Suhett CSR, Drozino RN, Moreira NM, Sant'Ana DMG, Araújo SM. Biotherapeutic of *Toxoplasma gondii* reduces parasite load, improves experimental infection, protects myenteric neurons and modulates the immune response in mice with toxoplasmosis. *Eur J Integr Med.* 2016; 8: 865–874.
41. Barbosa BJP, Araújo EJA, Silva AV, Sant'Ana DMG. Atrofia neuronal mientérica no íleo de ratos infectados cronicamente por uma cepa genótipo I de *Toxoplasma gondii*. *Arq Ciên Vet e Zool.* 2009; 12:101-108.
42. Moreira NM, Zanoni JN, Dalálio MMO, Araújo EJA, Braga CF, Araújo SM. Physical exercise protects myenteric neurons and reduces parasitemia in *Trypanosoma cruzi* infection. *Exp Parasitol.* 2014; 141: 68-74.
43. Andrade ME, Araújo RS, De Barros PA, Soares AD, ABRANTES FA, Generoso SV, Fernandes SO, Cardoso VN. The role of immunomodulators on intestinal barrier homeostasis in experimental models. *E Spen Eur E J Clin Nutr Metab.* 2015; 34(6): 1080-1087.
44. Nico D, Feijó DF, Maran N, Morrot A, Scharfstein J, Palatnik M, Palatnik-de-Sousa CB. Resistance to visceral leishmaniasis is severely compromised in mice deficient of bradykinin B2-receptors. *Parasit Vectors.* 2012; 5: 261.
45. Pinto AJ, Figueiredo MM, Silva FL, Martins T, Michalick MS, Tafuri WL, Tafuri WL. Histopathological and parasitological study of the gastrointestinal tract of

- dogs naturally infected with *Leishmania infantum*. *Acta Vet Scand*. 2011; 53(1): 67.
46. Silva DT, Alves ML, Spada JCP, Silveira RCV, Oliveira TMF, Starke-Buzetti WA. Neutrophils, Eosinophils, and Mast Cells in the Intestinal Wall of Dogs Naturally Infected With *Leishmania Infantum*. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 2018; 27, 430–438. doi: 10.1590/s1984-296120180085
47. Santos AGA, Ferlini JP, Vicentino SL, Lonardon MVC, Sant’Ana DMC, Melo GAN. Alterations induced in the ileum of mice upon inoculation with different species of *Leishmania*: a preliminary study. *Ver Soc Bras Med Trop.* 2018; 51(04): 537-541.
48. Drugs for Neglected Diseases Initiative Leishmaniasis. Available online: <https://dndi.org/diseases/visceral-leishmaniasis/facts/> (Acesso em 08 de dezembro de 2021).
49. Vicentino-Vieira SL, Melo GAN, Góis MB, et al. Oral dependent-dose toxoplasmic infection model induced by oocysts in rats: Myenteric plexus and jejunal wall changes. *Exp parasitol.* 2015; 156: 12-18.
50. Góis MB, Hermes-Uliana C, Zago MCB, et al. Chronic infection with *Toxoplasma gondii* induces death of submucosal enteric neurons and damage in the colonic mucosa of rats. *Exp Parasitol.* 2016; 164: 56–63.
51. Hermes-Uliana C, Panizzon CPNB, Trevizan AR, Sehaber CC, Ramalho FV, Martins HA, Zanoni JN. Is I-Glutathione More Effective Than I-Glutamine in Preventing Enteric Diabetic Neuropathy? *Dig Dis Sci.* 2013; 59(5): 937–948.
52. Arantes RME, Marche HHF, Bahia MT, Cunha FQ, Rossi MA, Silva JS. Interferon- γ -Induced Nitric Oxide Causes Intrinsic Intestinal Denervation in *Trypanosoma cruzi*-Infected Mice. *Am J Pathol.* 2004; 164(4): 1367-1368.

53. Schneider LCL, Araújo SM, Buttow NC. *Trypanosoma cruzi* (Cepa CL) promove perda neuronal no Plexo Mioentérico do Cólon de ratos. Ver Saúde Pesq. 2016; 9(2): 235-242.
54. Araújo EJA, Zaniolo LM, Vicentino SL, Gois MB, Zanoni JN, Silva AV, Sant'Ana DMG. *Toxoplasma gondii* causes death and plastic alteration in the jejunal myenteric plexus. World J Gastroenterol, 2015; 21(16): 4829-4839.
55. Pereira LS, Da Silva AV, Araújo EJA, Sant'Ana DMG. Hypertrophy of NADH-diaphorase positive myenteric neurons in rat jejunum after acute infection caused by *Toxoplasma gondii*. J Venom Anim Toxins incl Trop Dis. 2010; 16(2): 28-310.
56. Chandrasekharan B, Srinivasan S. Diabetes and the enteric nervous system. Neurogastroenterol Motil. 2007; 19(12): 951–960.
57. Nishikawa Y, Kawase O, Vielemeyer O, Suzuki H, Joiner KA, Xuan X, Nagasawa H. *Toxoplasma gondii* infection induces apoptosis in noninfected macrophages: role of nitric oxide and other soluble factors. Parasite Immunol. 2007; 29(7): 375-385.
58. Sugauara EYY, Sant'Ana DMG, Silva AV, Souza EA, Araújo EJA. Hypertrophy of the neurons in the ileum of rats infected with cysts of *Toxoplasma gondii* (genotype II). Acta Scientiarum. Int J Biol Sci. 2009; 31(2): 195-201.
59. Brunet LR. Nitric oxide in parasitic infections. International immunopharmacology. 2001; 1(8): 1457-1467.
60. Iantorno G, Bassotti G, Kogan Z, Lumi CM, Cabanne AM, Fisogni S, Varrica LM, et al. The Enteric Nervous System in Chagasic and Idiopathic Megacolon. Am J Surg Pathol. 2007; 31(3): 460-8.

61. Silva LS, Sartori AL, Zaniolo LM, Silva AV, Sant'Ana DMG, Araújo EJA. *Toxoplasma gondii*: Myenteric neurons of intraperitoneally inoculated rats show quantitative and morphometric alterations. *Exp Parasitol*. 2011; 129(1): 5-10.
62. Halliez MCM, Buret AG. Gastrointestinal Parasites and the Neural Control of Gut Functions. *Front Cell Neurosci*. 2015; 9: 452.
63. Schneider LCL, Do Nascimento JCP, Trevizan AR, et al. *Toxoplasma gondii* promotes changes in VIPergic submucosal neurons, mucosal intraepithelial lymphocytes, and goblet cells during acute infection in the ileum of rats. *Neurogastroenterol Motil*. 2018; 30(5): e13264.
64. Schafer KH, Van Ginneken C, Copray S. Plasticity and neural stem cells in the enteric nervous system. *Anat Rec (HOBOKEN)*. 2009; 292(12): 1940-1952
65. Bauer AJ. Mentation on the immunological modulation of gastrointestinal motility. *Neurogastroenterol Motil*. 2008; 20: 81-90.
66. Weiss LM, KIM K. *Toxoplasma gondii*: o modelo apicomplexa. *Perspectivas e métodos*. Elsevier, 2011.
67. Silva JM. Efeitos da infecção crônica por *Toxoplasma gondii* sobre a parede intestinal de gatos domésticos. *Rev Bras Parasitol Vet*. 2010; 19(1): 55-61.
68. Elia CCS, Souza HSP. *Imunologia da mucosa intestinal: da bancada ao leito*. Rio de Janeiro: Atheneu. 2001; :187.
69. Citi S. Intestinal barriers protect against disease. *Science*. 2018; 359(6380): 1097-1098, 2018.
70. Groschwitz K, Hogan S. Intestinal barrier function: molecular regulation and disease pathogenesis. *J Allergy Clinical Immun*. 2009; 124(1): 3-20.
71. Sant'Ana DMG, Góis MB, Zanoni JN, Da Silva AV, Da Silva CJT, Araújo EJA. Intraepithelial lymphocytes, goblet cells and VIP-IR submucosal neurons of

jejunum rats infected with *Toxoplasma gondii*. Int J Exp Pathol. 2012; 93: 279–86.

72. Junqueira LC, Carneiro JA, Abrahamsohn P. Histologia Básica. 13ed. Rio de Janeiro; Guanabara Koogan, 2017.

73. Trevizan AR, Vicentino-Vieira SL, Watanabe PS, Gois MB, Melo GAN, Garcia JL, Araújo EJA, et al. Kinetics of acute infection with *Toxoplasma gondii* and histopathological changes in the duodenum of rats. Exp parasitol. 2016; 165: 22-29.