

ARTRITE INDUZIDA POR ADJUVANTE COMPLETO DE FREUND: INFLUÊNCIA DO ENVELHECIMENTO NO DESENVOLVIMENTO DO PROCESSO INFLAMATÓRIO

Arisa Onishi (PIBIC/CNPq-FA-UEM), Andriele Cansi (Pós-graduanda),
Profª Drª Ciomar Ap. Bersani-Amado (Co-orientadora) Profª Drª Silvana
Martins Caparroz-Assef (Orientadora), e-mail: smcassef@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas e da
Saúde/Maringá, PR.

Ciências Biológicas/Farmacologia

Palavras-chave: envelhecimento, artrite experimental, inflamação.

Resumo:

A Artrite Reumatoide (AR) é uma imunopatologia que acomete 0,5-1% da população mundial, sobretudo nas faixas etárias entre 45-60 anos (RIISE, 2000), comprometendo as articulações, com intenso processo inflamatório e envolvimento de muitos mediadores e células inflamatórias que, em conjunto, resultam em destruição articular e óssea, além de manifestações extra-articulares. Durante o envelhecimento ocorre declínio gradual dos processos celulares, culminando com perda da homeostase tecidual. Outras alterações como o remodelamento/reestruturação do sistema imunológico também estão associadas ao envelhecimento, resultando em comprometimento da resposta imune a novos estímulos. Historicamente, modelos experimentais têm colaborado para a elucidação das teorias envolvidas na patogênese da AR, e dentre esses a Artrite Induzida por Adjuvante Completo de Freund (AIA). A AIA é bem caracterizada em animais jovens, no entanto, até o momento não foram encontrados estudos que investigaram a influência do envelhecimento no desenvolvimento da resposta inflamatória crônica utilizando a AIA, um aspecto importante visto que a incidência da AR em humanos, aumenta significativamente com a idade. Este trabalho investigou a influência do envelhecimento no desenvolvimento da resposta inflamatória da AIA utilizando animais de meia idade, semelhantes a faixa etária mais acometida pela AR. Os resultados mostraram que o envelhecimento promove importantes modificações, evidenciando uma resposta inflamatória precoce e mais intensa, com significativo comprometimento imunológico.

Introdução

A Artrite reumatoide (AR) é uma doença crônica, autoimune e potencialmente debilitante, que afeta principalmente as articulações, resultando em hiperplasia sinovial, destruição progressiva da cartilagem

articular e degradação óssea. Além do comprometimento local, com a progressão da doença, outros sistemas como o cardiovascular, pulmonar e esquelético também podem ser afetados. A AR é resultado de intenso processo inflamatório mediado por diferentes mediadores celulares atuando em conjunto, entretanto, a ativação do sistema imune inato é provavelmente o evento mais precoce da patogênese da AR, através do qual, linfócitos T e B e macrófagos, atuam conjuntamente na produção/liberação de citocinas pró-inflamatórias como TNF_{α} , IL_1 e IL_6 entre outras (McINNIS, 2011). Durante o processo de envelhecimento, o sistema imune tem suas funções comprometidas, resultando em diminuição da resposta imune celular e humoral; tal declínio denomina-se imunossenescência e relaciona-se com comprometimento da capacidade de produção, maturação e função dos linfócitos T e B (CANCRO, 2009). A imunossenescência também é caracterizada por contribuir com o desenvolvimento de doenças autoimunes, incluindo a AR (GORONZY, 2013).

A Artrite Induzida por Adjuvante (AIA) é um modelo experimental com características muito semelhantes à AR, sendo o mesmo bem caracterizado em animais jovens. No entanto, até o momento não foram encontrados trabalhos utilizando este modelo em animais de meia idade. A compreensão da influência do envelhecimento no desenvolvimento de doenças crônicas, além de esclarecer os mecanismos envolvidos, possibilitará a investigação de terapias específicas. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a influência do envelhecimento e as modificações induzidas pelo mesmo no modelo experimental de AIA.

Materiais e métodos

Foram utilizados ratos da linhagem Holtzman com 2 meses de idade (jovens, 180 -220g), e com 12 meses de idade (meia idade, 500-600g). Os animais receberam injeção subcutânea na pata posterior esquerda de 100 μ L de Adjuvante Completo de Freund (ACF) - *Mycobacterium tuberculosis* inativadas pelo calor, suspensas em óleo mineral na concentração de 0,5%. O edema de pata foi avaliado por pletismografia nos dias 7, 14, 21 e 28 após indução. Nestes períodos também foram avaliados o desenvolvimento de lesões secundárias através do sistema de graduação numérica de acordo com Rosenthale (1970), assim como a evolução ponderal. Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média (EPM). Foram submetidos à análise de variância (ANOVA) seguido pelo teste de Dunnett. $P < 0.05$ foi considerado como nível de significância.

Resultados e Discussão

A Figura 1 representa o aumento no volume da pata injetada (A) e não injetada (B) dos animais normais jovens (N_j), normais de meia idade (N_{mi}), artríticos jovens (AIA_j) e artríticos de meia idade (AIA_{mi}). Nos grupos N_j e N_{mi} não foram observados aumentos significativos nos volumes das patas. Em ambos os grupos AIA_j e AIA_{mi} ocorreu aumento do volume da pata injetada

nas primeiras 24h após indução. No entanto, no grupo AIA_{mi} o aumento foi significativamente maior quando comparado ao grupo AIA_j, progredindo rapidamente e atingindo precocemente uma resposta máxima no 3º dia após a indução da AIA. Em relação à pata contralateral (não injetada), na resposta dos animais artríticos, tanto AIA_j como AIA_{mi}, houve um aumento significativo do edema a partir do 9º dia, progredindo até o 28º dia. Entretanto o aumento observado no grupo AIA_{mi} foi significativamente menor quando comparado aos animais AIA_j, caracterizando uma resposta inversa à observada na pata injetada.

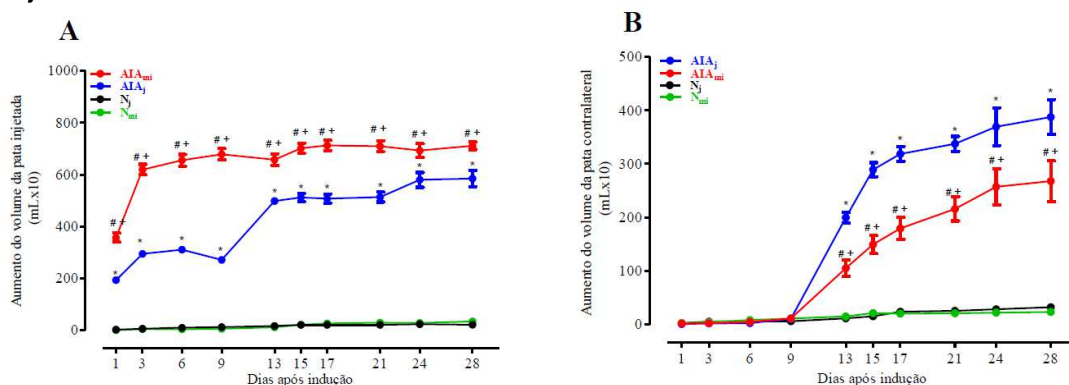


Figura 1. Evolução da AIA em animais de jovens (AIA_j) e de meia idade (AIA_{mi}) na pata injetada (A) e não injetada (B). Cada ponto representa a média ± EPM de 6 - 7 animais. *P<0.05 comparado ao grupo normal jovem (N_j). # P<0.05 comparado ao grupo normal meia idade (N_{mi}). **P<0.05 comparado ao grupo artrítico jovem (AIA_j).

As lesões secundárias são nódulos granulomatosos formados nos linfonodos, as quais não foram observadas no grupo de animais normais (N_j e N_{mi}). O aparecimento das lesões no grupo AIA_j teve início no 10º dia, com um aumento progressivo, atingindo score máximo (5 pontos) no 13º dia. Nos animais AIA_{mi} o início das lesões ocorreu no 12º dia, evoluindo de forma lenta e menos intensa, não atingindo o score máximo durante o período avaliado (Tabela 1). Tal resultado também evidencia um comprometimento da resposta imune no grupo AIA_{mi}.

Tabela 1 - Lesões secundárias em animais de jovens (AIA_j) e de meia idade (AIA_{mi})

| Grupos | Dias após a indução | | | | | | | | | | | | | |
|-------------------|---------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 24 | 28 |
| Normal | 0(0-0) | 0(0-0) | 0(0-0) | 0(0-0) | 0(0-0) | 0(0-0) | 0(0-0) | 0(0-0) | 0(0-0) | 0(0-0) | 0(0-0) | 0(0-0) | 0(0-0) | 0(0-0) |
| AIA _j | 1(0-3) | 2(0-5) | 4(1-5) | 5(2-5) | 5(2-5) | 5(3-5) | 5(3-5) | 5(4-5) | 5(4-5) | 5(4-5) | 5(4-5) | 5(4-5) | 5(4-5) | 5(4-5) |
| AIA _{mi} | 0(0-2) | 0(0-2) | 1(0-3) | 2(0-5) | 2(0-5) | 3(0-5) | 3(1-5) | 4(2-5) | 4(3-5) | 4(3-5) | 4(3-5) | 4(3-5) | 4(3-5) | 4(3-5) |

Com relação à evolução ponderal, foi observada uma perda precoce e contínua de peso no grupo AIA_{mi}, sendo significativo a partir do 3º dia após a indução da AIA. No grupo AIA_j, essa redução foi significativa apenas a partir do 13º dia (Figura 2). Com o objetivo de avaliar se a perda de peso observada estava associada com o consumo de ração, a ingesta dos animais normais e artríticos foi acompanhada diariamente por 28 dias. Foi possível observar que a perda precoce de peso dos animais AIA_{mi} não está

associada à redução no consumo de ração visto que, no geral, não houve diferença significativa no consumo entre os dois grupos experimentais (Nj-

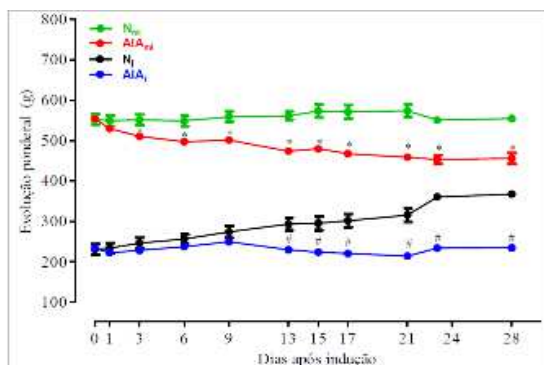


Figura 2 - Evolução do peso corporal nos animais normais (N_j e N_{mi}) e artríticos (AI_{Aj} e AI_{Ami}).

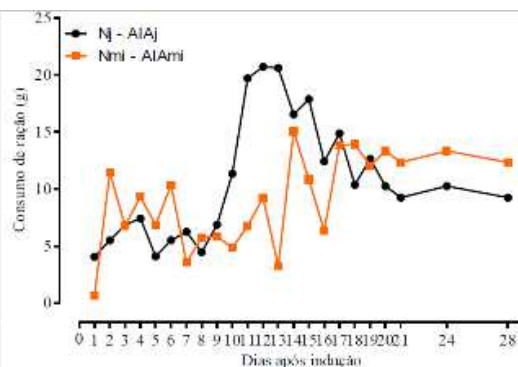


Figura 3 - Diferença no Consumo diário de ração dos animais N_j-AI_{Aj} em comparação com N_{mi}-AI_{Ami}.

Conclusões

No conjunto, nossos resultados mostraram que o envelhecimento promove importantes modificações no desenvolvimento da resposta inflamatória na AIA, tornando-a precoce e mais intensa, com significativo comprometimento imunológico. Provavelmente estas alterações possam estar relacionadas a modificações no padrão de produção/liberação de mediadores inflamatórios, sendo necessária a continuidade das investigações para melhor compreensão das alterações associadas a esses processos e os mecanismos envolvidos.

Agradecimentos

Ao CNPq-FA-UEM pela oportunidade de aprendizado na prática da ciência.

Referências

- Cancro, M.P., et al. (2009), B cells and aging: molecules and mechanisms. **Trends Immunology**, vol. 30, n. 7, p.313–8.
- Goronzy, J.J., et al. (2013), The janus head of T cell aging - autoimmunity and immunodeficiency. **Frontiers in Immunology**, vol.4, p. 131.
- McInnes, I. B. and Schett, G. (2011), The pathogenesis of rheumatoid arthritis. **New England Journal of Medicine**, vol. 365, p. 2205-19.
- Riise, T., Jacobsen, B.K., Gran, J.T. (2000), Incidence and prevalence of rheumatoid arthritis in the country of Tromso, northern Norway. **The Journal of Rheumatology**, vol. 27, n. 6, p. 1386-9.
- Rosenthale ME. A comparative study of the Lewis and Sprague Dawley rat in adjuvant arthritis. **Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Therapie** 1970, 188(1): 14-22