

AVALIAÇÃO DO EFEITO DA QUERCETINA MICROENCAPSULADA SOBRE A POPULAÇÃO NEURONAL ENTÉRICA IMUNORREATIVA A HuC/D NO ÍLEO DE RATOS ARTRÍTICOS

Andrya Reder Hollatz (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Lidia Rodrigues Cicero, Jacqueline Nelisis Zaroni (Orientador), e-mail: andryarhollatz@gmail.com.

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

Morfologia/Histologia.

Palavras-chave: artrite reumatoide, quercetina, flavonoides

Resumo: O objetivo deste trabalho consistiu em avaliar o efeito da quercetina microencapsulada e do anti-inflamatório não esteroide ibuprofeno sobre a população neuronal HuC/D do íleo de ratos Holtzman artríticos. Estes foram distribuídos em 5 grupos: controle (C), artrítico sem tratamento (AIA), artrítico tratado com ibuprofeno 17,5mg/kg (AI), artrítico tratado com quercetina microencapsulada 10mg/kg (AQ) e controle tratado com quercetina microencapsulada 10mg/kg (CQ). O grupo AIA obteve redução na densidade neuronal e na área do corpo celular ($p < 0,0001$) comparado ao controle. O grupo AI apresentou preservação na densidade neuronal apenas no plexo mioentérico (AI vs AIA), enquanto a densidade neuronal no grupo AQ foi maior em 65% em ambos os plexos (AQ vs AIA; $p < 0,0001$). Quanto à área da soma neuronal, o grupo AI mostrou aumento significativo no plexo submucoso (AI vs AIA), enquanto no grupo AQ o aumento ocorreu nos dois plexos (AQ vs AIA, $p < 0,05$). Conclui-se que o efeito da quercetina microencapsulada sobre a população neuronal do íleo de ratos artríticos foi benéfico, aumentando densidade e área celulares a valores próximos aos do grupo controle.

Introdução

A Artrite Reumatoide (AR) é uma doença sistêmica, inflamatória crônica e autoimune que leva à dor severa e disfunção das articulações. A proliferação de células inflamatórias com geração de espécies reativas de oxigênio (ERO) e radicais livres soma-se à ineficiência sistêmica dos sistemas antioxidantes na patogenia da doença. Os anti-inflamatórios sintéticos não esteroidais (AINEs) estão entre as principais terapias clássicas da AR, mas bioativos como os flavonoides vêm ganhando espaço terapêutico como alternativa ao alto custo e inúmeros efeitos adversos do tratamento clássico. Ademais, diversos estudos evidenciam efeitos maléficos de AINEs sobre o trato gastrointestinal.

As proteínas neuronais da família ELAV/Hu, como HuC e HuD, estão presentes nos plexos mioentérico e submucoso do sistema nervoso entérico

(SNE) e auxiliam no desenvolvimento, manutenção e sobrevivência neuronal. Em situações de inflamação intestinal, que pode ser observada como uma manifestação sistêmica da AR, é comum a produção de auto-anticorpos para essas proteínas, podendo ocorrer respostas neurodegenerativas e perda neuronal (Kashyap, 2008).

A quercetina é um flavonóide que inibe vias de formação de radicais livres assumindo efeito anti-inflamatório e antioxidante (Kim B, 2013). O uso de microcápsulas aumenta sua biodisponibilidade e evita irritações e ulcerações (Guazelli, 2013), vantagem na profilaxia de doenças inflamatórias e autoimunes em comparação ao uso de AINEs. Estudos prévios acerca do tratamento com quercetina livre observaram efeitos protetores sobre o SNE em parâmetros quantitativos e morfométricos (De Souza, 2017; Lopes, 2012). Assim, o objetivo deste trabalho consistiu em avaliar o efeito da quercetina microencapsulada e do anti-inflamatório não esteroide ibuprofeno sobre a população neuronal geral HuC/D do íleo de 30 ratos Holtzman (*Rattus Norvegicus*) artríticos induzidos pelo adjuvante completo de Freund.

Materiais e métodos

Com a aprovação do Comitê de Conduta Ética no Uso de Animais em Experimentação (CEAE) da Universidade Estadual de Maringá (UEM) sob o parecer CEUA nº 4462180216, foram utilizados 30 ratos adultos Holtzman (*Rattus Norvegicus*) machos. Os animais foram distribuídos aleatoriamente em 5 grupos de 6 animais cada: controle (C), artrítico sem tratamento (AIA), artrítico tratado com ibuprofeno 17,5mg/kg (AI), artrítico tratado com quercetina microencapsulada 10mg/kg (AQ) e controle tratado com quercetina microencapsulada 10mg/kg (CQ). A artrite foi induzida por injeção intradérmica de 0,1 ml adjuvante completo de Freund de 5% de suspensão de *Mycobacterium tuberculosis* morta por calor na pata traseira direita de cada animal. Após 60 dias de tratamento os animais foram eutanasiados e o íleo coletado para realização de técnica imunohistoquímica para neurônios imunorreativos a HuC/D nos plexos mioentérico e submucoso. Para análise morfométrica, foi avaliada a área do corpo celular de 100 neurônios HuC/D em cada plexo nervoso de cada animal, expressa em μm^2 . Para análise quantitativa, foi avaliada a densidade desses neurônios em 30 campos microscópicos aleatórios de cada plexo nervoso de cada animal, expressa em número de neurônios por cm^2 . Um fator de correção foi calculado como a relação entre a área intestinal de cada animal e a área intestinal do controle, sendo empregado em AIA (0.9769), AI (1.1570), AQ (1.1740) e CQ (0.9592). Os resultados foram submetidos ao delineamento em blocos e pós teste de Fisher com nível de significância de 5%.

Resultados e Discussão

A análise quantitativa revelou diminuição da densidade neuronal do grupo artrítico sem tratamento, em relação ao grupo C, nos plexos mioentérico e submucoso (AIA vs C; $p < 0,0001$, Figura 1A e 1B), enquanto a análise

morfométrica revelou redução significativa da área do corpo celular apenas no plexo submucoso (AIA vs C; Figura 2B). Esses dados são resultado da resposta neurodegenerativa induzida pela inflamação intestinal como manifestação sistêmica da AR. A diferença entre os plexos não é incomum e deve-se ao fato de populações neuronais diferentes possuírem comportamentos distintos.

O grupo AI apresentou preservação na densidade neuronal apenas no plexo mioentérico (AI vs AIA; Figura 1A), enquanto a densidade neuronal no grupo AQ foi maior em 65% em ambos os plexos (AQ vs AIA; $p < 0,0001$, Figura 1A e 1B). Quanto à área da soma neuronal, o grupo AI mostrou aumento significativo apenas no plexo submucoso (AI vs AIA, Figura 2A), enquanto no grupo AQ o aumento ocorreu nos dois plexos (AQ vs AIA, $p < 0,05$, Figura 2A e 2B).

Portanto, embora os dois tratamentos tenham melhorado os parâmetros morfométrico e quantitativo dos neurônios HuC/D do SNE prejudicado em animais artríticos, a quercetina obteve melhor desempenho em reaproximá-los àqueles dos animais saudios (grupo controle).

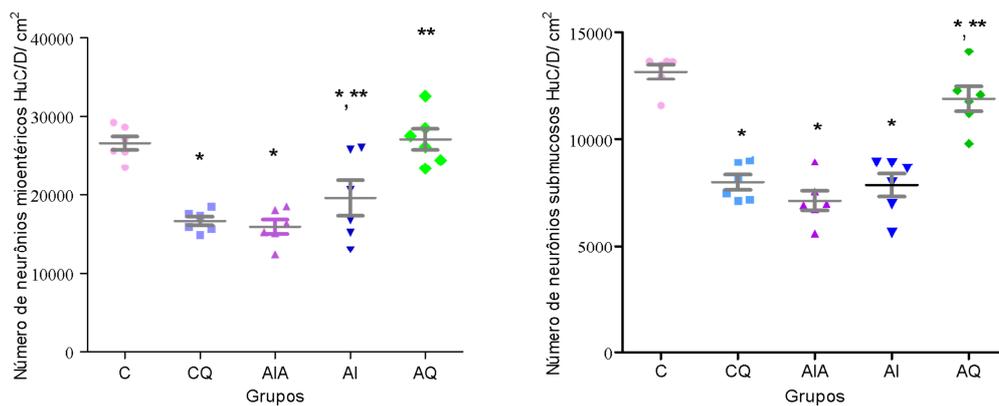


Figura 1 – Análise da densidade neuronal HuC/D por unidade de área (cm^2) nos plexos mioentérico (A) e submucoso (B) do íleo. * diferença significativa quando comparado ao grupo C ($p < 0,05$) e ** diferença significativa quando comparado ao grupo AIA ($p < 0,05$).

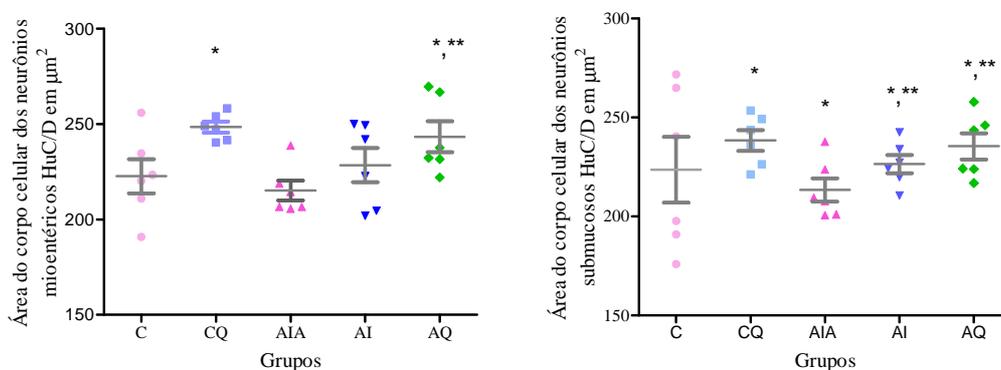


Figura 2 – Análise da área do corpo celular de neurônios HuC/D (μm^2) nos plexos mioentérico (A) e submucoso (B) do íleo. * diferença significativa quando comparado ao grupo C ($p < 0,05$) e ** diferença significativa quando comparado ao grupo AIA ($p < 0,05$).

O grupo CQ apresentou redução da densidade neuronal e aumento da área do corpo celular significativos, se comparado ao controle, em ambos os plexos (CQ vs C; Figuras 1 e 2). A redução da densidade pode ser explicada pela administração de uma substância anti-inflamatória em animais saudáveis, provocando efeito pró-oxidante com possível toxicidade, mas parece ter sido compensada por neuroplasticidade via aumento da área do corpo celular.

Conclusões

Conclui-se que o efeito da quercetina microencapsulada sobre a população neuronal do íleo de ratos artríticos foi benéfico, aumentando densidade e área neuronais a valores próximos aos do grupo controle. Apesar desses resultados, mais estudos devem aprofundar a avaliação da quercetina sobre o trato gastrointestinal e investigar possíveis efeitos colaterais do tratamento.

Agradecimentos

Agradeço à orientadora Jacqueline Nelisis Zanoni pelo auxílio, colaboração e esclarecimento. Ao CNPq pela concessão da bolsa e à Universidade Estadual de Maringá.

Referências

- DE SOUZA SRG, et al. Antioxidant effects of the Quercetin in the Jejunal Myenteric innervation of Diabetic rats. **Front Med.** v. 4:8, 2017
- GUAZELLI CF, et al. Quercetin-loaded microcapsules ameliorate experimental colitis in mice by anti-inflammatory and antioxidant mechanisms. **J Nat Prod.** v. 76, n. 2, p. 200-208, 2013.
- KASHYAP P, FARRUGIA, G. "Enteric autoantibodies and gut motility disorders.". **Gastroenterol Clin North Am.** v. 37, n. 2, p. 397-410, 2008.
- KIM, B. H., et al. Relative antioxidant activities of quercetin and its structurally related substances and their effects on NF- κ B/CRE/AP-1 signaling in murine macrophages. **Mol Cells.** v. 35, n. 5, p. 410-420, 2013.
- LOPES CRP, et al. Neuroprotective effect of quercetin on the duodenum enteric nervous system of streptozotocin-induced diabetic rats. **Dig Dis Sci.** v. 57, n. 12, p. 3106-3115, 2012.