



## **ANÁLISE QUANTITATIVA DE CÉLULAS GLIAIS IMUNORREATIVAS A PROTEÍNA FIBRILAR ÁCIDA GLIAL (GFAP) DO PLEXO MIOENTÉRICO DO JEJUNO DE RATOS ARTRÍTICOS.**

Leonora Alves Lacerda (PIC/UEM), Loraine Andressa Partyka, Francielle Veiga Ramalho, Bruna Thais da Silva, Ma. Mariana Machado, profa. Dra. Jacqueline Nelisis Zanoni, profa. Dra. Juliana Vanessa C. M. Perles (Orientador), e-mail: [jjvcm77@gmail.com](mailto:jjvcm77@gmail.com)  
Universidade Estadual de Maringá/ Centro de Ciências da Saúde/  
Maringá/PR

**Área e subárea:** Morfologia – Histologia

**Palavras-chave:** Glia entérica, GFAP, Artrite Reumatoide.

### **Resumo:**

A artrite reumatoide (AR) é uma doença autoimune que atinge as articulações diminuindo seu funcionamento pela inflamação persistente. A inflamação causa o remodelamento do Sistema Nervoso Entérico (SNE). Quando há inflamação local a glia entérica sinaliza a morte neuronal pelo aumento da expressão de proteína ácida fibrilar glial (GFAP). O objetivo desse trabalho foi avaliar se o processo inflamatório sistêmico deflagrado pela artrite reumatoide causa alterações nas células gliais imunorreativas a GFAP no jejuno. Foram tratados 14 ratos por 28 dias, divididos em: Controle (C) e Artrite Induzida por Adjuvante (AIA). O jejuno foi coletado para realização da imunohistoquímica para GFAP. As imagens foram analisadas através do programa Image Pro Plus 4 e Statistica 8.0. Os resultados obtidos não demonstraram alterações significativas no número de células gliais no grupo artrítico (AIA) em relação ao grupo controle (C).

### **Introdução**

Frequentemente pacientes artríticos apresentam quadros inflamatórios intestinais. Acredita-se que a dispersão de mediadores pró – inflamatório seja a responsável pelo acometimento do sistema gastrointestinal (NISSINEN, 2004).

A glia entérica é um importante componente do SNE, pois realiza o suporte nutricional dos neurônios entéricos (MENDES, E. C, 2013). A





Proteína Fibrilar Ácida Glial (GFAP) é um filamento presente na superfície da glia. Ele atua como marcador glial, pois tem sua expressão aumentada pela proliferação das células gliais e pela inflamação (MENDES, E. C, 2013).

Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar de que forma o quadro inflamatório sistêmico deflagrado pela Artrite Reumatoide afeta as células gliais entéricas, por meio da análise quantitativa das células gliais imunomarcadas pela Proteína Fibrilar Ácida Glial (GFAP).

### **Materiais e métodos**

Os animais foram obtidos no Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá e tratados no Biotério Setorial do Laboratório de Farmacologia da Inflamação. Foram utilizados 14 animais adultos machos, divididos em: Controle (C) e Artrite Induzida por Adjuvante (AIA). A indução da artrite reumatoide foi realizada pela administração intradérmica do adjuvante completo de Freund (ACF). Todos os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Estadual de Maringá. No dia do sacrifício, os animais foram anestesiados para a coleta do jejuno. Os segmentos foram fixados em Zamboni, desidratados em série ascendente de álcoois e diafanizados em xilol. As membranas foram microdissecadas e imunomarcadas para GFAP/DAPI. As imagens foram obtidas com microscópio de imunofluorescência em objetiva de 20X. A quantificação foi realizada através do programa de análises de imagens Image Pro Plus 4. Os dados foram analisados usando o software Prism 5.0, e expressos como a média  $\pm$  erro padrão. Para análise quantitativa foi utilizado o teste t-student. Valores de  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significativos.

### **Resultados e Discussão**

As células GFAP-IR apresentaram um halo perinuclear e filamento, denominados por THACKER e colaboradores (2011) de processo glial e a colocalização com DAPI auxiliou na quantificação das células (Figura 2). A Morfologia de células gliais imunorreativas à GFAP, podem indicar alterações neuronais, estudo realizado com isquemia e reperfusão no colo de camundongos, demonstrou que o número de neurônios imunorreativos à HuC, em gânglio por área, foram significativamente menores em gânglios que continham glia (GFAP-IR) distorcida, quando comparados com gânglios de aparência normal (THACKER, 2011).

Após a imunomarcagem para GFAP, com marcação nuclear por DAPI, não foi possível detectar alterações estatisticamente significativas para o





grupo artrítico em relação ao controle (figura 1), apesar de a literatura trazer que há uma relação entre as doenças reumatóides e gastrointestinais, pois comumente, pacientes artríticos apresentam quadros inflamatórios intestinais (NISSINEN, R., 2004).

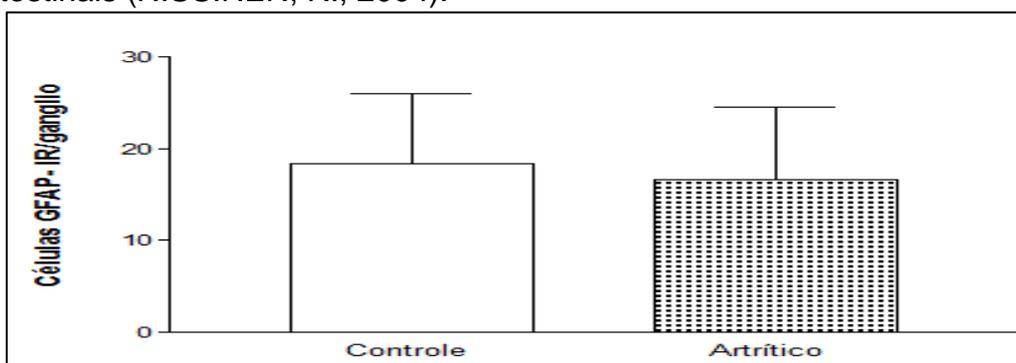


Figura 1: O gráfico de barras expressa as médias e o erro padrão, de células gliais por gânglio do jejunum de ratos do grupo controle (C) e grupo artrite induzida por adjuvante (AIA).

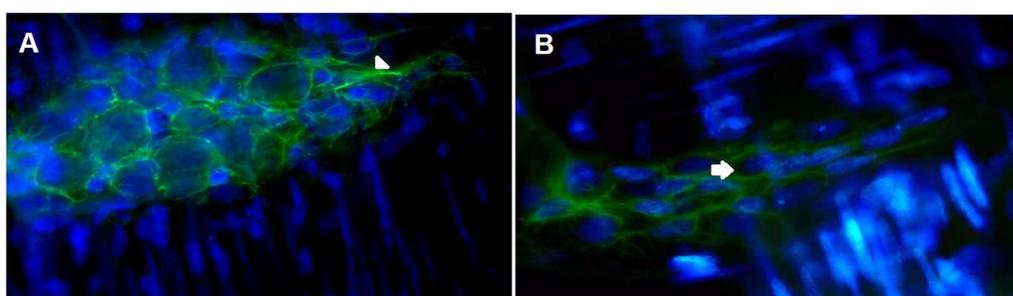


Figura 02: Fotomicrografia de técnica de imunofluorescência mostrando células gliais imunorreativas à GFAP (em verde) com um alo perinuclear (seta cheia) e projeção de filamentos (pontas de setas) e núcleos DAPI (em azul) do plexo mioentérico do jejunum de ratos: controle (A) e artrítico induzido com adjuvante (B)

Entretanto, nosso estudo vai de encontro com um estudo realizado com imunomarcção para miosina V em neurônios entéricos, onde não foram observadas diminuição populacional ou alterações morfométricas neuronais no modelo de artrite induzida por adjuvante. Neste, os autores concluíram que o quadro inflamatório gerado pela artrite reumatoide não foi capaz de alterar os neurônios entéricos (SOUZA, I. D. S., 2011).

Em nosso trabalho, esperávamos que ocorresse depleção da glia entérica imunorreativa à GFAP frente ao quadro inflamatório desencadeado pela Artrite Reumatoide. Porém, os resultados não demonstraram diminuição





populacional significativa do grupo artrítico em relação ao grupo controle, provavelmente devido ao tempo de protocolo experimental. Nos estudos clínicos, as manifestações gastrointestinais aparecem após anos do diagnóstico de Artrite Reumatoide (HASHIMOTO, et al, 1997).

### Conclusões

Não foram observadas alterações significativas estruturais da morfologia nem quantitativas nas células gliais imunorreativas a GFAP no plexo mioentérico do jejuno de ratos artríticos tratados por um período de 14 dias.

### Agradecimentos

CNPQ.

### Referências

HASHIMOTO, M.; SHINGU, M.; YOSHIKAWA, Y. et al. Amyloidosis of the small intestine secondary to rheumatoid arthritis or juvenile rheumatoid arthritis: report of two cases. **Japanese Journal of Rheumatology**. n. 2, v. 7, p. 123-133, 1997.

MENDES, E. C. Estudo das células gliais entéricas imureativas aos receptores P2X<sub>2</sub> e P2X<sub>7</sub> do íleo de ratos submetidos a isquemia e reperfusão intestinal. **Dissertação, Programa de Pós-Graduação de Ciências Morfofuncionais, Universidade de São Paulo**. São Paulo; 2013.

NISSINEN, R.; LEIRISALO-REPO, M.; NIEMINEN, A. M.; et al. Immune activation in the small intestine in patients with rheumatoid arthritis. **Annals of the Rheumatic Diseases**, n. 10, v.63, p.1327 -1330, 2004.

SOUZA, I.D.S. Analysis of myosin-v immunoreactive myenteric neurons from arthritic rats. **Archives of Gastroenterology**, n. 03, v. 48, 2011.

THACKER, M; RIVERA, L. R; CHO, H. J. & FURNESS, J. B. The relationship between glial distortion and neuronal changes following intestinal ischemia and reperfusion. **Neurogastroenterology and Motility**, v. 23, p. 500- 509, 2011.

