

## EFEITO DO TRATAMENTO COM MICROPARTÍCULAS LIPÍDICAS SÓLIDA CONTENDO TRANS-ANETOL NA MUCOSA GÁSTRICA DE RATOS ARTRÍTICOS

João Victor Guedes Duda, Edvalkia Magna Teobaldo da Rocha, Franciele Queiroz Ames, Larissa Carla Lauer Schneider, Ciomar Aparecida Bersani-Amado (Orientador), e-mail: cabamado@uem.br

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

**Ciências Biológicas, Farmacologia, Farmacologia Geral.**

**Palavras-chave:** trans-anetol, micropartículas lipídicas sólidas, inflamação, lesão gástrica.

### Resumo:

O objetivo do presente estudo foi investigar o efeito do tratamento com micropartículas lipídicas sólidas contendo trans-anetol (MLSAN) sobre a mucosa gástrica de ratos artríticos. Para isto, amostras dos estômagos de ratos dos diferentes grupos foram preparadas e os cortes histológicos transversais semi-seriados de 6  $\mu\text{m}$  de espessura foram corados com hematoxilina/eosina (HE) e com ácido periódico de Schiff (PAS). Os cortes corados com HE foram utilizados para avaliar a espessura da parede total, da mucosa e da submucosa ( $\mu\text{m}$ ) do estômago e, também, a área das células parietais e principais ( $\text{mm}^2$ ). Os cortes corados com PAS foram utilizados para determinação do conteúdo de mucinas (glicoproteínas que compõem o muco gástrico), expressos como área ( $\text{mm}^2$ ). Os resultados mostraram alterações estruturais e morfológicas na mucosa gástrica de ratos artríticos. O tratamento com as MLSAN (25 e 50 mg/kg) por um período de 21 dias não modificou tais alterações, no entanto, o tratamento com IB (35 mg/kg), anti-inflamatório de referência, provocou alterações adicionais como ulceração, diminuição da espessura da mucosa e aumento da secreção de mucinas. No conjunto, os dados forneceram evidências que o tratamento com MLSAN, por um período mais prolongado não agravou as lesões gástricas provocadas pela artrite induzida por adjuvante (AIA).

### Introdução

O trans-anetol [anetol 1-metoxi-4-benzeno-(1-propenil)] é um composto aromático encontrado naturalmente no anis (*Pimpinella anisum*), anis-estrelado (*Illicium verum*) e funcho/erva-doce (*Foeniculum vulgare*) sendo responsável por mais de 90% da composição do óleo essencial. É encontrado em menores concentrações nos óleos essenciais da erva-cidreira (6,1%), coentro (0,5%) e manjeriço (0,08%). Este composto

apresenta numerosas atividades biológicas: antimicrobiana, antioxidante, antinociceptiva, hepatoprotetora, anti-inflamatória, entre outras. Estudos realizados por nosso grupo de pesquisadores mostraram que o trans-anetol (AN) administrado em ratos, por via oral, exibe um efeito inibitório sobre a dor de origem inflamatória aguda (induzida pela carragenina) e persistente (induzida pelo adjuvante completo de Freund-ACF), e também sobre a resposta inflamatória aguda (edema de pata e pleurisia induzidos pela carragenina) e crônica (artrite induzida pelo ACF). Nestes estudos a maior eficácia do AN ocorreu quando o composto foi administrado em doses altas (125 e 250 mg/Kg). Recentemente, foi demonstrado que o tratamento de ratos com uma combinação de AN + ibuprofeno (IB) em doses baixas e com micropartículas contendo AN, também em doses baixas, apresentaram um potencial anti-inflamatório similar a monoterapia com AN e o IB em doses altas. Nestes estudos também foram observados, por análise histológica, alterações estruturais e morfológicas no estômago dos animais artríticos não tratados, as quais foram agravadas pelo tratamento com IB. Assim, o objetivo do presente estudo foi investigar o efeito do tratamento com micropartículas lipídicas sólidas contendo trans-anetol (MLSAN) sobre a mucosa gástrica de ratos artríticos (AIA).

## Materiais e métodos

Para este estudo foram utilizados os estômagos de ratos usados em experimentos que avaliaram a atividade anti-inflamatória das MLSAN no modelo de inflamação crônica induzida pelo ACF. Após eutanásia dos animais dos grupos normal (N), artríticos (AIA), e artríticos tratados com MLSAN (25 e 50 mg/kg) e IB (35 mg/kg), os estômagos foram removidos e por uma incisão realizada ao longo da curvatura menor foi feita a limpeza dos restos alimentares com solução de NaCl (0,9%). Imediatamente após, os estômagos foram fixados em solução de ALFAC tamponado (álcool 80o GL 85%, formaldeído 10% e ácido acético glacial 5%) por 12 h. Posteriormente, as amostras foram desidratadas, diafanizadas em xilol e incluídas em blocos de parafina. Os cortes histológicos transversais semi-seriados de 6 µm de espessura foram corados com hematoxilina/eosina (HE) e com ácido periódico de Schiff (PAS). Os cortes corados com HE foram utilizados para avaliar parâmetros como: a espessura da parede total, da mucosa e da submucosa (µm) e, também a área das células parietais e principais (mm<sup>2</sup>). Os cortes corados com PAS foram utilizados para determinação da área, em mm<sup>2</sup>, que representa o conteúdo de mucinas (glicoproteínas que compõem o muco gástrico). Para isto, para cada animal, foram capturadas 16 imagens aleatórias no aumento de 10X para as análises morfométricas, 50 imagens no aumento de 40X para mensuração da área das células, e 15 imagens no aumento de 20X para a quantificação das mucinas gástricas utilizando microscópio óptico Olympus BX41 (Olympus, Tóquio, Japão). As imagens digitalizadas foram utilizadas para análises no software Image Pro-Plus, versão 4.5 (Media Cybernetics, Inc. – Silver Spring, Maryland, USA). Os resultados foram apresentados como

média  $\pm$  erro padrão da média (E.P.M.). Os dados foram submetidos ao software GraphPad Prisma (versão 5.0) e analisados por Análise de variância (one-way ANOVA), seguida pelo teste de Tukey.  $P < 0,05$  foi considerado como nível de significância.

## Resultados e Discussão

As análises histológicas pela técnica de HE mostraram que a mucosa gástrica dos ratos normais (N) apresentou aspectos morfológicos conservados, com células bem definidas, dispostas de maneira organizada e distribuição normal. A mucosa gástrica dos ratos AIA, 21 dias após a indução da doença, apresentaram alterações incluindo desorganização da sua arquitetura e hipertrofia das células parietais quando comparada ao grupo N. A mucosa gástrica dos ratos tratados com a MLSAN apresentou características semelhantes às dos ratos AIA. O tratamento dos ratos artríticos com IB (35 mg/kg por 21 dias) provocou além das alterações encontradas na mucosa gástrica dos ratos AIA, uma redução da espessura da camada mucosa quando comparado aos grupos N e AIA, e a presença de lesões mais graves na mucosa, como ulcerações, fibrose e infiltrado inflamatório. As avaliações histológicas pela técnica de PAS mostraram um aumento do conteúdo de mucinas na mucosa gástrica dos ratos AIA quando comparado aos ratos do grupo N. Os animais tratados com a MLSAN apresentaram conteúdo de mucinas similar ao dos ratos AIA, no entanto, os ratos tratados com IB apresentaram um aumento expressivo do conteúdo de mucinas gástricas quando comparado aos ratos dos grupos N e AIA. Em estudo anterior nós já havíamos encontrado alterações na mucosa gástrica de ratos artríticos (AIA) e de ratos artríticos tratados com IB, semelhantes às observadas no presente estudo (AMES, 2019). Uma explicação para o aparecimento destas alterações na mucosa gástrica de ratos AIA é que poderiam ser decorrentes da ação de mediadores inflamatórios liberados e da própria inflamação sistêmica que ocorre na evolução da AIA (KATO et al., 2002; AMES, 2019). Alguns estudos experimentais mostram que para amenizar os danos e proteger a mucosa gástrica após uma agressão, pode ocorrer um aumento da produção de mucina, formando uma capa mucoprotetora que favorece a regeneração tecidual (AGOSTINI, 2013; SCHNEIDER, 2014). Um achado interessante no presente estudo foi que, embora o tratamento dos ratos artríticos com as MLSAN (25 e 50 mg/kg por 21 dias) não preveniu ou reduziu as alterações na mucosa gástrica causadas pela própria doença, não provocou alterações adicionais como às encontradas nos ratos artríticos tratados com IB.

## Conclusões

No conjunto, os resultados mostraram evidências que o tratamento de ratos artríticos com micropartículas lipídicas sólidas contendo trans-anetol (MLSAN) apresentaram maior segurança sobre a mucosa gástrica quando administradas por período mais prolongado. Assim, pode ser sugerido que

as MLSAN constituem uma alternativa terapêutica relevante e segura para o tratamento de doenças inflamatórias.

## Agradecimentos

Agradecemos aos colegas e técnicos do Laboratório de Inflamação da UEM pelo apoio, e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), a Fundação Araucária (FA) e a UEM pelo suporte financeiro.

## Referências

AGOSTINI, F. **Atividade anti-inflamatória e antinoceptiva de uma fração purificada de polissacarídeos de *Pleurotus sajós-caju***. Dissertação de Mestrado, Universidade da Região de Joinville-SC, 2013.

AMES, F. Q. **Efeito da associação anetol + ibuprofeno, comparativamente ao do anetol e ibuprofeno, na artrite induzida pelo adjuvante completo de Freund: análises farmacológica, metabólica, espectrocópica e histológica**. Tese de doutorado do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual de Maringá-Pr, 2019.

KATO, S.; OGAWA, Y.; KANATSU, K.; OKAYAMA, M.; WATANABE, T.; ARAKAWA, T.; TAKEUCHI, K. Ulcerogenic influence of selective cyclooxygenase-2 inhibitors in the rat stomach with adjuvant-induced arthritis. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 303, n. 2, p. 503-509, 2002.

SCHNEIDER, R. E. G. M. **Avaliação do efeito gastroprotetor da cutícula coilina retirada do ventrículo de *Gallus gallus domesticus* em ratos**. Dissertação de Mestrado da Universidade Federal do Pampa-RS, 2014.