

AVALIAÇÃO DA ARTICULAÇÃO DE RATOS ARTRÍTICOS TRATADOS COM QUERCETINA

Natalia Pecin Bagon (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Thaís Corrêa Costa, Bruna Thais da Silva, Jacqueline Nelisis Zanoni (Orientador), e-mail: jnzanoni@uem.br.

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

Morfologia/Histologia

Palavras-chave: artrite reumatoide, flavonoide, inflamação

Resumo:

O objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito da quercetina na articulação de ratos com artrite reumatoide. Utilizamos 25 ratos da linhagem *Holtzman* que foram distribuídos aleatoriamente nos grupos: controle (C), artrítico sem tratamento (AIA), artríticos tratados com quercetina (AQ), artrítico tratado com a combinação de ibuprofeno 17,5 mg/kg e quercetina 50 mg/kg (AIQ) e artrítico tratado com ibuprofeno (AI). A artrite experimental foi induzida por 0,1ml de Adjuvante Completo de Freund (ACF) a 5% de *Mycobacterium tuberculosis*. Após 60 dias os animais foram eutanasiados e a pata esquerda foi coletada, preservando a articulação tíbio-társica. O processamento histológico foi realizado e as imagens das articulações foram capturadas e após o disco epifisário e a cartilagem articular foram mensurados e analisados. No grupo AIA houve aumento da espessura do disco epifisário e redução da espessura da cartilagem articular (vs C, $p < 0,0003$). Nos grupos AIQ, AQ e AI foi evidenciado uma redução da espessura do disco epifisário (vs AIA, $p < 0,001$). A espessura da cartilagem articular em todos grupos de tratamento foram menores que C ($p < 0,0001$) e o grupo AIQ foi significativamente menor que o grupo AIA. Na análise patológica o grupo que teve um menor índice de alterações foi o grupo AIQ. Considerando os resultados obtidos até o momento para avaliar a efetividade do melhor tratamento e chegar a uma conclusão final uma ampliação das análises deverão ser realizadas. De acordo com os resultados obtidos o melhor tratamento devido a menores alterações evidenciadas foi o grupo AIQ.

Introdução

A artrite reumatoide (AR) é uma doença autoimune que afeta sistemas múltiplos. Caracteriza-se pela infiltração de células inflamatórias nas membranas sinoviais das articulações, migração de leucócitos, macrófagos e fibroblastos sinoviais levando a destruição da cartilagem articular e ossos. A inflamação atinge as pequenas e as grandes articulações, geralmente de forma simétrica e a sintomatologia dos pacientes é determinada por rubor, inchaço articular, dores articulares difusas, fadiga e rigidez matinal (GELLER; SCHEINBERG, 2015). A lesão histológica básica

da artrite reumatoide é a inflamação da membrana sinovial. Citocinas pró-inflamatórias, tais como fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), interleucina 6 e interleucina-1 beta são os principais mediadores envolvidos, além da síntese de espécies reativas de oxigênio (EROs). Devido à superprodução de citocinas pró-inflamatórias e EROs há o desequilíbrio entre a formação e remoção desses agentes oxidantes, alterando o estado oxidativo do paciente (COMAR et al., 2013).

A fim de reduzir os sintomas, os tratamentos convencionais para artrite reumatoide são baseados no uso de medicamentos anti-inflamatórios não esteroides (AINEs), analgésicos, corticosteroides e fármacos antirreumáticos modificadores da doença. Porém geralmente podem apresentar efeitos adversos quando administrados por longos períodos como em pacientes artríticos, tais como úlceras gástricas e duodenais, colite, sangramento, perfuração e estenose nos intestinos delgado e grosso (JEYADEVI et al., 2013).

Em razão dos diversos efeitos colaterais ao uso dos anti-inflamatórios não esteroidais, substâncias derivadas de compostos naturais são pesquisadas para serem um tratamento alternativo nos quadros de AR. Entre os compostos bioativos naturais pesquisados estão os flavonoides. Nesse contexto, testamos a quercetina, que é o principal flavonoide presente na dieta humana que atua inibindo o processo de formação de radicais livres, quelando os íons de ferro e na peroxidação lipídica (BEHLING et al., 2004). Dessa forma o objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito da quercetina na articulação de ratos com artrite reumatoide, a fim de observar se ela conseguia reduzir os danos nessas articulações.

Materiais e métodos

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais em Experimentação da Universidade Estadual de Maringá (nº 4462180216). Utilizou-se 25 ratos adultos machos, da linhagem Holtzman (*Rattus Norvegicus*). Com 56 dias de idade, os animais foram distribuídos aleatoriamente em cinco diferentes grupos, sendo grupo controle (C), artrítico sem tratamento (AIA), artrítico tratado com quercetina 50 mg/kg (AQ), artrítico tratado com a combinação de ibuprofeno 17,5 mg/kg e quercetina 50 mg/kg (AIQ) e artrítico tratado com ibuprofeno 17,5 mg/kg (AI). Os animais artríticos receberam uma injeção intradérmica do Adjuvante Completo de Freund (ACF), 0,1 mL de suspensão a 5% de *Mycobacterium tuberculosis* na região plantar da pata posterior esquerda, para indução da artrite experimental, para o grupo controle, a injeção intradérmica continha 0,1 ml de óleo mineral (Nujol®). Após 60 dias de experimento, os animais foram anestesiados com tiopental e realizada a coleta da pata posterior esquerda de cada animal, preservando a articulação tibio-társica. A articulação foi fixada em Paraformaldeído a 4% e por 72h, descalcificadas e após submetidas a rotina histológica, a coloração utilizada foi a Hematoxilina e Eosina. Imagens do disco epifisário e da cartilagem articular foram capturadas em objetiva de 4x em um microscópio Motic acoplado a um sistema de captura (Motic BA400) e analisadas em software Image Pro Plus. Os resultados foram submetidos à análise estatística através do programa Statistica 7. A análise estatística utilizada foi o delineamento em blocos e pós teste foi o de Fisher. O nível de significância de 5% foi adotado.

Resultados e Discussão

No grupo AIA houve aumento da espessura do disco epifisário e redução da espessura da cartilagem articular (vs C; $p < 0,0003$, Tabela 1). Nos grupos AIQ, AQ e AI foi evidenciado uma redução da espessura do disco epifisário (vs AIA; $p < 0,001$; Tabela 1). A espessura da cartilagem articular em todos grupos de tratamento foram menores que C ($p < 0,0001$) e AIA, entretanto somente o grupo AIQ foi significativamente menor quando comparado a AIA (Tabela 1).

Na maioria dos animais do grupo AIA houve a formação de pannus com hiperplasia de vasos sanguíneos, hiperplasia de membrana sinovial e de discreto a moderado infiltrado inflamatório observando-se múltiplos focos de erosão da cartilagem e osso e tecido fibroso (Figura 1). O grupo que apresentou a articulação mais preservada sem alterações microscópicas expressivas foi o AIQ (Figura 1).

A cartilagem articular do grupo artrítico não tratado estava bem espessa devido à possível atividade de síntese das proteoglicanas e do colágeno em resposta à gravidade da lesão (HERNANDEZ et al., 2000). Sendo um indicativo de uma maior atividade hipertrófica, com um aumento de volume celular e também provavelmente ao aumento do número de células nas zonas de repouso e proliferativa. A associação dos dois anti-inflamatórios um não esteroide e outro um bioativo natural (BEHLING et al., 2004) que também possui atividade antioxidante resultou em melhor preservação da cartilagem.

Tabela 1: Parâmetros morfométricos no disco epifisário e cartilagem articular (μm). Grupos usados foram controle (C), artrítico sem tratamento (AIA), artrítico tratado com quercetina 50 mg/kg (AQ), artrítico tratado com a combinação de ibuprofeno 17,5 mg/kg e quercetina 50 mg/kg (AIQ) e artrítico tratado com ibuprofeno 17,5 mg/kg (AI). n=5 ratos por grupo.

Parâmetros	Grupos experimentais				
	C	AIA	AQ	AIQ	AI
Disco epifisário	238 \pm 6.0	301 \pm 8.2*	264 \pm 7.9 [†]	267 \pm 10.8 [†]	246 \pm 7.8 [†]
Cartilagem articular	208 \pm 8.3	171 \pm 8.5*	160 \pm 5.9	128 \pm 7.0 [†]	158 \pm 7.5

Valores expressos como média \pm erro padrão.

* $p < 0,05$ quando comparados ao controle (C).

[†] $p < 0,05$ quando comparados ao artrítico sem tratamento (AIA).

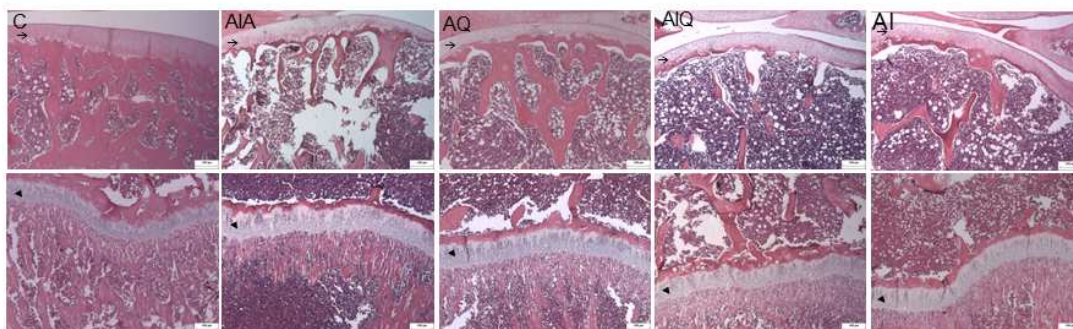


Figura 1 – Fotomicrografias representativas da articulação tíbio-femoral mostrando a cartilagem articular (seta) e o disco epifisário (ponta de seta). Grupos experimentais controle (C), artrítico sem tratamento (AIA), artrítico tratado com quercetina 50 mg/kg (AQ), artríticos tratados com a combinação de ibuprofeno 17,5 mg/kg e quercetina 50 mg/kg (AIQ), artrítico tratado com ibuprofeno 17,5 mg/kg (AI). Cortes semi seriados com 6µm de espessura, corados em Hematoxilina e Eosina. Seta indica cartilagem articular e cabeça de seta disco epifisário. Barra de calibração (200 µm).

Conclusões

Considerando os resultados obtidos até o momento para avaliar a efetividade do melhor tratamento e chegar a conclusão final uma ampliação das análises deverão ser realizadas. Através das análises histológicas e patológicas realizadas para o desenvolvimento deste projeto concluímos preliminarmente que combinação de ibuprofeno e quercetina foi a que melhor preservou a cartilagem. E na AR é favorável, visto que alterações degenerativas na cartilagem pode aumentar a rigidez das articulações agravando a sintomatologia da doença.

Agradecimentos

Ao Órgão CNPq pela bolsa de iniciação científica, a Profª Drª Jacqueline Nelisis Zanoni pela orientação, a aluna de doutorado Bruna Thais da Silva pelo auxílio durante o projeto, e por fim ao Laboratório de Plasticidade Neural da Universidade Estadual de Maringá.

Referências

- BEHLING, E. B. et al. Flavonoide quercetina: Aspectos gerais e ações biológicas. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 15, n. 3, p. 285-292, 2004.
- COMAR, J. F. et al. Oxidative state of the liver of rats with adjuvant-induced arthritis. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 58, p. 144-153, 2013.
- GELLER, M.; SCHEINBERG, M. **Diagnóstico e tratamento das doenças imunológicas**. 2 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015.
- HERNANDEZ, Arnaldo José et al. Cartilagem articular e osteoartrose. **Acta Ortopédica Brasileira**, v. 8, n. 2, p. 100-104, 2000.
- JEYADEVI, R. et al. Enhancement of anti-arthritic effect of quercetin using thioglycolic acid-capped cadmium telluride quantum dots as nanocarrier in adjuvant induced arthritic Wistar rats. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 112, p. 255-263, 2013.