AVALIAÇÃO DO EFEITO DA QUERCETINA MICROENCAPSULADA NA MUCOSA DO CÓLON DE RATOS ARTRÍTICOS

Gabriela Hortelã Santos (PIBIC/ AF/ IS/ CNPq/ UEM), Juliana Vanessa Colombo Martins Perles (Orientador), e-mail: gabrielahortela@hotmail.com

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

Morfologia - Histologia

Palavras-chave: artrite reumatoide, cólon proximal, células caliciformes PAS^+

Resumo:

A avaliação do efeito da quercetina microencapsulada feita nas células caliciformes PAS^+ do cólon proximal de ratos artríticos utilizou Ratos machos Holtzmann (*Rattus norvegicus*) distribuídos aleatoriamente em 5 grupos (n= 7 a 8): Ratos Controle (C); Ratos Controle Administrado com Quercetina 10mg/kg, v.o. (CQ); Ratos Artríticos (AIA); Ratos Artríticos Administrados com Quercetina 10mg/kg(AQ) e Ratos Artríticos Administrados com Ibuprofeno 17,5 mg/kg, ip. (AI). O período experimental foi de 60 dias. Posteriormente, o cólon desses animais foi coletado, submetido a técnicas histológicas para analise e quantificação de células caliciformes. Foi detectado uma redução significativa ($p<0,0001$) no número de células PAS^+ no colón proximal dos animais do grupo AIA em relação ao grupo C. O grupo CQ apresentou uma redução ($p<0,0001$) nas células PAS^+ em relação ao grupo C. Já os grupos AI e AQ apresentaram uma quantidade significativa ($p<0,0001$) maior de células PAS^+ em relação ao grupo AIA, visto que o grupo AQ teve um aumento maior ($p<0.00$) do que no grupo AI. É possível concluir que a quercetina na formulação de microcápsula diminuiu os danos que foram causados pela artrite reumatoide nas células PAS^+ do colón proximal de ratos.

Introdução

A artrite induzida por ACF em ratos é um modelo experimental de AR amplamente utilizado e exibe uma poliartrite rápida, confiável, robusta e falcilmente mensurável (AMES-SIBIN et al, 2018). Por apresentar uma resposta inflamatória forte e generalizada tornou-se recentemente uma ferramenta que permite investigar a patogênese não apenas nas articulações como também de forma sistemica. No quadro de inflamação sistemica causado pela artrite induzida existe uma produção excessiva de espécies reativas de oxigênio (ERO). As ERO causam inflamação sistêmica

que gera um estresse oxidativo afetando os órgãos do sistema digestório, quais sofrem um efeito danoso no sistema nervoso entérico e mucosa intestinal (D'ANDREA et al, 2015; BOSSOLANI et al, 2018).

A quercetina um potente antioxidante, é comumente encontrada em frutas e vegetais e exerce várias atividades biológicas (por exemplo, propriedades antinflamatórias, anticâncer, hepatoprotetivas, antidiabéticas e antibacterianas), incluindo antirreumáticas (BOSSOLANI et al., 2019).

Entretanto o seu uso em microcápsulas ainda não foi avaliado nos impactos gerados no sistema digestório de ratos com artrite experimentalmente induzida. Deste modo, este projeto teve por finalidade avaliar o efeito da quercetina microencapsulada na mucosa do cólon de ratos artríticos.

Materiais e métodos

O projeto obteve a aprovação do Comitê de Conduta Ética no Uso de Animais em Experimentação (CEAE) da Universidade Estadual de Maringá, sob o parecer CEUA nº 4462180216, onde foram utilizados 36 ratos adultos machos Holtzman (*Rattus norvegicus*). Estes animais foram distribuídos aleatoriamente em 5 grupos diferentes (n= 6 a 7): Ratos Controle (C); Ratos Controle Administrado com Quercetina 10mg/kg (CQ); Ratos Artríticos (AIA); Ratos Artríticos Administrados com Quercetina 10mg/kg(AQ) e Ratos Artríticos Administrados com Ibuprofeno 17,5 mg/kg (AI). Os animais dos grupos CQ e AQ tiveram a quercetina administrada por gavagem – v.o, e os animais do grupo AI tiveram ibuprofeno administrados via intraperitoneal – i.p. As microcápsulas carregadas com quercetina foram preparadas a partir de uma mistura de pectina/caseína em dispersão aquosa formando um sistema organizado de multipartículas. As microcápsulas carregadas apresentaram forma predominantemente esférica e diâmetro médio de partícula de aproximadamente 20 µm. A indução da artrite foi feita através da Injeção de adjuvante (subcutâneo) completo de Freund (ACF) 0,1 mL na região plantar da pata traseira esquerda de cada animal.

Após um protocolo experimental de 60 dias, os animais foram sacrificados, foi retirado o colón proximal, o mesmo foi fixado em Bouin (ácido pícrico, formol e ácido acético) por 6 horas.Posteriormente, o mesmo ficou armazenado em álcool 70% até o momento em que foi realizado seu emblocamento em parafina, para adiante cortes semi-seriados com 4µm de espessura e subsequentemente o cólon proximal foi sujeito à coloração por técnica histológica de PAS (ácido periódico-Schiff) para quantificação de células caliciformes. A quantificação de células caliciformes PAS^+ foram realizadas no tecido epitelial em 100 criptas por animal.

Resultados e Discussão

A análise morfológica das criptas apresentou os resultados para a quantificação de células PAS^+ da camada mucosa do colón proximal e as fotomicrografias representativas da técnica nos diferentes grupos estudados

são apresentadas na figura 2. Foi então detectada uma redução significativa ($p<0,0001$) no número de células PAS^+ no grupo AIA em relação ao grupo C. Enquanto que os grupos AQ e AI apresentou uma quantidade consideravelmente ($p<0,0001$) maior de células PAS^+ em relação ao grupo AIA, sendo que no grupo AQ esse aumento foi maior ($p<0.00$) que no grupo AI. Já o grupo CQ manifestou uma redução relevante ($p<0,0001$) nas células PAS^+ em relação a C.

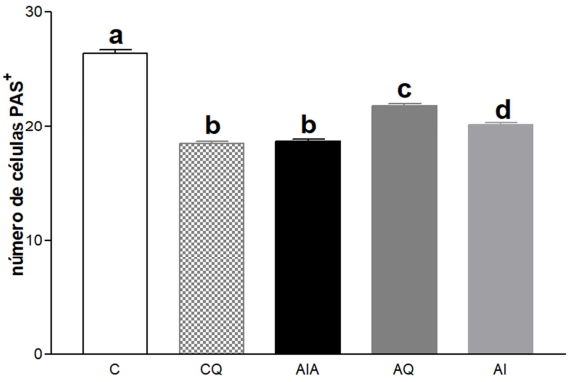

Figura 1 - O gráfico apresenta o resultado da quantificação de células PAS^+ da camada mucosa do colón proximal dos diferentes grupos estudados n=6-8 (C=controle; CQ=controle +quercetina 10mg/kg; AIA=artrítico; AQ= artrítico + quercetina 10mg/kg; AI= artrítico + ibuprofeno 17,5mg/g; n=6-8) Os resultados são expressos por média ± erro padrão, letras diferentes representam diferenças estaticamente significativas entre os grupos ($p<0,0001$).

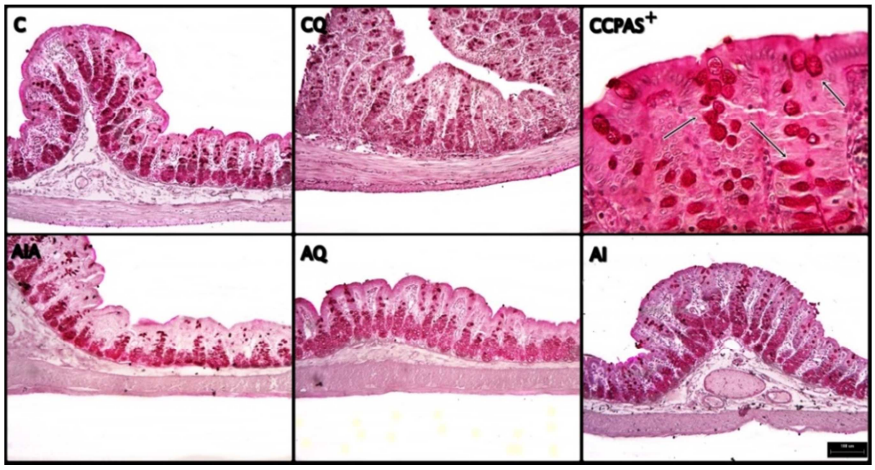

Figura 2 – As fotomicrografias são da técnica histológica de PAS para os diferentes grupos. $CCPAS^+$= ampliação para visualização das células PAS^+ na ponta das flechas. Barra de escala 100µM.

Essas alterações detectadas na quantificação de células PAS^+ no colón proximal de ratos artriticos, indicou o comprometimento da homeostase intestinal com possível perca da barreira mucosa. O muco tem um aspecto viscoso e configura uma importante interface entre o conteúdo luminal e o tecido do hospedeiro, que fornece um habitat para a microbiota intestinal e protege o epitélio intestinal. (ETIENNE-MESMIN et al., 2019; PAONE, CANI, 2020).

No estudo que foi realizado, vimos que a utilização da quercetina microencapsulada previniu a redução de células caliciformes PAS^+.

Adicionalmente, a quercetina microencapsulada foi mais efetiva que o ibuprofeno em prevenir parâmetros indicativos da atrofia colônica, provavelmene devido aos seus efeitos antioxidantes e anti-inflamatório (BOSSOLANI et al, 2018).

Conclusões

Conclui-se que a quercetina na formulação de microcápsula diminuiu os danos que foram causados pela artrite reumatoide nas células PAS^+ do colón proximal de ratos.

Agradecimentos

Agradeço à Universidade Estadual de Maringá (UEM) por me proporcionar o acesso aos projetos de iniciação cientifica. Ao CNPq pelo consentimento da bolsa que me proporcionou um maior aprendizado mesmo em tempos de pandemia e a orientadora Juliana Vanessa Colombo Martins Perles por toda a paciência e auxílio quais me foram destinado por esses doze meses.

Referências

AMES-SIBIN, Ana P. et al. O β-cariofileno, o principal constituinte do óleo de copaíba, reduz a inflamação sistêmica e o estresse oxidativo em ratos com artrite. **Journal of Cell Biohemistry**, v. 119, n.12, pág.10262-10277, 2018.

BOSSOLANI, Gleison Daion Piovezana et al. Rheumatoid arthritis induces enteric neurodegeneration and jejunal inflammation, and quercetin promotes neuroprotective and anti-inflammatory actions. **Life sciences**, v. 238, p. 116956, 2019.

D'ANDREA, Gabriele. Quercetin: a flavonol with multifaceted therapeutic applications?. **Fitoterapia**, v. 106, p. 256-271, 2015.

ETIENNE-MESMIN, Lucie et al. Experimental models to study intestinal microbes–mucus interactions in health and disease. **FEMS microbiology reviews**, v. 43, n. 5, p. 457-489, 2019.

PAONE, Paola; CANI, Patrice D. Mucus barrier, mucins and gut microbiota: the expected slimy partners?. **Gut**, v. 69, n. 12, p. 2232-2243, 2020.