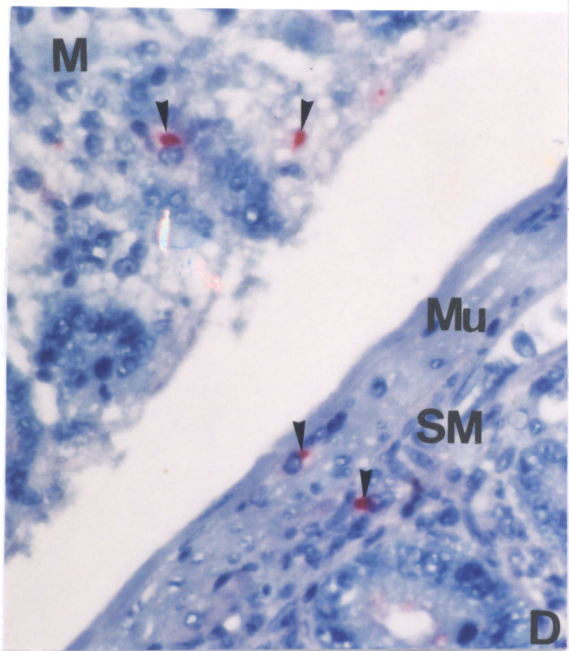
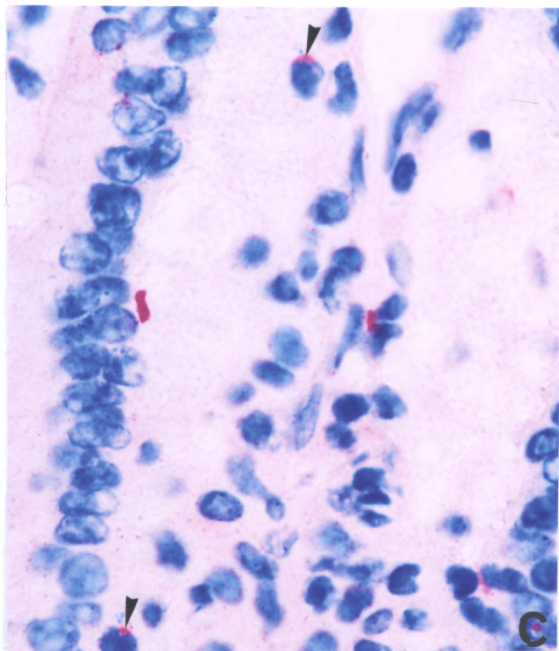
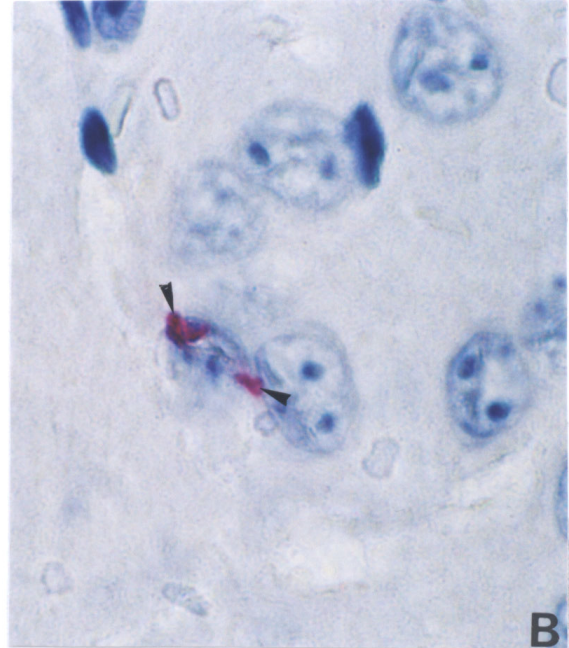
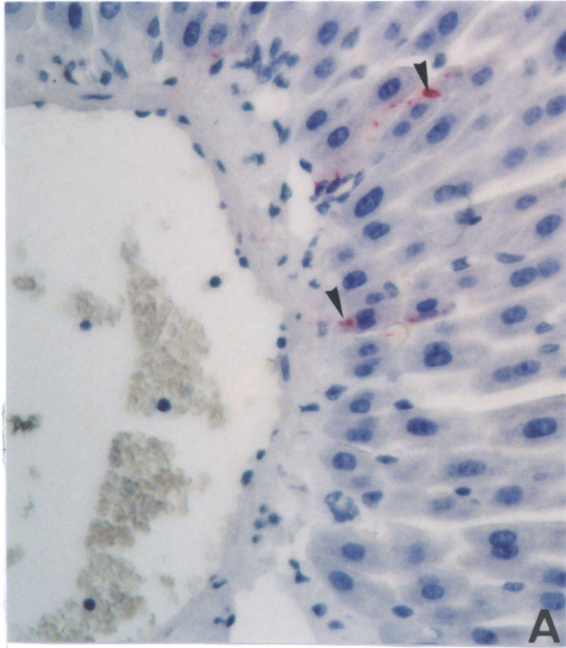




PRANCHA 9

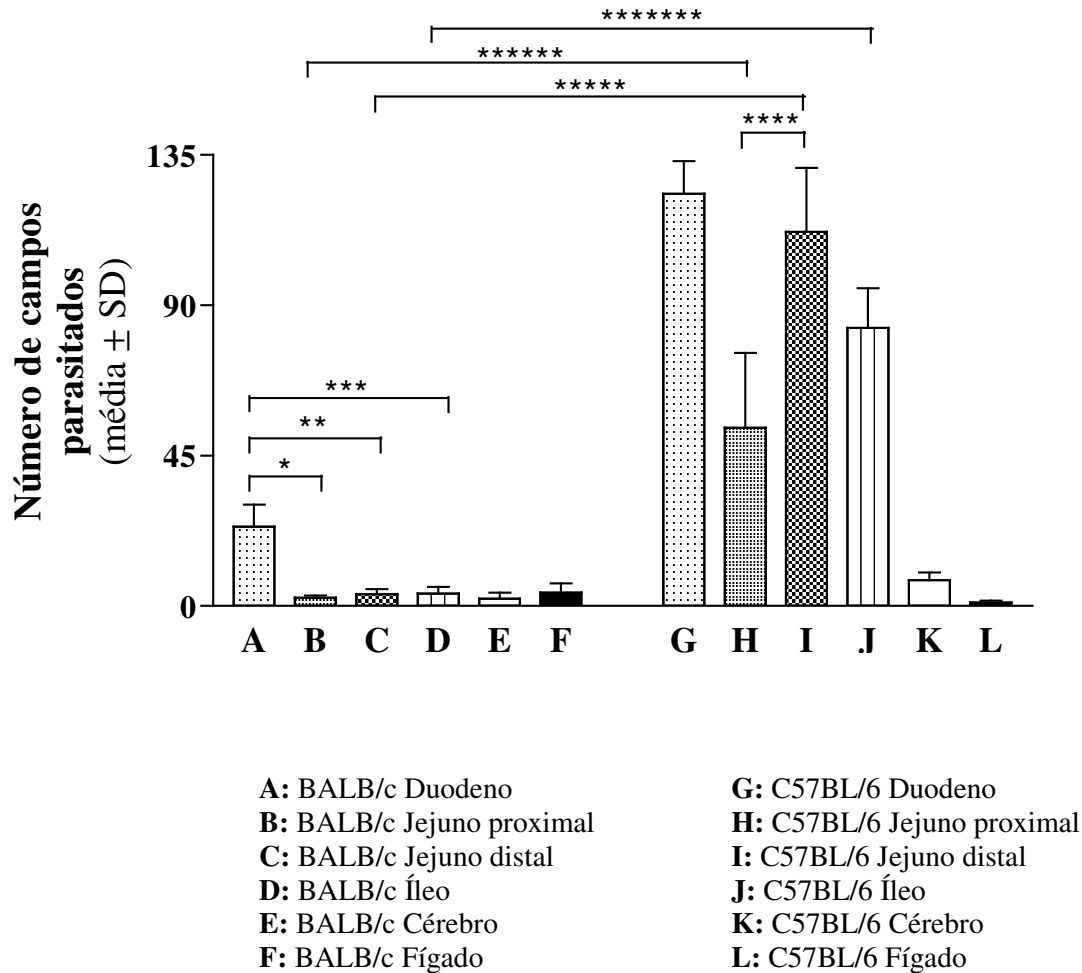


GRÁFICO 6- Número de campos parasitados no duodeno, jejunum proximal, jejunum distal, íleo, cérebro e fígado de camundongos BALB/c e C57BL/6 controle (após 8 dias de inóculo com o veículo- PBS) ou infectados (após 8 dias de infecção com 20 cistos da cepa ME-49 de *T. gondii*). * $P=0,0178$. ** $P=0,0235$. *** $P=0,0264$. **** $P=0,0348$. ***** $P=0,0016$. ***** $P=0,0033$. ***** $P=0,0004$.

PRANCHA 10

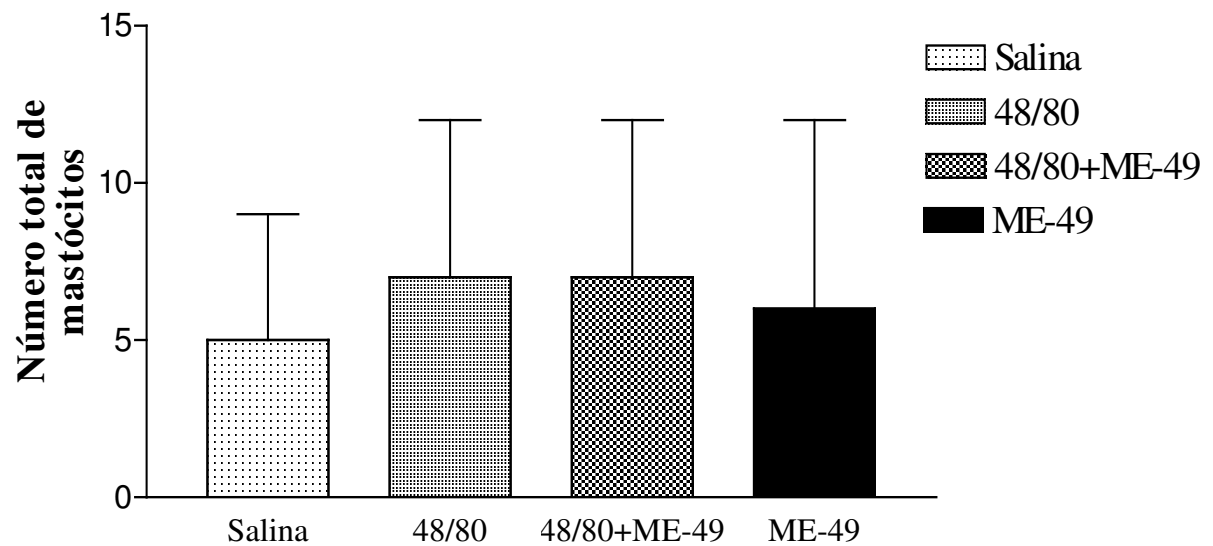
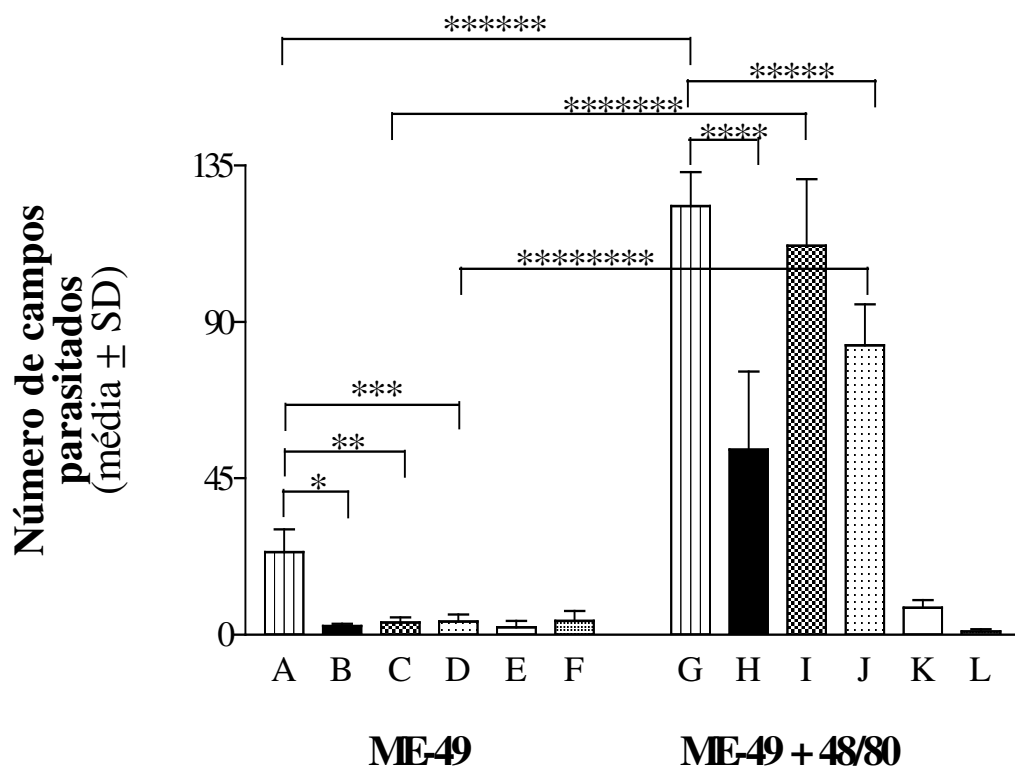


GRÁFICO 7- Média do número total de mastócitos encontrados no intestino delgado de camundongos BALB/c após 8 dias de infecção com 20 cistos da cepa ME-49 de *T. gondii* e tratados ou não com o composto 48/80, durante 12 dias.

PRANCHA 11



A: ME-49. Duodeno
B: ME-49. Jejunum proximal
C: ME-49. Jejunum distal
D: ME-49. Íleo
E: ME-49. Cérebro
F: ME-49. Fígado

G: ME-49 + composto 48/80. Duodeno
H: ME-49 + composto 48/80. Jejunum proximal
I: ME-49 + composto 48/80. Jejunum distal
J: ME-49 + composto 48/80. Íleo
K: ME-49 + composto 48/80. Cérebro
L: ME-49 + composto 48/80. Fígado

GRÁFICO 8- Número de campos parasitados no duodeno, jejuno proximal, jejuno distal, íleo, cérebro e fígado de camundongos BALB/c após 8 dias de infecção com 20 cistos da cepa ME-49 de *T. gondii*, tratados com o composto 48/80, durante 12 dias. * $P= 0,0178$. ** $P= 0,0235$. *** $P= 0,0264$. **** $P= 0,0288$. ***** $P= 0,0397$. ***** $P= 0,0001$. ***** $P= 0,0013$. ***** $P= 0,0006$.

Discussão

7. DISCUSSÃO

7.1. Exsudato peritoneal de camundongos BALB/c e C57BL/6 após 24 e 48 horas de infecção ou não pela cepa RH de *Toxoplasma gondii*

Os mastócitos são células imunocompetentes distribuídas em quase todos os tecidos e derivadas de células hematopoiéticas que alteram seu fenótipo após maturação em tecidos residentes. Mastócitos de mucosa são localizados, principalmente, na mucosa gastrintestinal e nos brônquios pulmonares, enquanto que, mastócitos de tecido conjuntivo distribuem-se em todos os tecidos conjuntivos, inclusive pele e peritônio (KATAOKA et al., 2005).

Os animais BALB/c e C57BL/6 são camundongos da mesma espécie *Mus musculus* de linhagens diferentes, sendo assim observou-se neste estudo que determinadas características foram coincidentes e outras não. À microscopia de luz, os mastócitos dos exsudatos peritoneais das duas linhagens de camundongos analisadas, BALB/c e C57BL/6, apresentaram características semelhantes. Os mastócitos do exsudato peritoneal de camundongos BALB/c e C57BL/6 exibiram, em sua maioria, forma esférica ou ovóide e grânulos citoplasmáticos, também em sua maioria, esféricos exibindo diâmetros, aparentemente, uniformes preenchendo quase todo o citoplasma. À microscopia eletrônica de transmissão estes mastócitos apresentaram grânulos citoplasmáticos, em sua maioria, com conteúdo homogêneo e elétron-denso preenchendo quase todo o citoplasma e, alguns, alojados em concavidades da membrana nuclear. Tais características são semelhantes às características morfológicas observadas em mastócitos de outros mamíferos como rato, cão, carneiro, humano, gambá e roedores *Calomys callosus* (SANTOS & MACHADO, 1994; HILL & MARTIN, 1998; CHIARINI-GARCIA et al., 2000; FERREIRA et al., 2004).

No presente trabalho as características morfológicas e ultra-estruturais observadas nos mastócitos do exsudato peritoneal de camundongos infectados por *T. gondii* como: nítida diminuição na quantidade de grânulos citoplasmáticos, grânulos elétron-lúcidos, halo perigranular elétron-lúcido, conteúdo de grânulos com elétron-densidade moderada, grânulos com conteúdo grumoso, membrana perigranular rompida, fusão de grânulos sugestiva de formação de canais intracitoplasmáticos e conteúdo de grânulos no meio extracelular indicativos de processo de desgranulação. Além disso, tais características foram raramente observadas nos mastócitos de camundongos não infectados, levando a crer que *T. gondii* participa do processo de desgranulação dos mastócitos. Dados semelhantes foram descritos em mastócitos do exsudato peritoneal de *C. callosus* infectados pela cepa RH de *T. gondii* (FERREIRA et al., 2004).

Mastócitos parasitados foram também presentes no exsudato peritoneal de camundongos BALB/c e C57BL/6 e alguns apresentavam características, já descritas, indicativas de processo de desgranulação. Outros tipos celulares também foram observados parasitados, como leucócitos e macrófagos. Resultados semelhantes foram descritos por Ferreira e colaboradores (2004) em mastócitos peritoneais de *C. callosus*. As células parasitadas continham vacúolos parasitóforos com taquizoítas em diferentes estágios do processo de endodiogenia, principalmente, após 24 horas de infecção (DUBEY et al., 1998; DUBEY, 2004). Após 48 horas de infecção a maioria das células não estavam parasitadas, provavelmente, em decorrência do ciclo biológico de *T. gondii*, que após tal período de infecção estão extracelulares. O parasitismo de diferentes tipos celulares pode ser explicado pelo estilo de vida intracelular de *T. gondii*, que é capaz de sobreviver em qualquer célula nucleada (ALIBERTI, 2005). Ferro e colaboradores (2002) estudaram a transmissão congênita da toxoplasmose e relataram a possibilidade de os taquizoítas utilizarem diferentes tipos celulares para a sua disseminação e conseqüente infecção de outros órgãos e tecidos. Após 48 horas de infecção pela cepa RH de *T. gondii* observou-se ainda, a microscopia eletrônica de transmissão, nítido aumento de organelas membranosas em mastócitos como: retículo endoplasmático granular, complexo de Golgi e

mitocôndrias. Estas podem representar a síntese de substâncias encontradas no interior de grânulos, ou seja, um processo de regranulação (COMBS, 1966; TAKEOKA et al., 1980).

Os mastócitos constituem um modelo comum celular inflamatório para o estudo de sinais modulatórios porque são células facilmente obtidas e sua resposta por meio da desgranulação pode ser quantificada pela liberação de determinados mediadores químicos, os quais estão estocados em seus grânulos (ALFONSO et al., 2005). Neste estudo a análise do exsudato peritoneal revelou que em camundongos BALB/c ocorreu um influxo de mastócitos, após 24 horas de infecção pela cepa RH de *T. gondii*, ao comparar-se com o grupo controle. Após 48 horas de infecção também foi possível notar a ocorrência de um influxo de mastócitos, em relação ao grupo controle, porém este influxo não foi estatisticamente significativo. Sobre este resultado pode-se considerar o fato de que mastócitos são células capazes de liberar mediadores pré-formados após alguns minutos de ativação. Em doenças alérgicas a reação de hipersensibilidade imediata pode ocorrer após, aproximadamente, uma hora pós-exposição ao alérgeno (GELFAND, 2004; MIYAZAKI et al., 2005). Outro aspecto a ser considerado é que mastócitos são células que participam de processos inflamatórios desencadeados por diferentes parasitas, inclusive *T. gondii* e são, ainda, importante fonte de uma grande variedade de mediadores químicos responsáveis pela indução de tais processos inflamatórios (MARONE et al., 2005; ITOH et al., 2005). Portanto, mastócitos são células fundamentais no curso do processo inflamatório não apenas em decorrência da liberação de mediadores, mas também porque, como importantes células participantes da imunidade inata, podem desencadear a ativação de tipos celulares como eosinófilos e neutrófilos, além de linfócitos, potencializando também a resposta da imunidade adaptativa.

Neste trabalho mastócitos foram vistos também em íntima associação com diferentes tipos celulares presentes no exsudato peritoneal. Está claro que mastócitos possuem uma função efetora importante: a promoção da imunidade inata contra a invasão microbiana. Desta maneira, a ativação de mastócitos pode ser elucidada por diversos mecanismos que incluem a sinalização através de

receptores Toll-like, receptores para componentes do sistema complemento e receptores para peptídeos endógenos. As funções dos mastócitos no desencadeamento da inflamação durante a imunidade inata, indicam que estes podem participar de respostas, *in vitro*, a partir da secreção de produtos tóxicos para patógenos e do seu comportamento fagocitário. Mastócitos expressam moléculas MHC e em estudos *in vitro* demonstram que podem interagir, diretamente, com receptores de linfócitos T e induzirem uma expansão clonal antígeno-específica desta população. Moléculas do MHC classe I são expressas por mastócitos de camundongos e humanos e a expressão de moléculas do MHC classe II pode ser observada em mastócitos isolados de tecidos infectados por patógenos e/ ou estimulados pelo TNF- α , IFN- γ ou LPS. Além disso, a expressão de moléculas co-estimulatórias, como CD80 e CD86, pode ser induzida em mastócitos de camundongos pelo GM-CSF e moléculas co-estimulatórias como OX-40 ligante e 4-1BB ligante podem ser expressas em mastócitos derivados do cordão umbilical de humanos (GALLI et al., 2005).

A análise do exsudato peritoneal demonstrou ainda que em camundongos C57BL/6 ocorreu um influxo de mastócitos, após 24 horas de infecção pela cepa RH de *T. gondii*, ao comparar-se com o grupo controle. Contudo, ao contrário do que foi observado em camundongos BALB/c, não houve significância estatística. Sendo assim é possível associar tais resultados a diferenças genéticas características de cada linhagem, que lhe conferem uma maior susceptibilidade ou resistência a determinadas infecções. Camundongos C57BL/6 são mais susceptíveis a infecção por *T. gondii* do que camundongos BALB/c (GAZZINELLI et al., 1994; LEE et al., 2004).

Interessantemente, mastócitos podem produzir respostas deletérias ou benéficas, de acordo com o perfil de mediadores químicos liberados, que serão responsáveis pela ativação da imunidade específica. Sua ação deletéria para o hospedeiro ocorre, por exemplo, na hipersensibilidade tipo I ou benéfica nas respostas contra helmintos (MYAZAKI et al., 2005; MARUYAMA et al., 2000).

Avanços consideráveis do nosso entendimento sobre a resposta imune aos parasitas têm emergido nos recentes anos com a aplicação de conceitos da

imunologia fundamental. Uma ampla variedade de respostas induzidas por parasitas apresenta um padrão de produção de citocinas dominantes de perfil Th1 ou Th2, derivadas de subtipos de linfócitos que estão, freqüentemente, associados com efeitos protetores ou deletérios da infecção (MYAZAKI et al., 2005; MARUYAMA et al., 2000). No presente trabalho o número de linfócitos do exsudato peritoneal de camundongos BALB/c foi, estatisticamente, significativo quando se compararam diferentes grupos e condições experimentais: o número de linfócitos foi maior no grupo de animais 24 horas pós-infecção do que no grupo de animais controle 24 horas pós-inóculo com PBS; o número de linfócitos foi maior também no grupo de animais controle 48 horas pós-inóculo com PBS do que no grupo de animais controle 24 horas pós-inóculo com PBS; e ainda observou-se que o número de linfócitos foi maior no grupo de animais 48 horas pós-infecção do que no grupo de animais 24 horas pós-infecção. A dicotomia das citocinas, muitas vezes, é relatada em uma visão simplificada da resposta imune induzida pelo parasita e em sua influência na resistência do hospedeiro ou na doença. Poucas respostas são puramente tipo 1 ou tipo 2 em características, e muitas são acompanhadas por respostas mediadas por tipos opostos, os quais são controlados por citocinas inibitórias produzidas por subtipos dominantes. Assim, tais regulações cruzadas podem guiar para a proteção do hospedeiro contra as conseqüências imunopatológicas potenciais de resposta dominante não regulada. Nota-se, então, que muitos processos de resistência e doença de hospedeiros requer uma orquestração de ambas respostas.

Sabe-se que para o coccídeo *T. gondii* uma resposta imunológica de perfil Th1 pode ser prejudicial à sua sobrevivência no hospedeiro parasitado (GAZZINELLI et al., 1991; HUNTER et al., 1995; MacDONALD & MONTELEONE, 2001). Sendo assim, camundongos, quando infectados por *T. gondii*, devem desenvolver uma resposta imunológica, preferencialmente, do tipo Th1 para sua proteção. Observa-se que mesmo diante deste quadro e que apesar de mastócitos desenvolverem um perfil de resposta do tipo Th2, prejudicial ao hospedeiro, são células que participam da resposta imunológica, como observado neste trabalho. É provável que sua participação na imunidade inata, sua

capacidade de ativação da imunidade adaptativa e a liberação de seus mediadores químicos sejam eventos importantes para a proteção do hospedeiro. Em concordância, há a expressão do MHC, complexo principal de histocompatibilidade, moléculas responsáveis pelo processamento e pela apresentação antigênica, expressas por mastócitos e capazes de torná-los células apresentadoras de antígenos (VINCENT-SCHNEIDER et al., 2001; GALLI et al., 2005).

STAT6, GATA3 e STAT4 são fatores de transcrição que medeiam a maturação de linfócitos T CD4⁺ naive induzidos por citocinas Th1 ou Th2. A ativação específica de STAT6 é crítica para um número de efeitos mediados pela IL-4, incluindo a indução da resposta Th2, a produção de IgE, a inflamação das vias aéreas induzidas por antígenos e a hiperresponsividade; fatores envolvidos no desenvolvimento de asma e atopia. GATA3 é um fator chave no desenvolvimento de células Th2 através da regulação de citocinas específicas do perfil Th2 como IL-2, IL-5 e IL-13 (PYKÄLÄINEN et al., 2005).

Kataoka e colaboradores (2005) relataram que mastócitos de tecido conjuntivo, semelhantemente, a células NK são capazes de produzir citocinas e participar de respostas imunes tanto de perfil Th2 quanto de perfil Th1. O perfil Th1 foi observado em mastócitos de infiltrado tumoral de mama e sua participação está relacionada a um prognóstico favorável. Mastócitos podem ainda expressar STAT4, assim como linfócitos B, linfócitos T, células NK, macrófagos e células dendríticas. STAT4 é uma proteína que possui importante papel na indução da produção de citocinas, em células imunocompetentes, capaz de ativar genes relacionados com a produção de citocinas de perfil Th1.

O número de mastócitos e neutrófilos encontrados na cavidade peritoneal de camundongos BALB/c não apresentou diferença estatística quando comparado ao número de mastócitos e neutrófilos encontrados na cavidade peritoneal de camundongos C57BL/6, após 24 e 48 horas, infectados ou não por *T. gondii*. Estes resultados são, parcialmente, discordantes daqueles encontrados no intestino delgado, pois neste órgão o número de mastócitos sobressaiu-se em camundongos BALB/c. É possível que esta discordância deva-se ao fato de que

mastócitos do exsudato peritoneal e do intestino delgado foram submetidos à diferentes condições experimentais. Os mastócitos do exsudato peritoneal foram colhidos de camundongos infectados com 10^5 taquizoítas de *T. gondii* da cepa RH, intraperitonealmente, enquanto que os mastócitos do intestino delgado foram colhidos de camundongos infectados com 20 cistos da cepa ME-49 de *T. gondii*, oralmente. Demonstrando a importância do desafio antigênico e a via de administração na modulação da uma resposta imunológica.

Observou-se ainda que o número de neutrófilos da cavidade peritoneal em camundongos BALB/c apresentou um aumento após 24 horas de infecção em relação ao número de neutrófilos encontrados no grupo controle. Possivelmente, a presença do parasita e de seus antígenos secretados e excretados desencadeou um processo inflamatório com liberação de mediadores quimiotáticos para neutrófilos por células da imunidade inata, inclusive por mastócitos (VINCENT-SCHNEIDER et al., 2001; MAYR et al., 2003; McGUINNESS et al., 2003; GALLI et al., 2005). A importância de mastócitos no recrutamento celular é descrita, classicamente, na imunidade contra helmintos que desencadeia a eosinofilia, porém atualmente, este recrutamento tem sido explorado e outros tipos celulares têm sido abordados como células recrutadas por mastócitos. Ferreira e colaboradores (2004) demonstraram que durante a fase aguda da toxoplasmose, neutrófilos da cavidade peritoneal de *C. callosus* foram recrutados de forma diretamente proporcional ao número de mastócitos da cavidade peritoneal, revelando uma possível interação entre estes tipos celulares. Além disso, outros estudos utilizando camundongos deficientes de mastócitos (*KitW/KitW-v*) demonstraram um significativo defeito na habilidade de recrutar células polimorfonucleares na cavidade peritoneal durante a fase aguda da infecção por *T. gondii*, sugerindo que estes tipos celulares servem com células efectoras fundamentais no recrutamento de neutrófilos. Sugeriu ainda que mastócitos podem ser fonte de mediadores que ligam-se a CXCR2, importante para o requerimento inicial de neutrófilos, pois camundongos deficientes de CXCR2 são defeituosos na expressão do mesmo. Interessante ressaltar que camundongos deficientes de mastócitos bem como camundongos deficientes na

expressão CXCR2 apresentaram uma alta carga parasitária, durante os estágios iniciais da infecção (DEL RIO et al., 2001).

Em camundongos C57BL/6 o número de neutrófilos foi semelhante em camundongos infectados ou não por *T. gondii*, após 24 e 48 horas. Dados esperados pois camundongos da linhagem C57BL/6 não apresentaram diferença estatística no número de mastócitos da cavidade peritoneal, células participantes do recrutamento de neutrófilos, entre camundongos não infectados e infectados, após 24 horas e 48 horas de inóculo com PBS ou com taquizoítas, respectivamente. Resultados semelhantes foram observados no número de macrófagos da cavidade peritoneal dos mesmos animais.

Macrófagos da cavidade peritoneal de camundongos BALB/c apresentaram um aumento significativo no seu número após 24 horas de infecção em relação ao número de macrófagos encontrados no grupo controle após 24 horas de inóculo com o veículo. Macrófagos são células centrais na resposta do hospedeiro a infecções. A produção de fatores como reativos intermediários do oxigênio e reativos intermediários do nitrogênio capacita estas células com potente atividade microbicida. Além disso, a fagocitose guia a uma rápida degradação microbiana em lisossomos, um processo potencializado pela opsonização de antígenos pela região Fc de anticorpos e por moléculas do sistema complemento. Macrófagos também processam e apresentam eficientemente peptídeos antigênicos com o auxílio de proteínas de superfície, como moléculas co-estimulatórias. Essa habilidade simultânea em expressar moléculas co-estimulatórias, notadamente CD80 e CD86, certifica que os macrófagos são células apresentadoras de antígenos profissionais. Macrófagos apresentam peptídeos microbianos para linfócitos T CD4⁺, linfócitos T CD8⁺ e também são importantes componentes na conexão da imunidade inata com a imunidade adaptativa. Apesar de os macrófagos possuírem atividade microbicida e serem capazes de ativar a imunidade adaptativa eles podem se comportar como células hospedeiras. Parasitas protozoários, muitas vezes, invadem macrófagos ou outras potentes células de defesa com sucesso, sobrevivem e se replicam no interior dos mesmos. *Trypanossoma cruzi*, *Toxoplasma gondii* e *Leishmania* são

parasitas que possuem importância médica e compartilham semelhanças entre si, como a facilidade de parasitar macrófagos e o desenvolvimento de infecções persistentes em hospedeiros mamíferos. Contudo, cada um destes parasitas tem estratégias próprias para invadir macrófagos ou outras células hospedeiras e promover sua própria sobrevivência (DENKERS & BUTCHER, 2005).

7.2. Intestino delgado, fígado e cérebro de camundongos BALB/c e C57BL/6 após 8 dias infecção ou não com 20 cistos da cepa ME-49 de *Toxoplasma gondii*

A análise morfológica das diferentes regiões do intestino delgado (duodeno, jejuno proximal, jejuno distal e íleo) de camundongos BALB/c e C57BL/6 controle revelou que os mastócitos foram encontrados, preferencialmente, na submucosa e na camada muscular. Estes exibiram, em sua maioria, forma ovóide e grânulos citoplasmáticos esféricos, também em sua maioria, e com diâmetros, aparentemente, uniformes preenchendo quase todo o citoplasma. Tais características são semelhantes às características morfológicas observadas em mastócitos de outros mamíferos como rato, cão, carneiro, humano, gambá e roedores *Calomys callosus* (SANTOS & MACHADO, 1994; HILL & MARTIN, 1998; CHIARINI-GARCIA et al., 2000; FERREIRA et al., 2004). Mastócitos do intestino delgado de camundongos BALB/c e C57BL/6 após 8 dias de infecção com 20 cistos da cepa ME-49 de *T. gondii* também foram encontrados, predominantemente, na submucosa e na camada muscular. No entanto, tais células ostentavam, em sua maioria, forma ovóide e variada quantidade de grânulos citoplasmáticos. Estes apresentaram diferenças nítidas no tamanho, na intensidade da metacromasia e alguns grânulos exibiram imagem negativa. Dados semelhantes foram descritos em mastócitos do exsudato

peritoneal de *C. callosus* infectados pela cepa RH de *T. gondii* (FERREIRA et al., 2004).

No presente trabalho mastócitos foram, preferencialmente, encontrados no duodeno de camundongos BALB/c e C57BL/6 infectados ou não. Após análise estatística e comparativa do número de mastócitos do intestino delgado de camundongos BALB/c e C57BL/6 infectados ou não observou-se que este é superiormente maior em camundongos BALB/c. Observou-se ainda que o intestino delgado dos camundongos BALB/c apresentou, predominantemente, um suave infiltrado inflamatório, enquanto que o intestino delgado de camundongos C57BL/6 apresentou uma reação inflamatória moderada a intensa, ou seja, os animais C57BL/6 exibiram uma reação inflamatória mais grave quando comparados com os animais BALB/c. O número de campos parasitados foi analisado de forma comparativa entre as duas linhagens, BALB/c e C57BL/6. Observou-se diferenças significativas no jejuno proximal, jejuno distal e íleo, nas quais uma quantidade superior de campos parasitados foi observada em camundongos C57BL/6, em relação a BALB/c. Tal supremacia do número de campos parasitados não foi observada no duodeno. Camundongos BALB/c têm sido descritos como animais mais resistentes à infecção por *T. gondii* do que camundongos da linhagem C57BL/6. Sendo assim sabe-se que estes últimos desenvolvem um processo inflamatório, inclusive intestinal, mais grave do que o que ocorre em camundongos BALB/c após infecção por *T. gondii* (GAZZINELLI et al., 1994). Estes resultados são indicativos de que a presença dos mastócitos protege o hospedeiro contra a infecção inflamatória desencadeada por *T. gondii*.

T. gondii ao invadir células epiteliais do intestino pode induzir uma forma grave de inflamação intestinal em camundongos de diferentes linhagens, em outros roedores, porcos e primatas não-humanos (KASPER et al., 2004). Em camundongos C57BL/6 esta patologia divide características histológicas e morfológicas com a Doença Inflamatória Intestinal (IBD) em humanos, como perda da arquitetura epitelial intestinal, diminuição das vilosidades, influxo maciço de células inflamatórias para a lâmina própria e necrose. Após ingestão

oral de cistos teciduais de *T. gondii*, este processo inflamatório, quando não controlado, resulta em rápida morte do hospedeiro, principalmente, em fêmeas que morrem antes dos machos. Isto sugere que fatores hormonais sexuais e o gênero são importantes para a determinação da susceptibilidade do animal. Após sete dias de infecção um processo de necrose pode ser identificado nas vilosidades intestinais, além de um infiltrado celular com neutrófilos, macrófagos, células dendríticas e linfócitos T no sítio de infecção. O recrutamento e a ativação de linfócitos T é capaz de induzir necrose tecidual e subsequente mortalidade (LIESENFELD et al., 1996). As vilosidades dos enterócitos intestinais formam uma barreira compacta contra patógenos, potencialmente, invasivos e liberam quimiocinas e citocinas, na superfície basolateral, que são importantes para a modulação da resposta imunológica e para a quimioatração. Várias evidências sugerem que neutrófilos são essenciais para a sobrevivência de camundongos durante os primeiros dias da infecção, após ingestão oral de cistos teciduais de *T. gondii*, pois camundongos quando depletados de neutrófilos exibem graves lesões teciduais e uma elevada carga parasitária em relação a camundongos competentes. MIP2, uma quimiocina secretada por enterócitos, está envolvida no tráfego de neutrófilos para o sítio da infecção. Além do seu papel antiparasitário, neutrófilos são uma importante fonte de IL-12 durante a resposta imune. IL-12 é uma citocina capaz de contribuir para a ativação de todo o GALT (tecido linfóide associado ao intestino) e é capaz de ativar, diretamente, múltiplas vias apoptóticas (KASPER et al., 2004).

Existe uma apreciação do papel biológico dos mastócitos na inflamação, dependente de citocinas Th2 e Th1. Demonstrou-se que o comportamento e as características de mastócitos alteram quando expostos a IFN- γ ou IL-4. Quando IFN- γ e IL-4 estão, continuamente, presentes durante o desenvolvimento de mastócitos, ambas citocinas guiam uma diminuição no número de mastócitos e liberação de seus mediadores químicos. Considerando que mastócitos sejam benéficos durante a indução e a resolução da inflamação, a perda das suas funções, Th1 ou Th2, durante o processo inflamatório crônico pode ser considerada, particularmente, prejudicial ao hospedeiro. Guiar estratégias para

aumentar o número de mastócitos e sua atuação na inflamação crônica pode ser paradoxalmente benéfico (KULKA & METCALFE, 2005).

A análise imunohistoquímica revelou a presença de *T. gondii* no intestino delgado, no fígado e no cérebro de camundongos BALB/c e C57BL/6, após 8 dias de infecção com 20 cistos da cepa ME-49 de *T. gondii*. No fígado e no cérebro a presença de *T. gondii* foi notada, indistintamente, por toda a região analisada e no intestino delgado, preferencialmente, na mucosa e submucosa. A disseminação de *T. gondii* para determinados tecidos preferenciais tem sido observada em diferentes trabalhos, acompanha a fase crônica da toxoplasmose e, normalmente, é acompanhada por manifestações clínicas clássicas (WONG & REMINGTON, 1993; DUBEY, 2004). A disseminação de *T. gondii* pode ocorrer através de macrófagos ou células dendríticas pois estes são capazes de, eficientemente, invadir e sobreviver no interior dessas células *in vitro*. Os macrófagos e as células dendríticas são importantes células apresentadoras de antígenos envolvidas no desenvolvimento da imunidade adaptativa. A plasticidade funcional assim como a propriedade migratória dessas células são utilizadas por patógenos para disseminação através do corpo. Observações prévias têm demonstrado o tráfego de parasitas do epitélio intestinal via linfonodos mesentéricos para o cérebro, o fígado ou outros órgãos (KASPER et al., 2004; ALIBERTI, 2005). O parasita está envolvido em vários mecanismos de indução de uma resposta imunológica potente pelo hospedeiro, a qual previne a morte do mesmo. Porém o patógeno utiliza mecanismos capazes de subverter a resposta imunológica e que permitem ao parasita sobreviver atingindo a fase crônica da doença (ALIBERTI, 2005). O cérebro é capaz de excluir componentes antigênicos para o sistema imune com grande eficiência através da barreira sangüínea e possui, também, células especializadas produtoras de citocinas (como IL-1, IL-6 e TNF- α) que executam funções imunológicas. Porém, o mecanismo de resistência desenvolvido por tais células, aparentemente, tem uma habilidade limitada em controlar patógenos, já que quando estes evadem as linhas de defesa e se proliferam no sistema neural ocorre um recrutamento de linfócitos. Desenvolve-se, então, uma colaboração entre o infiltrado de linfócitos

com células especializadas, residentes no cérebro. Contudo, o mecanismo de defesa do hospedeiro no cérebro é ainda pouco entendido. *T. gondii* é um excelente modelo para analisar-se o mecanismo de resistência no cérebro contra patógenos. A citocina IFN- γ e a imunidade mediada por células desenvolvem um papel central no controle de *T. gondii* durante a fase aguda e crônica da infecção. Descreveu-se recentemente, que camundongos nude atímicos, camundongos SCID e camundongos depletados de células NK expressam IFN- γ no cérebro, após infecção por *T. gondii*, provavelmente, produzido por macrófagos derivados do sangue e micróglia. Essas células são essenciais, pois colaboram com linfócitos T, com a manutenção da latência da infecção crônica e com a prevenção da encefalite toxoplásmica. Além desses tipos celulares, células gliais e astrócitos participam da defesa do sistema neural do hospedeiro contra infecções. IFN- γ é capaz de ativar micróglia e astrócitos no controle de *T. gondii*, induzir a expressão de moléculas do MHC classe I e II em micróglia e astrócitos (responsáveis pela apresentação antigênica a linfócitos T) e ativar células gliais a produzirem citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas, substâncias indutoras da infiltração de células imunocompetentes hematopoiéticas (SUZUKI, 2005).

Uma variedade de estímulos pode ativar mastócitos a liberarem uma diversidade de produtos biologicamente ativos, muitos com efeitos pró-inflamatórios, anti-inflamatórios e/ ou imunoregulatórios. A cinética da resposta secretora, em relação à quantidade e ao tipo de produto que será secretado, representa uma rede que resulta da sinalização positiva ou negativa de estímulos intra ou extracelulares. Além disso, fatores ambientais e genéticos podem influenciar múltiplos aspectos das respostas secretoras de mastócitos. Tais fatores, funcionalmente, são capazes de harmonizar os fenótipos secretores de mastócitos, o que notavelmente influencia a habilidade dessas células em contribuir com o desenvolvimento da resposta imune adaptativa e com suas funções celulares efetoras. Os mastócitos são conhecidos como células efetoras na resposta imune de perfil Th2 e associada a IgE. A ativação de mastócitos pode contribuir com a resistência do hospedeiro contra certos parasitas ou pode guiar a

desordens patológicas alérgicas, como na anafilaxia e na asma. A hiperplasia de mastócitos, assim como, alterações na sua distribuição tecidual e nas suas características fenotípicas podem ocorrer durante a resposta do hospedeiro (GALLI et al., 2005). Mastócitos apresentam características que são importantes durante uma resposta imunológica: a regulação da sua sobrevivência; sua proliferação; a modulação de características fenotípicas; a susceptibilidade à ativação por diferentes estímulos durante a resposta imune inata ou adquirida; a habilidade da célula em estocar e/ ou produzir vários mediadores químicos e a magnitude da sua resposta secretora a estímulos específicos. Todas estas características podem ser, minuciosamente, controladas em órgãos, tecidos ou sistemicamente. Os principais fatores que influenciam o número de mastócitos e seu fenótipo incluem: fatores de crescimento celular, IL-3 (importante fator de desenvolvimento e/ ou sobrevivência de mastócitos) e citocinas associadas ao perfil Th2 (como IL-4 e IL-9), todavia, a lista completa representa um amplo painel de fatores de crescimento, citocinas e quimiocinas. Mastócitos ou seus produtos podem ainda regular a migração, a maturação e o funcionamento de células dendríticas, bem como, a migração de linfócitos T através da liberação de fatores quimiotáticos. Os mastócitos são fonte de mediadores que contribuem para a polarização da resposta por linfócitos T, e linfócitos T por sua vez podem influenciar o desenvolvimento e a função de mastócitos, sugerindo a existência de uma complexa rede de interações envolvidas nesses tipos celulares. Mastócitos podem expressar CD154 e interagir com linfócitos B, induzindo a produção de IgE na presença de IL-4, porém na ausência de linfócitos T. Mais do que isso, a protease 1 de mastócitos de ratos pode aumentar a produção de IgG1 e IgE por linfócitos B na presença de IL-4 ou LPS (GALLI et al., 2005).

7.3. Mastócitos do intestino delgado de camundongos BALB/c após 8 dias infecção ou não com 20 cistos da cepa ME-49 de *Toxoplasma gondii* e tratados ou não com o composto 48/80 durante 12 dias

Segundo Enerback (1966a, b, c) mastócitos são divididos em duas subpopulações: os mastócitos de tecido conjuntivo e os mastócitos de mucosa, classificação esta que tem sido questionada pela observação de que mastócitos de tecido conjuntivo de vários locais (peritônio, mesentério, pulmão, linfonodos e pele) exibem variações acentuadas na morfologia e em suas propriedades histoquímicas e funcionais em resposta a diferentes agentes, inclusive o composto 48/80. Essas observações confirmam a existência de heterogeneidade fenotípica (TAINSH & PEARCE, 1992; CHIARINI-GARCIA & MACHADO, 1992; SANTOS, 2003; CHIARINI-GARCIA et al., 2000) e realçam o uso inapropriado dos termos mastócitos de mucosa e mastócitos de tecido conjuntivo que representam dois fenótipos extremos. A partir da década de 80, os estudos sobre mastócitos direcionaram-se, principalmente, para a determinação de fatores do microambiente capazes de influenciar o fenótipo e a função dessa célula, bem como para fatores que determinem sua diferenciação. O microambiente, onde se alojam precursores ou são inoculados mastócitos já diferenciados, é decisivo para a expressão ou manutenção de um dado fenótipo (MILLER, 1980; KITAMURA et al., 1987a, b). A bioquímica dos diversos microambientes é ainda desconhecida. No entanto, já se constatou a existência de diversos fatores solúveis que promovem a proliferação e diferenciação de mastócitos, como as IL-3 e IL-4 produzidas por linfócitos T (GINSBURG et al., 1981; NABEL et al., 1981; SMITH & RENNICK, 1986; MOSMANN et al., 1986; KITAMURA et al., 1987a, b). Diante das considerações o presente trabalho investigou a participação de mastócitos na fase aguda da infecção por diferentes cepas, RH e ME-49, em diferentes linhagens de camundongos e observou que a diferença, na quantidade de mastócitos presentes em camundongos C57BL/6 e BALB/c, pode estar relacionada com a sua susceptibilidade ou resistência. Sendo assim, é possível

sugerir que os mastócitos participem da resposta imunológica desenvolvida pela presença de *T. gondii* e que a susceptibilidade de camundongos C57BL/6 pode estar ligada à escassez deste tipo celular.

Neste estudo o número de mastócitos do intestino delgado foi avaliado em camundongos BALB/c submetidos a diferentes tratamentos envolvendo infecção pelo *T. gondii* e o tratamento com o composto 48/80: 8 dias de inóculo com salina; 12 dias de tratamento com o composto 48/80; 8 dias de infecção com *T. gondii* e 12 dias de tratamento com o composto 48/80 e 8 dias de infecção com *T. gondii*. Porém, apesar das diferentes condições experimentais a que esses camundongos foram submetidos não houve qualquer alteração, estatisticamente significativa, no número de mastócitos do intestino delgado dos mesmos. O composto 48/80 tem sido utilizado em vários trabalhos como agente desgranulador de mastócitos. Quando inoculado, intraperitonealmente, é capaz de induzir a desgranulação de mastócitos presentes na cavidade peritoneal e de mastócitos de tecido conjuntivo, entretanto pode causar hiperplasia em mastócitos de mucosa (SANTOS, tese de doutorado, 1996).

A sinalização de citocinas é crítica para a diferenciação da população de linfócitos T em Th1 e Th2. O desenvolvimento de linfócitos Th1 pode ser induzido pela presença da citocina IL-12, enquanto que a IL-4 pode estimular a diferenciação em Th2. STAT4 e STAT6 estão envolvidas na transdução de sinais durante a produção de IL-12 e IL-4, respectivamente. Camundongos deficientes de STAT4 demonstram redução da resposta Th1 e, a resposta Th2 fica comprometida em camundongos deficientes de STAT6. Entretanto, STAT4 parece ser dispensável para o desenvolvimento de Th1, pois linfócitos T derivados de camundongos duplamente deficientes em STAT4 e STAT6 apresentam uma diminuição da resposta Th2, mas demonstram fenótipo dominante para Th1. Ainda, a ausência de STAT6, mas não a presença de STAT4 é necessária para o perfil Th1 (KATAOKA et al., 2005).

Mastócitos de tecido conjuntivo expressam proteína STAT4, mas mastócitos de mucosa não. A expressão da STAT4 parece ser suprimida pela ativação de STAT6 em mastócitos de mucosa em cultura. STAT4 induz a

produção de IFN- γ e o aumento da atividade celular lítica tumoral dependente de óxido nítrico em mastócito de tecido conjuntivo. Observou-se ainda, que mastócitos desenvolvem uma resposta imune Th1, via ativação de STAT4 (KATAOKA et al., 2005).

Sete membros da família de proteínas foram identificados, em células de mamíferos. Estas desempenham um papel importante na sinalização de citocinas em células imunocompetentes, inclusive mastócitos. STAT4 está envolvida na transdução de sinais durante a produção da IL-12 e é expressa por linfócitos T, linfócitos B, células NK, células dendríticas e macrófagos, conseqüentemente, relaciona-se a respostas de perfil Th1 nestas linhagens de células. STAT4 influencia, ainda, a secreção de IL-18 uma citocina capaz de estimular a produção de citocinas de perfil Th1 e Th2. Em células NK, IL-18 estimula a produção de IFN- γ em sinergia com IL-12, mas induz a produção de IL-13 quando em combinação com IL-2. Sabe-se também, que mastócitos de mucosa produzem citocinas Th2, como IL-4 e IL-13, após estímulo da IL-18. Relatou-se que a administração de IL-18 pode induzir a produção de citocinas Th1, como IFN- γ , em cultura de mastócitos de tecido conjuntivo em sinergia com a IL-12. A produção de IFN- γ pelos mastócitos foi dependente de STAT4. Semelhantemente, a células NK, mastócitos são capazes de produzir citocinas Th1 e Th2 (KATAOKA et al., 2005).

Os mastócitos desempenham um papel chave em diferentes infecções e doenças (HUNTLEY et al., 1985; HARDIN et al., 1997; CALDERÓN et al., 1998; ONAH et al., 2000; FRIEND et al., 2000; NEVES et al., 2003; McDERMOTT et al., 2003; MALAVIYA et al., 2004; GIL et al., 2002; FERREIRA et al., 2004) e podem facilitar o desenvolvimento de processos inflamatórios, tais respostas são direcionadas por fatores presentes no microambiente onde mastócitos alojam-se. Em diferentes microambientes, diferentes perfis de citocinas podem estar presentes (Th1 e Th2) e, conseqüentemente, influenciar o comportamento e o número de mastócitos. Citocinas Th1 comportam-se, geralmente, como inibidoras, enquanto que, citocinas Th2 são reportadas como estimuladoras, por exemplo, do número de

mastócitos e da resposta imunológica. Mastócitos são conhecidos como células efetoras críticas no processo inflamatório dependente do perfil Th2, isto é importante para o entendimento dos diferentes efeitos das citocinas associadas com estes estados inflamatórios, no que se refere às características biológicas dos mastócitos. Estudos prévios do efeito de citocinas Th1 (como IFN- γ) e citocinas Th2 (como IL-4 e IL-5) têm descrito que IFN- γ inibe a função de mastócitos e que IL-4 e, algumas vezes, IL-5 potencializam as funções dos mastócitos. Contudo, os efeitos da IL-4 parecem variar de estudo para estudo, ou seja, podem potencializar ou inibir as funções dos mastócitos. Outra dificuldade é a determinação do efeito destas citocinas em complexas culturas de mastócitos, nas quais os efeitos são algumas vezes analisados considerando-se apenas as características morfológicas dos mastócitos, como a coloração dos grânulos citoplasmáticos. Observou-se que a IL-4 quando adicionada ao processo de crescimento e diferenciação de mastócitos é capaz de inibir a divisão celular dependente de SCF, diminuindo a quantidade de mastócitos. Em outras condições experimentais a IL-4 foi capaz de estimular a proliferação dos mastócitos, de aumentar a expressão de FC ϵ RI e de potencializar a desgranulação dos mastócitos. Esses dados indicam que não se pode afirmar que citocinas Th2 irão sempre estimular as funções dos mastócitos. IFN- γ é citado como um inibidor do crescimento de mastócitos o que significa que a função dos mastócitos, estimulada por tal citocina, é a manutenção do processo inflamatório dominado por citocinas de perfil Th1. IL-5 por sua vez representa em essência um controle para outros parâmetros analisados, incluindo a expressão do seu receptor na superfície nos mastócitos, a liberação de β -hexosaminidase (β -hex), de histamina e de triptase. Contudo, os resultados com IL-5 demonstraram que mastócitos não se proliferam e nem liberam seus mediadores químicos na presença da IL-5. Isto é atraente, pois pode-se correlacionar a produção de IL-5 por mastócitos humanos (ausência de efeito autócrino) com a produção de IL-4 e de IFN- γ (ação autócrina) (KATAOKA et al., 2005).

Diante dos resultados deste trabalho sobre a participação dos mastócitos em processos inflamatórios, o número de mastócitos observados em diferentes

regiões e que variam de acordo com a cepa de *T. gondii*, sua relação com outros tipos celulares e a sua influência na susceptibilidade de diferentes linhagens de camundongos, pode-se inferir que outros aspectos desta resposta devem ser explorados e investigados.

Conclusões

8- CONCLUSÕES

8.1. À microscopia de luz e à microscopia eletrônica de transmissão os mastócitos do exsudato peritoneal de camundongos BALB/c e C57BL/6 apresentam características morfológicas semelhantes tanto na sua forma, quanto na quantidade e nas características de seus grânulos citoplasmáticos.

8.2. À microscopia de luz e à microscopia eletrônica de transmissão os mastócitos do exsudato peritoneal de camundongos BALB/c e C57BL/6 ostentam alterações morfológicas semelhantes, após 24 e 48 horas de infecção pela cepa RH de *T. gondii*.

8.3. A análise do exsudato peritoneal revela que em camundongos BALB/c ocorre um aumento, estatisticamente significativo, no número de mastócitos, neutrófilos e macrófagos após 24 horas de infecção pela cepa RH de *T. gondii*. Já em camundongos da linhagem C57BL/6 este influxo ocorre, porém o aumento no número de células não é estatisticamente significativo.

8.4. Sob qualquer condição experimental, após 24 ou 48 horas, não há diferença no número de mastócitos e neutrófilos entre camundongos BALB/c e C57BL/6, infectados ou não.

8.5. Em camundongos BALB/c o número de linfócitos do exsudato peritoneal é, estatisticamente, maior após 24 e 48 horas de infecção; situação não observada em camundongos C57BL/6.

8.6. Após comparação entre as duas linhagens de camundongos, BALB/c e C57BL/6, observa-se que a diferença do número de linfócitos é significativa após 24 e 48 horas de inóculo com PBS no exsudato peritoneal de camundongos C57BL/6.

8.7. A análise morfológica das diferentes regiões do intestino delgado (duodeno, jejuno proximal, jejuno distal e íleo) de camundongos BALB/c e C57BL/6 mostra que os mastócitos são encontrados, preferencialmente, na submucosa e na camada muscular.

8.8 À microscopia de luz mastócitos do intestino delgado de camundongos BALB/c e C57BL/6 após 8 dias de infecção com 20 cistos da cepa ME-49 de *T. gondii* ostentam, nitidamente, alterações na quantidade e tamanho de seus grânulos citoplasmáticos.

8.9. O número de mastócitos do intestino delgado de camundongos BALB/c e C57BL/6 após 8 dias de infecção ou não com a cepa ME-49 de *T. gondii* é, superiormente, predominante em camundongos BALB/c. Os mastócitos são, preferencialmente, encontrados no duodeno de camundongos BALB/c e C57BL/6 infectados ou não.

8.10. A análise histopatológica de camundongos, após 8 dias de infecção com a cepa ME-49 de *T. gondii*, revela um infiltrado inflamatório mais intenso no intestino delgado de camundongos C57BL/6 do que no intestino delgado de camundongos BALB/c.

8.11. *T. gondii* é encontrado no intestino delgado, fígado e cérebro de camundongos BALB/c e C57BL/6 após 8 dias de infecção com a cepa ME-49.

8.12. O número de mastócitos do intestino delgado de camundongos BALB/c não se altera após 8 dias de infecção com a cepa ME-49 de *T. gondii* e após 12 dias de tratamento ou não com o composto 48/80.

8.13. O número de campos parasitados é maior no grupo de camundongos BALB/c infectados com a cepa ME-49 de *T. gondii* e tratados ou não com o composto 48/80 quando comparado ao grupo de camundongos apenas infectados, particularmente no duodeno, jejuno distal e íleo.

8.14. Pela primeira vez relacionou-se a susceptibilidade de camundongos C57BL/6 e a resistência de camundongos BALB/c pela infecção de *T. gondii* com o número de mastócitos. E diante dos resultados é possível sugerir que os mastócitos participem da resposta imunológica desenvolvida pela presença de *T. gondii*, durante a fase aguda, e que a susceptibilidade de camundongos C57BL/6 e resistência de camundongos BALB/c pode estar ligada à escassez deste tipo celular.

Referências Bibliográficas

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

As referências bibliográficas estão citadas de acordo com as normas da ABNT (NB-6023).

ALFONSO, A.; VIEYTES, M. R.; BOTANA, L. M. Calcium-pH crosstalks in rat mast cells: modulation by transduction signals show non-essential role for calcium in alkaline-induced exocytosis. **Biochemical Pharmacology**, v. 69, n. 2, p. 319-327, 2005.

ALIBERTI, J. Host persistence: exploitation of anti-inflammatory pathways by *Toxoplasma gondii*. **Nature Reviews Immunology**, published online 20 january, 2005.

ASKENASE, P. W.; BURSZTAJN, S.; GERSHON, M. D.; GERSHON, R. K. T cell-dependent mast cell degranulation and release of serotonin in murine delayed-type hypersensitivity. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 152, p. 1358-1374, 1980.

AUSTEN, K. F. The heterogeneity of mast cell populations and products. **Hospital Practice**, v. 19, n. 9, p. 135-146, 1984.

AVILA, G.; AGUILAR, L.; BENITEZ, S.; YEPES-MULIA, L.; LAVENAT, I.; FLISSER, A. Inflammatory responses in the intestinal mucosa of gerbils and hamsters experimentally infected with the adult stage of *Taenia solium*. **International Journal Parasitology**, v. 32, n. 10, p. 1301-1308, 2002.

BLACK, M. W. & BOOTHROYD, J. C. Lytic cycle of *Toxoplasma gondii*. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 64, n. 3, p. 607-23, 2000.

BOHNE, W.; GROSS, U.; HEESEMANN, J. Differentiation between mouse-virulent and avirulent strains of *Toxoplasma gondii* by a monoclonal antibody recognizing a 27-kilodalton antigen. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 31, n. 6, p. 1641-1643, 1993.

BONHOMME, A.; PINGRET, L.; PINON, J. M. *Toxoplasma gondii* cellular invasion. **Parasitology**, v. 34, n. 1-3, p. 31-43, 1992.

BRANDTZAEG, P. & PABST, R. Let's go mucosal: communication on slippery ground. **Trends in Immunology**, v. 25, n. 11, p. 570-578, 2004.

BROWN, C. R.; DAVID, C. S.; KHARE, S. J.; McLEOD, R. Effects of human class I transgenes on *Toxoplasma gondii* cyst formation. **Journal of Immunology**, v. 152, n. 9, p. 4537-41, 1994.

BUZONI-GATEL, D.; DEBBABI, H.; MENNECHET, F. J.; MARTIN, V.; LEPAGE, A. C.; SCHWARTZMAN, J. D.; KASPER, L. H. Murine ileitis after intracellular parasite infection is controlled by TGF-beta-producing intraepithelial lymphocytes. **Gastroenterology**, v. 120, p. 914-924, 2001.

CALDÉRON, G. M.; TORRES-LOPES, J.; LIN, T. J.; CHAVEZ, B.; HERNANDEZ, M.; MUNOZ, O.; BEFUZ, A. D.; ENCISO, J. A. Effects of toxin A from *Clostridium difficile* on mast cell activation and survival. **Infection and Immunity**, v. 66, n. 6, p. 2755-2761, 1998.

CAMARGO, M. E.; FERREIRA, A. W.; MINEO, J. R.; TAKIGUTI, C. K.; NAKAHARA, O. S. Immunoglobulin G and immunoglobulin M enzyme-linked immunosorbent assays and defined toxoplasmosis serological patterns. **Infection and Immunity**, v. 21, n. 1, p. 55-58, 1978.

CARRUTHERS, V. B. Host cell invasion by the opportunistic pathogen *Toxoplasma gondii*. **Acta Tropica**, v. 81, p. 111-122, 2002.

CHIARINI-GARCIA, H. & MACHADO, C. R. S. Mast cell types and their distribution in the lymph nodes of opossum *Didelphis albiventris* (Marsupialia, Didelphidae). **Cell and Tissue Research**, v. 268, p. 571-574, 1992.

CHIARINI-GARCIA, H.; SANTOS, A. A. D.; MACHADO, C. R. S. Mast cells types and cell-to-cell interactions in lymph node of the opossum *Didelphis albiventris*. **Anatomy and Embriology**, v. 201, p. 197-206, 2000.

COMBS, J. W. Maturation of rat mast cells; an electron microscopy study. **The Journal of Cell Biology**, v. 31, p. 536-575, 1966.

DEL RIO, L.; BENNOUMA, S.; SALINAS, J.; DENKERS, E. Y. CXCR2 deficiency confers impaired neutrophil recruitment and increased susceptibility during *Toxoplasma gondii* infection. **Journal of Immunology**, v. 167, n. 11, p. 6503-6509, 2001.

DENKERS, E. Y. & BUTCHER, B. A. Sabotage and exploitation in macrophages parasitized by intracellular protozoans. **Trends in Parasitology**, v. 21, n. 1, p. 35-41, 2005.

DENKERS, E. Y. & GAZZINELLI, R. T. Regulation and function of T-cell-mediated immunity during *Toxoplasma gondii* infection. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 11, n. 4, p. 569-588, 1998.

DENKERS, E. Y.; BUTCHER, B. A.; DEL RIO, L.; KIM, L. Manipulation of mitogen-activated protein kinase/nuclear factor-kappaB-signaling cascades during intracellular *Toxoplasma gondii* infection. **Immunological Reviews**, v. 201, p. 191-205, 2004.

DIMITRIADOU, V.; LAMBRACHT-HALL, M.; REICHLER, J.; THEOHARIDES, T. C. Histochemical and ultrastructural characteristics of rat brain perivascular mast cells stimulated with compound 48/80 and carbachol. **Neuroscience**, v. 39, p. 209-224, 1990.

DUBEY, J. P. Toxoplasmosis- a waterborne zoonosis. **Veterinary Parasitology**, v. 126, p. 57-72, 2004.

DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S.; SPEER, C. A. Structures of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites, and sporozoites and biology and development of tissue cysts. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 11, n. 2, p. 267-99, 1998.

DUBEY, J. P.; NAVARRO, I. T.; GRAHAM, D. H.; DAHL, E.; FREIRE, R. L.; PRUDENCIO, L. B.; SREEKUMAR, C.; VIANNA, M. C.; LEHMANN, T. Characterization of *Toxoplasma gondii* isolates from free range chickens from Parana, **Brazilian Veterinary Parasitology**, v. 117, n. 3, p. 229-234, 2003.

DUBEY, J. P.; SPEER, C. A.; SHEN, S. K.; KWOK, O. C. H.; BLIXT, J. A. Oocist induced murine toxoplasmosis: life cycle, pathogenicity and stage conversion in mice fed *Toxoplasma gondii* oocysts. **The Journal of Parasitology**, v. 83, n. 5, p. 870-882, 1997.

ENERBACK, L. Mast cells in rat gastrointestinal mucosa; I- effects of fixations. **Acta Pathologica et Microbiologica Scandinavica**, v. 66, p. 289-302, 1966a.

ENERBACK, L. Mast cells in rat gastrointestinal mucosa; II- dye bindings and metachromatic properties. **Acta Pathologica et Microbiologica Scandinavica**, v. 66, p. 303-12, 1966b.

ENERBACK, L. Mast cells in rat gastrointestinal mucosa; III- reactivity towards compound 48/80. **Acta Pathologica et Microbiologica Scandinavica**, v. 66, p. 313-22, 1966c.

ENERBACK, L. Mast cells in rat gastrointestinal mucosa; IV- monoamine storing capacity. **Acta Pathologica et Microbiologica Scandinavica**, v. 67, p. 367-379, 1966d.

FADUL, C. E.; CHANNON, J. Y.; KASPER, L. H. Survival of immunoglobulin G-opsonized *Toxoplasma gondii* in non-adherent human monocytes. **Infection and Immunity**, v. 63, n. 11, p. 4290-4294, 1995.

FERGUSON, D. J. P. & HUTCHISON, W. M. Comparison of the development of avirulent and virulent strains of *Toxoplasma gondii* in the peritoneal exsudate of mice. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v. 75, n. 5, p. 539-546, 1981.

FERREIRA, G. L. S.; MINEO, J. R.; OLIVEIRA, J. G.; FERRO, E. A. V.; SOUZA, M. A.; SANTOS, A. A. D. *Toxoplasma gondii* and mast cell interactions in vivo and in vitro: experimental infection approaches in *Calomys callosus* (Rodentia, Cricetidae). **Microbes and Infection**, v. 6, n. 2, p. 172-181, 2004.

FERRO, E. A.; SILVA, D. A.; BEVILACQUA, E.; MINEO, J. R. Effect of *Toxoplasma gondii* infection kinetics on trophoblast cell population in *Calomys callosus*, a model of congenital toxoplasmosis. **Infection and Immunity**, v. 70, n. 12, p. 7089-7094, 2002.

FLAJNIK, M. F. & DU PASQUIER, L. Evolution of innate and adaptive immunity: can we draw a line? **Trends in Immunology**, v. 25, n. 12, p. 640-644, 2004.

FRIEDMAN, M. M. & KALINER, M. Ultrastructural changes in human skin mast cells during antigen-induced degranulation *in vivo*. **The Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 82, p. 998-1005, 1988.

FRIEND, D. S.; GURISH, M. F.; AUSTEN, K. F.; HUNT, J.; STEVENS, R. L. Senescent jejunal mast cells and eosinophils in the mouse preferentially translocated to the spleen and draining lymph node, respectively, during the recovery phase of helminth infection. **Journal of Immunology**, v. 165, n. 1, p. 344-352, 2000.

FUJII, H.; KAMIYAMA, T.; HAGIWARA, T. Species and strain differences in sensitivity to *Toxoplasma* infection among laboratory rodents. **Japanese Journal of Medical Science & Biology**, v. 36, n. 6, p. 343-6, 1983.

FURTADO, G.; CAO, Y.; JOINER, K. A. Laminin on *Toxoplasma gondii* mediates parasite binding the β_1 integrin receptor $\alpha_6\beta_1$ on human foreskin fibroblast and chinese hamster ovary cells. **Infection and Immunity**, v. 60, p. 4925-4931, 1992.

FUX, B. C. V.; RODRIGUES, R. W.; PORTELA, N. M.; SILVA, C.; SU, D.; SIBLEY, R. W.; VITOR, P.; GAZZINELLI, R. T. Role of cytokines and major histocompatibility complex restriction in mouse resistance to infection with a natural recombinant strain (type I-III) of *Toxoplasma gondii*. **Infection and Immunity**, v. 71, p. 6392-6401, 2003.

GALLI, S. J.; MAURER, M.; LANTZ, C. S. Mast cells as sentinels of innate immunity. **Current Opinion in Immunology**, v. 11, p. 53-59, 1999.

GALLI, S. J.; NAKAE, S.; TSAI, M. Mast cells in the development of adaptive immune responses. **Nature Immunology**, v. 6, n. 2, p. 135-142, 2005.

GAZZINELLI, R. T.; ELTOUM, I.; WYNN, T. A.; SHER, A. Acute cerebral toxoplasmosis is induced by in vivo neutralization of TNF- α and correlates with the down-regulated expression of inducible nitric oxide synthase and other markers of macrophage activation. **Journal of Immunology**, v. 151, n. 7, p. 3672-3681, 1993a.

GAZZINELLI, R. T.; HAKIM, F. T.; HIENY, S.; SHEARER, G. M.; SHER, A. Synergistic role of CD4⁺ and CD8⁺ T lymphocytes in IFN- γ production and protective immunity induced by an attenuated *Toxoplasma gondii* vaccine. **Journal of Immunology**, v. 146, p. 286-292, 1991.

GAZZINELLI, R. T.; HIENY, S.; WOLF, S.; SHER, A. IL-12 is required for the T-cell independent induction of IFN- γ by an intracellular parasite and induces resistance in T-deficient hosts. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 90, p. 6115-6119, 1993b.

GAZZINELLI, R. T.; WYSOCKA, M.; HAYASHI, E. Y.; HIENY, S.; CASPAR, P.; TRINCHIERI, G.; SHER, A. Parasite-induced IL-12 stimulates early IFN- γ synthesis and resistance during acute infection with *Toxoplasma gondii*. **Journal of Immunology**, p. 2533-2543, 1994.

GELFAND, E. W. Inflammatory mediators in allergic rhinitis. **The Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 114, p. 135-138, 2004.

GIL, C. D.; MINEO, J. R.; SMITH, R. L.; OLIANI, S. M. Mast cells in the eyes of *Calomys callosus* (Rodentia: Cricetidae) infected by *Toxoplasma gondii*. **Parasitology Research**, v. 88, n. 6, p. 557-562, 2002.

GINSBURG, H.; OLSON, E. C.; HUFF, T. F.; OKUDAIRA, H.; ISHIZAKA, T. Enhancement of mast cell differentiation in vitro by T cell factor (s). **International Archives of Allergy and Applied Immunology**, v. 66, p. 447-458, 1981.

GRAU, G. E.; TACCHINI-COTTIER, F.; PIQUET, P. F. Is TNF beneficial or deleterious in toxoplasmic encephalitis? **Parasitology Today**, v. 8, n. 10, p. 322-324, 1992.

HARDIN, J. A.; BURET, A. G.; OLSON, M. E.; KIMM, M. H.; GALL, D. G. Mast cell hyperplasia and increased macromolecular uptake in animal model of giardiasis. **The Journal of Parasitology**, v. 83, n. 5, p. 908-912, 1997.

HENZ, B. M.; MAURER, M.; LIPPERT, U.; WORM, M.; BABINA, M. Mast cells as initiators of immunity and host defense. **Experimental Dermatology**, v. 10, p. 1-10, 2001.

HERDERSON Jr., W. R. & CHI, E. Y. The importance of leukotrienes in mast cell-mediated *Toxoplasma gondii* cytotoxicity. **The Journal of Infectious Disease**, v. 177, p. 1437-1443, 1998.

HILL, P. B. & MARTIN, R.J. A review of mast cell biology. **Veterinary Dermatology**, v. 9, p. 156-166, 1998.

HOWE, D. K. & SIBLEY, L. D. *Toxoplasma gondii* comprises three clonal lineages: correlation of parasite genotype with human disease. **The Journal of Infectious Disease**, v. 172, p. 1561-1566, 1995.

HUNTER, C. A.; CANDOLFI, E.; SUBAUSTE, C.; CLEAVE, V. V.; REMINGTON, J. S. Studies on the role of interleukin-12 in acute murine toxoplasmosis. **Immunology**, v. 84, p. 16-20, 1995.

HUNTLEY, J. F.; NEWLANDS, G. F. J.; MILLER, H. R. P.; McLAUCHLAN, M.; ROSSI, M. E.; HESKET, P. Systemic release of mucosal mast cell protease during infection with the intestinal protozoan parasite, *Eimeria nieschulzi*. Studies in normal and the nude rats. **Parasite Immunology**, v. 7; p. 489-501, 1985.

ITOH, Y.; SENDO, T.; OISHI, R. Physiology and pathophysiology of proteinase-activated receptors (PARs): role of tryptase \PAR-2 in vascular endothelial barrier function. **Journal of Pharmacological sciences**, v. 97, p. 14-19, 2005.

JAMES, S. P. Prototypic disorders of gastrointestinal mucosal immune function: Celiac disease and Crohn's disease. **The Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 115, n. 1, p. 25-30, 2005.

JOINER, K. A. & DUBREMETZ, J. F. *Toxoplasma gondii*: a protozoan for the nineties. **Infection and Immunity**, v. 61, n. 4, p. 1169-1172, 1993.

KARNOVSKY, M. J. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolarity for use in electron microscopy. **The Journal of Cell Biology**, v. 27, p. 137A-138A, 1965.

KASPER, L. H. & BOOTHROYD, J. *Toxoplasma gondii* and toxoplasmosis. In WARREN, K. S.: **Immunology, Molecular Biology and Parasites Infection**, 3^a ed., Boston: Blackwell Scientific Publications, p. 269-301, 1993.

KASPER, L. H. Identification of stage specific antigens of *Toxoplasma gondii*. **Infection and Immunity**, v. 57, p. 668-672, 1989.

KASPER, L.; COURRET, N.; DARCHE, S.; LUANGSAY, S.; MENNECHET, F.; MINNS, L.; RACHINEL, N.; RONET, C.; BUZONI-GATEL, D. *Toxoplasma gondii* and mucosal immunity. **International Journal Parasitology**, v. 34, n. 3, p. 401-409, 2004.

KATAOKA, T. R.; KOMAZAWA, N.; MORII, E.; OBOKI, K.; NAKANO, T. Involvement of connective tissue type mast cells in Th1 immune response via Stat4 expression. **Blood**, v. 105, n. 3, p. 1016- 1020, 2005.

KAWAKAMI, T. & GALLI, S. J. Regulation of mast-cell and basophil function and survival by IgE. **Nature Reviews. Immunology**, v. 2, n. 10, p. 773-786, 2002.

KERSTEN, M. J.; KLEIN, M. R.; HOLWERDA, A. M.; MIEDEMA, F.; VAN OERS, M. H. Epstein-Barr virus-specific cytotoxic T cell responses in HIV-1 infection: different kinetics in patients progressing to opportunistic infection or non-Hodgkin's lymphoma. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 99, n. 7, p. 1525-33, 1997.

KIMATA, I. & TANABE, K. Secretion by *Toxoplasma gondii* of an antigen that appears to become associated with the parasitophorous vacuole membrane upon invasion of the host cell. **Journal of Cell Science**, v. 88, p. 231-239, 1987.

KITAMURA, Y.; KANAKURA, Y.; FUJITA, J.; NAKANO, T. Differentiation and transdifferentiation of mast cells, a unique member of the hemapoietic cell family. **International Journal of Cell Cloning**, v. 3, n. 2, p. 108-121, 1987a.

KITAMURA, Y.; KANAKURA, Y.; SONODA, S.; ASAI, H.; NAKANO, T. Mutual phenotypic changes between connective tissue type and mucosal mast cells. **International Archives of Allergy and Applied Immunology**, v. 82, n. 3-4, p. 244-248, 1987b.

KITTAS, C. & HENRY, L. Effect of sex hormones on the response of mice to infection with *Toxoplasma gondii*. **British Journal of Experimental Pathology**, v. 61, p. 590-600, 1980.

KOEPEL, M. C.; ABITAN, R.; ANGELI, C.; LAFON, J.; PELLETIER, J.; SAYAG, J. Cutaneous and gastrointestinal mastocytosis associated with cerebral toxoplasmosis. **The British Journal of Dermatology**, v. 139, n. 5, p. 881-884, 1998.

KOPS, S. K.; THEOHARIDES, T. C.; CRONIN, C. T.; KASHGARIAN, M. G.; ASKENASE, P. W. Ultrastructural characteristics of rat peritoneal mast cells undergoing differential release of serotonin without histamine and without degranulation. **Cell and Tissue Research**, v. 262, p. 415-424, 1990.

KULKA, M. & METCALFE, D. D. High-resolution tracking of cell division demonstrates differential effects of Th1 and Th2 cytokines on SCF-dependent human mast cell production in vitro: correlation with apoptosis and Kit expression. **Blood**, v. 105, n. 2, p. 592-599, 2005.

LEE, K. J.; PARK, S. K.; IM, J. A.; KIM, S. K.; KIM, G. H.; KIM, G. Y.; YANG, E. J.; RYANG, Y. S. Susceptibility of several strains of mice to *Echinostoma hortense* infection. **Korean Journal Parasitology**, v. 42, n. 2, p. 51-56, 2004.

LEE, T. D. G.; SWIETER, M.; BEFUS, A. D. Mast cell responses to helminth infection. **Parasitology Today**, v. 2, n. 7, p. 186-191, 1986.

LIESENFELD, O.; KOSEK, J.; REMINGTON, J. S.; SUZUKI, Y. Association of CD4⁺ T cell-dependent, interferon-gamma-mediated necrosis of the small intestine with genetic susceptibility of mice to peroral infection with *Toxoplasma gondii*. **Journal Experimental Medicine**, v. 184, n. 2, p. 597-607, 1996.

LIN, T. J. & BEFUS, D. Mast cells and eosinophils in mucosal defenses and pathogenesis. In: OGRA, P.L.; MESTECKY, J.; LAMM, M. E.; STROBER, W.; BIENENSTOCK, J.; MCGHEE, J. R. **Mucosal Immunology**. 2^a ed. Academic Press San Diego, 1628p., 1999.

LUNDE, M. N. & JACOBS, L. Antigenic differences between endozoites and cystozoites of *Toxoplasma gondii*. **The Journal of Parasitology**, v. 69, n. 5, p. 806-808, 1983.

MacDONALD, T. T. & MONTELEONE, G. IL-12 and Th1 immune response in human Peyer's patches. **Trends in Immunology**, v. 22, p. 244-247, 2001.

MACEDO, M. S. Hipersensibilidade imediata. In: CALICH, V. L. & VAZ, C. A. C., **Imunologia Básica. Brasil, Artes Médicas**, p. 245-274, 1989.

MACHADO, C. R. S. Presença de serotonina em mastócitos de 3 espécies de marsupiais brasileiros. In: II Congresso Brasileiro de Biologia Celular e VII Colóquio Brasileiro de Microscopia Eletrônica, Rio de Janeiro, 1980. Resumos., Rio de Janeiro, 1980. p. 172-173.

MALAVIYA, R.; IKEDA, T.; ABRAHAM, S. N.; MALAVIYA, R. Contribution of mast cells to bacterial clearance and their proliferation during experimental cystitis induced by type 1 fimbriated *E. coli*. **Immunology Letters**, v. 91, p. 103-111, 2004.

MARONE, G.; FLORIO, G.; PETRAROLI, A.; TRIGGIANI, M.; PAULIS, A. Human mast cells and basophils in HIV-1 infection. **Trends in Immunology**, v. 22, p. 229-232, 2001.

MARONE, G.; TRIGGIANI, M.; PAULIS, A. Mast cells and basophils: friends as well as foes in bronchial asthma. **Trends in Immunology**, v. 26, n. 1, p. 25-31, 2005.

MARUYAMA, H.; OSADA, Y.; YOSHIDA, A.; FUTAKUCHI, M.; KAWAGUCHI, H.; ZHANG, R.; FU, J.; SHIRAI, T.; KOJIAM, S.; OHTA, N. Protective mechanisms against the intestinal nematode *Strongyloides venezuelensis* in *Schistosoma japonicum*-infected mice. **Parasite Immunology**, v. 22, n. 6, p. 279-286, 2000.

MAYR, S. I.; ZUBERI, R. I.; LIU, F. T. Role of immunoglobulin E and mast cells in murine models of asthma. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 36, p. 821-827, 2003.

McDERMOTT, J. R.; BARTRAM, R. E.; KNIGHT, P. A.; MILLER, H. R. P.; GARROD, D. R.; GRENCIS, R. K. Mast cells disrupt epithelial barrier function during enteric nematode infection. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 100, n. 13, p. 7761-7766, 2003.

McGUINNESS, D. H.; DEHAL, P. K.; PLEASS, R. J. Pattern recognition molecules and innate immunity to parasites. **Trends in Parasitology**, v. 19, n. 7, p. 312-317, 2003.

MILLER, H. R. P. The structure, origins and function of mucosal mast cells. **Biologie Cellulaire**, v. 39, p. 229-232, 1980.

MINEO, J. R. & KASPER, L. H. Attachment of *Toxoplasma gondii* to host cells involves major surface protein SAG-1 (P 30). **Experimental Parasitology**, v. 79, n. 1, p. 11-20, 1994.

MINEO, J. R.; CAMARGO, M. E.; FERREIRA, A. W. Enzyme-linked immunosorbent assay for antibodies to *Toxoplasma gondii* polysaccharides in human toxoplasmosis. **Infection and Immunity**, v. 27, n. 2, p. 283-287, 1980.

MIO, M. & TASAKA, K. Microfilament-associated, local degranulation of rat peritoneal mast cells. **International Archives of Allergy and Applied Immunology**, v. 88, p. 369-371, 1989.

MIYAZAKI, D.; NAKAMURA, T.; TODA, M.; CHEUNG-CHAU, K. W.; RICHARDSON, R. M.; ONO, S. J. Macrophage inflammatory protein-1 α as a costimulatory signal for mast cell-mediated immediate hypersensitivity reactions. **The Journal of Clinical Investigation**, Published online on January, 2005.

MONTOYA, J. G. & LIESENFELD, O. Toxoplasmosis. **Lancet**, v. 363, n. 9425, p. 1965-1976, 2004.

MOON, P.D.; CHOI, I. Y.; NA, H. J.; JEONG, H. J.; KIM, C. H.; KIM, H. R.; KIM, Y. K.; PARK, S. K.; HONG, S. H.; KIM, H. M. *Rubus croceacanthus* Leveille inhibits mast cells-mediated anaphylactic-like reaction and tumor necrosis factor- α secretion. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 27, n. 9, p. 1359-1363, 2004.

MOSMANN, T. R.; BOND, M. W.; COFFMAN, R. L.; OHARA, J.; PAUL, W. E. T. Cell and mast cell lines respond to B-cell stimulatory factor 1. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 83, n. 15, p. 5654-5659, 1986.

MUN, H. S.; AOSAI, F.; NOROSE, K.; CHEN, M.; PIAO, L. X.; TAKEUCHI, O.; AKIRA, S.; ISHIKURA, H.; YANO, A. TLR-2 as an essential molecule for protective immunity against *Toxoplasma gondii* infection. **International Immunology**, v. 15, n. 9, p. 1081-1087, 2003.

NABELL, G.; GALLI, S. J.; DVORACK, H. F.; CANTOR, H. Inducer T lymphocytes synthesize a factor that stimulates proliferation of cloned mast cells. **Nature**, v. 291, p. 332-334, 1981.

NAWA, Y.; HORII, Y.; OKADA, M.; ARIZONO, N. Histochemical and cytological characterizations of mucosal and connective tissue mast cells of Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*). **International Archives of Allergy and Immunology**, v. 104, n. 3, p. 249-254, 1994.

NEEL, N. F.; CREASY, B. M.; RANKIN, J. N.; PIERCE, E. M.; McCOY, M. E.; DANER, R. H.; FOWLER, J. A.; DANIEL, J. C.; LANTZ, C. S. Absence of interleukin-3 does not affect the severity of local and systemic anaphylaxis but does enhance eosinophil infiltration in a mouse model of allergic peritonitis. **Immunology Letters**, v. 95, p. 37-44, 2004.

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.

NICOLLE, C. & MANCEUX, L. Sur une infection a corps Leishman (ou organismes voifins) di gondi. **Comptes Rendus de l'Academie des Sciences.**, v. 147, p. 763-766, 1908.

OLIVEIRA-LIMA, J. G.; MINEO, J. R.; SANTOS, A. A. D.; FERREIRA, G. L. S.; FERRO, E. A. V.; OLIVEIRA, C. A. Improved methods for examination of *Toxoplasma gondii* cytoskeleton at ultrastructural level. **Parasitology Research**, v. 87, p. 287-293, 2001.

ONAH, D. N.; UCHIYAMA, F.; NAGAKUI, Y.; ONO, M.; TAKAI, T.; NAWA, Y. Mucosal defense against gastrointestinal nematodes: responses of mucosal mast cells and mouse mast cell protease I during primary *Strongyloides venezuelensis* infection in FcγR-Knockout mice. **Infection and Immunity**, v. 68, n. 9, p. 4968-4971, 2000.

PEARCE, F. L. On the heterogeneity of mast cells. **Pharmacology**, v. 32, p. 61-71, 1986.

PFEFFERKORN, E. R. Cell Biology of *Toxoplasma gondii*. **Trends in Cell Biology**, v. 5, n. 3, p. 129-132, 1990.

PFEFFERKORN, E. R.; ECKEL, M.; REBHUN, S. Interferon-gama supresses the growth of *Toxoplasma gondii* in humam fibroblasts through starvation for tryptophan. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 20, p. 215-222, 1986.

PORTELA, R. W.; BETHONY, J.; COSTA, M. I.; GAZZINELLI, A.; VITOR, R. W.; HERMETO, F. M.; CORREA-OLIVEIRA, R.; GAZZINELLI, R. T. A multihousehold study reveals a positive correlation between age, severity of ocular toxoplasmosis, and levels of glycoinositolphospholipid-specific immunoglobulin A. **The Journal of Infectious Disease**, v. 190, n. 1, p. 175-183, 2004.

POZIO, E. & MORALES, M. A. G. The impact of HIV-protease inhibitors on opportunistic parasites. **Trends in Parasitology**, v. 21, n. 2, p. 58-63, 2005.

PYKALAINEN, M.; KINOS, R.; VALKONEN, S.; RYDMAN, P.; KILPELAINEN, M.; LAITINEN, L. A.; KARJALAINEN, J.; NIEMINEN, M.; HURME, M.; KERE, J.; LAITINEN, T.; LAHESMAA, R. Association analysis of common variants of STAT6, GATA3, and STAT4 to asthma and high serum IgE phenotypes. **The Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 115, n. 1p. 80-7, 2005.

REYNOLDS, E. S. The use of lead citrate through high pH as an electro-opaque stain in electron microscopy. **The Journal of Cell Biology**, v. 69, p. 269-282, 1963.

SAMPSON, H. A. Food allergy: when mucosal immunity goes wrong. **The Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 115, n. 1, p. 139-141, 2005.

SANTOS, A. A. D. & MACHADO, C. R. S. Histochemical and ultrastructural studies of mast cells in the intestinal mucosa and skin of the opossum *Didelphis albiventris*. **The Histochemical Journal**, v. 26, p. 233-238, 1994.

SANTOS, A. A. D. **Mastócitos da orelha, do íleo e de linfonodos abdominais do gambá *Didelphis albiventris* (Didelphidea, Marsupialia)**. Belo Horizonte: Instituto de Ciências Biológicas da UFMG, 1996. 172 p. Dissertação (Doutorado em Morfologia) – Curso de Pós-graduação da Universidade Federal de Minas Gerais, 1996.

SANTOS, A. A. D.; CHIARINI-GARCIA H.; MACHADO, C. R. S. Development of different mast cell types in the opossum *Didelphis albiventris*. **Anatomy and Embryology**, v. 206, p. 239-245, 2003.

SHER, A.; OSWALD, I. P.; HIENY, S.; GAZZINELLI, R. T. *Toxoplasma gondii* induces a T-independent IFN-gamma response in natural killer cells that requires both adherent accessory cells and tumor necrosis factor-alpha. **Journal of Immunology**, v. 150, n. 9, p. 3982-3989, 1993.

SILVA, A. V.; PEZERICO, S. B.; LIMA, V. Y.; D'ARC MORETTI, L.; PINHEIRO, J. P.; TANAKA, E. M.; RIBEIRO, M. G.; LANGONI, H. Genotyping of *Toxoplasma gondii* strains isolated from dogs with neurological signs. **Veterinary Parasitology**, v. 127, n. 1, p. 23-27, 2005.

SILVA, N. M.; RODRIGUES, C. V.; SANTORO, M. M.; REIS, L. F. L.; ALVAREZ-LEITE, J. I.; GAZZINELLI, R. T. Expression of indoleamine 2,3-dioxygenase, tryptofan degradation, and kynurenine formation during in vivo infection with *Toxoplasma gondii*: induction by endogenous gamma interferon and requirement of interferon regulatory factor 1. **Infection and Immunity**, v. 70, n. 2, p. 859-868, 2002.

SMITH, G. A. & RENNICK, D. M. Characterization of a murine lymphokine distinct from interleukin 2 (IL-2) and interleukin 3 (IL-3) possessing a T cell growth factor activity and a mast cell growth factor activity that synergizes with IL-3. **Immunology**, v. 83, p. 1857-1861, 1986.

SOETE, M.; CAMUS, D.; DUBREMETZ, J. F. Experimental induction of bradyzoite-specific antigen expression and cyst formation by the RH strain of *Toxoplasma gondii* in vitro. **Experimental Parasitology**, v. 78, p. 361-370, 1994.

SPLENDORE, A. Un nuovo protozoa parassita dei conigli. Incontrato nelle lesioni Anatomiche d'una malattia che Ricorda in molti punti il Kala dell'uomo. Ver. Soc. Sci. (São Paulo), v. 3, p. 109-112, 1908. In: **Biology**, v. 79, p. 237-248, 1973.

STEVENS, M. & AUSTEN, K. F. Recent advances in the cellular and molecular biology of mast cell. **Immunology Today**, v. 10, p. 381-386, 1989.

SUMYEN, M. H.; GARIN, Y. J. F.; DEROUIN, F. Early kinetics of *Toxoplasma gondii* infection in mice infected orally with cysts of an avirulent strain. **The Journal of Parasitology**, v. 81, n. 2, p. 325-327, 1995.

SUZUKI, Y.; CLAFLIN, J.; WANG, X.; LENGI, A.; KIKUCHI, T. Microglia and macrophages as innate producers of interferon-gamma in the brain following with *Toxoplasma gondii*. **International Journal Parasitology**, v. 35, p. 83-90, 2005.

TAINSH, K. R. & PEARCE, F. L. Mast cell heterogeneity: evidence that mast cells isolated from various connective tissue locations in the rat display markedly graded phenotypes. **International Archives of Allergy and Immunology**, v. 98, p. 26-34, 1992.

TAKEOKA, O.; HIDAKA, T.; IKEDA, N.; ASHIHARA, T. Granule formation in rat mast cell; study with serial ultrathin section. **Acta Pathologica Japonica.**, v. 30, n. A, p. 531-539, 1980.

TODA, M.; DAWSON, M.; NAKAMURA, T.; MUNRO, P. M. G.; RICHARDSON, R. M.; BAILLY, M. ONO, S. J. Impact of engagement of FcεRII and CC chemokine receptor 1 on mast cell activation and motility. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 279, n. 46, p. 48443-48448, 2004.

TORIGOE, C.; SONG, J.; BARISAS, B. G.; METZGER, H. The influence of actin microfilaments on signaling by the recognition with high-affinity for IgE. **Molecular Immunology**, v. 41, n. 8, p. 817-829, 2004.

TURCK, J.; OBERDORFER, C.; VOGEL, T.; MACKENZIE, C. R.; DAUBENER, W. Enhancement of antimicrobial effects by glucocorticoids. **Medical Microbiology and Immunology**, v. 194, n. 1-2, p. 47-53, 2005.

VINCENT-SCHNEIDER, H.; THERY, C.; MAZZEO, D.; TENZA, D.; RAPOSO, G.; BONNEROT, C. Secretory granules of mast cells accumulate mature and immature MHC class II molecules. **Journal of Cell Science**, v. 114, p. 323-334, 2001.

WALKER, W.; ROBERTS, G. W.; FERGUSON, D. J. P.; JEBBARI, H.; ALEXANDER, J. Innate immunity to *Toxoplasma gondii* is influenced by gender and is associated with differences in IL-12 and IFN- γ production. **Infection and Immunity**, v. 65, n. 3, p. 1119-1121, 1997.

WARE, P. L. & KASPER, L. H. Strain-specific antigens to *Toxoplasma gondii*. **Infection and Immunity**, v. 55, p. 778-783, 1987.

WATSON, M. L. Staining of tissue section for electron microscopy with heavy metals. **The Journal of Biophysical and Biochemical Cytology**, v. 4, p. 575, 1958.

WERK, R. Biology of *Toxoplasma gondii* host cell entry: The role of recognition and attachment for invasion of host cells. In: JAMIS, W. **Intracellular Parasitism**, p. 259-269, 1989.

WONG, S. Y. & REMINGTON, J. S. Biology of *Toxoplasma gondii*. **AIDS**, v. 7, p. 299-316, 1993.

WONG, W. W.; YANG, Y. Y.; YASUDA, S.; LI, L.; STEVENS, R. L. Mouse mast cells express the tryptic protease neuropsin/Prss19. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 303, p. 320-325, 2003.

WOODISON, G. & SMITH, J. E. Identification of the dominant cyst antigens of *Toxoplasma gondii*. **Infection and Immunity**, v. 100, p. 389-392, 1990.

YACOB, H. T.; DURANTON-GRISEZ, C.; PREVOT, F.; BERGEAUD, J. P.; BLEUART, C.; JACQUIET, P.; DORCHIES, P.; HOSTE, H. Experimental concurrent infection of sheep with *Oestrus ovis* and *Trichostrongylus colubriformis*: negative interactions between parasite populations and related changes in the cellular responses of nasal and digestive mucosae. **Veterinary Parasitology**, v. 104, n. 4, p. 307-317, 2002.