

RATOS INDUZIDOS À ARTRITE EXPERIMENTAL SOB ADMINISTRAÇÃO COM QUERCETINA MICROENCAPSULADA: AVALIAÇÃO DAS CÉLULAS GLIAIS.

José Augusto de Oliveira Dias (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Jacqueline Nelisis Zandoni (Co-orientadora), Marcílio Hubner de Miranda Neto (Orientador)
e-mail: jnzandoni@uem.br

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

Morfologia - Histologia

Palavras-chave: sistema nervoso entérico, radicais livres, antioxidante.

Resumo:

O objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito antioxidante da administração com quercetina microencapsulada sob o aspecto quantitativo da população geral de células gliais entéricas de animais artríticos induzidos experimentalmente à artrite. Trinta ratos machos foram usados neste experimento. Foram submetidos a indução da artrite por Coadjuvante de Freud os animais dos grupos AIA, AI e AQ. Os animais controle (C e CQ) foram submetidos ao mesmo procedimento, com óleo mineral. Os animais dos grupos quercetina (CQ e AQ) foram administrados com quercetina microencapsulada por meio de gavagem na concentração de 10 mg/Kg diariamente. Os animais tratados com ibuprofeno (AI), a dose administrada foi de 17,5 mg/Kg, por gavagem, diariamente. Para o cálculo individual da dose, os animais foram pesados e a dose calculada a cada dois dias. Ao final de 60 dias de tratamento os animais foram mortos e os íleo foram coletados e submetidos a imunohistoquímica para a proteína S100 no plexo mioentérico. A artrite reduziu o número de células gliais entericas S100-IR mioentérico em 15,9% no grupo AIA em comparação com o grupo C ($p < 0,05$). No grupo AQ impediu a diminuição da densidade de células gliais entéricas em 17,9% em comparação com AIA ($p > 0,05$). Podemos concluir que em animais AQ teve uma tendência a proteção antioxidante, em decorrência do aumento das células gliais entéricas imunomarcadas no grupo CQ. Entretanto o número de amostras deverão ser ampliadas para realização da quantificação das células gliais e comprovar este resultado em nível estatístico.

Introdução

A disfunção do Sistema Nervoso Entérico na artrite está diretamente relacionada aos efeitos dos radicais livres que estão aumentados por meio de diversas vias, durante a sinovite as células inflamatórias presentes atuam

aumentando a produção de prostaglandinas, citocinas e há intensa formação de espécies reativas de oxigênio e radicais livres, induzindo ao desenvolvimento de estresse oxidativo, que rapidamente aumenta o processo inflamatório, causando destruição articular, dor intensa e edema (FILIPPIN et al., 2008). Os antioxidantes são substâncias capazes de prevenir os efeitos deletérios da oxidação, inibindo o início da lipoperoxidação, sequestrando radicais livres e/ou quelando íons metálicos. Eles protegem organismos aeróbicos do estresse oxidativo, definido como elevação na formação de espécies reativas de oxigênio (RODRIGUES et al., 2003). A quercetina é a principal representante da subclasse flavonol da família dos flavonoides, distribuída universalmente em várias plantas comestíveis e um dos mais potentes antioxidantes de origem vegetal (JAIN et al., 2014). Dessa forma o objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito antioxidante da administração com quercetina microencapsulada sobre a inervação entérica sob o aspecto quantitativo de células gliais entéricas.

Materiais e métodos

Foi utilizado neste estudo o íleo de ratos adultos machos, da linhagem Holtzmann (*Rattus norvegicus*), variedade *albinus*, provenientes do Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá. (parecer CEUA nº 4462180216). Aos 50 dias de idade, os animais foram transferidos para o Biotério Setorial do Departamento de Farmacologia e Terapêutica, onde permaneceram alojados em caixas de polipropileno com dimensões 40 x 33 x 17 cm (comprimento, largura e altura) providas de bebedouro e comedouro, e foram mantidos em condições ambientais controladas de temperatura ($22^{\circ} \pm 2^{\circ}C$), iluminação (ciclo 12 h claro/12 h escuro) e alimentação *ad libitum*.

Após um período de três dias para adaptação ao novo ambiente, os ratos estavam com 53 dias de idade e foram disponibilizados para o período experimental que teve duração de 60 dias. Os animais foram distribuídos aleatoriamente em cinco grupos, contendo 6 animais cada, os animais artríticos foram induzidos por injeção intradérmica de adjuvante completo de Freund (ACF) 0,1 mL de suspensão a 5% de *Mycobacterium tuberculosis* mortas e secas pelo calor, na região plantar da pata posterior esquerda de cada animal. Os animais controle foram submetidos ao mesmo procedimento, recebendo assim uma injeção intradérmica contendo 0,1 mL do veículo, óleo mineral (Nujol[®], Schering-Plough, São Paulo-Brasil). A quercetina microencapsulada foi administrada na dosagem de 10 mg/Kg por gavagem em cada animal diariamente. Para o cálculo individual da dose, os animais foram pesados e a dose calculada a cada dois dias. Para os animais tratados também com ibuprofeno, a dose administrada será de 17,5 mg/Kg, por gavagem, diariamente. Ao final de 60 dias de tratamento os animais foram eutanasiados e o íleo foi coletado e após microdissecado para obtenção de preparado total para realização de imunohistoquímica para a proteína S100 no plexo mientérico. Foi avaliada a densidade das células gliais entéricas em 30 campos microscópicos aleatórios. Os resultados foram

submetidos a análise estatística através do delineamento em blocos e pós teste de Fisher. O nível de significância adotado foi de 5%.

Resultados e Discussão

O modelo inflamatório foi confirmado através da observação de edema na pata. A artrite reduziu o número de células glias entericas S100-IR mioentéricas em 16% no grupo AIA em comparação com o grupo C ($p < 0,05$, $p > 0,05$, Tabela 1, Figura 1). A administração com quercetina nos animais (AQ) impediu a redução da densidade de células glias entericas em 18% em comparação com animais artríticos (AIA) ($p > 0,05$, Tabela 1, Figura 1). Os animais controle administrados com quercetina (grupo CQ) não apresentaram diminuição da densidade das células glias entéricas em comparação com o Grupo C, esses dados estão demonstrados na Tabela 1. A redução da densidade das células glias entéricas no grupo AIA é explicado devido produção de radicais livres que geram estresse oxidativo, resultando na morte das células glias, já no grupo AQ a quercetina teve ação protetora contra o estresse oxidativo gerado pela artrite induzida, devido sua capacidade antioxidante e anti-inflamatória, sendo capaz de neutralizar a ação dos radicais livres.

Tabela 1. Densidade de células glias entéricas no íleo em neurônios mioentéricos imunomarcados por S100-IR. Grupos experimentais: controle (C); controle suplementado com quercetina microencapsulada 10 mg/Kg (CQ); artrítico (AIA) e artrítico suplementado com quercetina microencapsulada 10 mg/Kg (AQ) e artrítico suplementado com ibuprofeno, $n=6$ animais por grupo.

Densidade	Grupos experimentais				
	C	CQ	AIA	AQ	AI
Células glias mioentéricas S100-IR	42,47±1,54 ^a	40,22±1,66 ^a	35,72±1,79 ^b	43,49±1,44 ^a	41,18±1,88 ^a

Os resultados foram submetidos ao teste de *One-way blocked analysis of variance* (ANOVA Blocked) com pós-teste de Fisher. Em uma mesma linha letras iguais significam $p > 0,05$, letras diferentes significam $p < 0,05$.

Conclusões

Podemos concluir que em animais artríticos suplementados com quercetina microencapsulada (AQ) na concentração de 10 mg/Kg atuou como antioxidante, em decorrência do aumento das células glias entéricas comparados com animais artríticos não tratados. Entretanto o número de amostras deverão ser ampliadas para realização da quantificação das células glias e comprovar este resultado em nível estatístico.

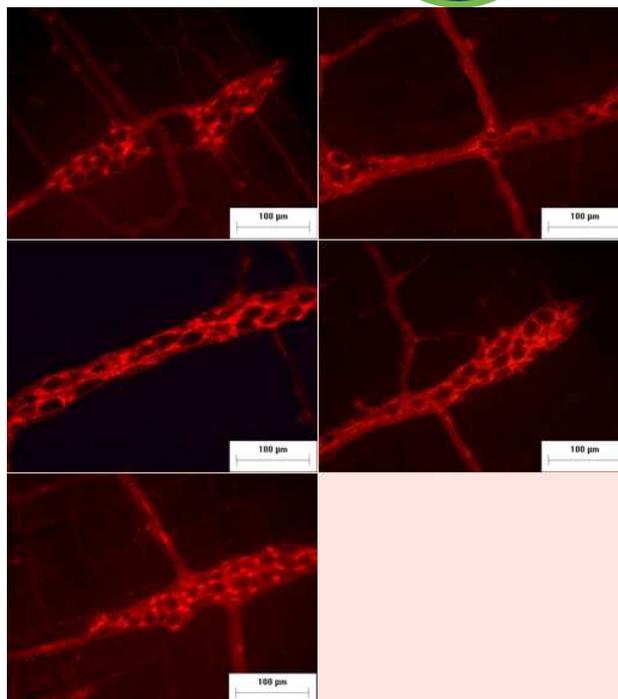


Figura 1: Fotomicrografia mostrando células imunoreativas a proteína S100 do íleo de ratos controle (C), controle quercetina (CQ), artríticos (AIA), artríticos tratados com ibuprofeno (AI) e artríticos tratado com quercetina (AQ). Os animais dos grupos quercetina (CQ e AQ) foram suplementados com quercetina microencapsulada por meio de gavagem na concentração de 10 mg/Kg, enquanto os animais (AI) foram tratados com ibuprofeno (AI) na concentração de 17,5 mg/Kg. Barra de Calibração 100 µm.

Agradecimentos

Ao programa CNPq/PIBIC UEM.

Referências

FILIPPIN, Lidiane Isabel et al. Influência de processos redox na resposta inflamatória da artrite reumatóide. **Revista brasileira de reumatologia**, Campinas. vol. 48, n. 1, p. 17-24, 2008.

JAIN, Amit K.; THANKI, Kaushik; JAIN, Sanyog. Novel self-nanoemulsifying formulation of quercetin: Implications of pro-oxidant activity on the anticancer efficacy. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, Mohali, v. 10, n. 5, p. e959-e969, 2014.

RODRIGUES, Hosana Gomes et al. Suplementação nutricional com antioxidantes naturais: efeito da rutina na concentração de colesterol-HDL. **Revista de Nutrição**, Campinas p. 315-320, 2003.