

CURCUMINA NANOEMULSIFICADA NOS RINS DE RATOS SUBMETIDOS À ARTRITE INDUZIDA POR ADJUVANTE ALTERA A FUNÇÃO GLOMERULAR

Juliano Hiroyuki Ito (PIBIC/UEM), Karile Cristina da Costa Salomão (Coorientadora), Nilza Cristina Buttow (Orientadora). E-mail: Julianoito.biomed@hotmail.com.

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Morfológicas, Maringá, PR.

Área e subárea do conhecimento: Morfologia, Histologia.

Palavras-chave: reumatismo; espaço de bowman; morfologia.

RESUMO

A artrite reumatoide (AR) é uma doença autoimune inflamatória caracterizada pelo comprometimento da membrana sinovial das articulações periféricas. Pacientes com esta patologia são tratados com diversos fármacos, como o metotrexato (MTX), porém estudos mostram que este fármaco pode causar nefrotoxicidade, distúrbios hematológicos, entre outros. A curcumina é um produto natural com efeitos antioxidantes e anti-inflamatórios, o que pode melhorar alterações renais causadas por algumas doenças. Por isso, o presente estudo tem por finalidade avaliar os efeitos do tratamento de ratos submetidos à artrite induzida por adjuvante (AIA) e do uso isolado ou da associação de curcumina livre (CL) ou nanoemulsificada (CN) e MTX, sobre os aspectos morfológicos do corpúsculo renal e a creatinina sérica. Os animais foram distribuídos em sete grupos: grupo controle (C), os demais foram submetidos a AR no dia zero e começaram a receber os diferentes tratamentos iniciando ao sétimo dia. Ao trigésimo dia, foram eutanasiados e os rins e sangue coletados. Neste estudo, observou-se uma diminuição na área da cápsula de Bowman e do glomérulo do grupo AIA+CN+MTX em relação ao grupo AIA. Além disso, foi verificado no grupo AIA+CN uma diminuição da creatinina sérica e do espaço de Bowman. Muitas dessas alterações também são encontradas em diabetes mellitus tipo I e lesão renal aguda. Diante disso, a curcumina nanoemulsificada reduz o espaço de Bowman e a creatinina sérica em ratos artríticos, assim mais estudos são necessários para avaliar o nível de segurança no uso desta formulação.

INTRODUÇÃO

A artrite reumatóide (AR) é uma doença autoimune inflamatória caracterizada pelo comprometimento da membrana sinovial das articulações periféricas, causando inflamação sistêmica, podendo atingir outros órgãos, sendo estas alterações ainda pouco estudadas, principalmente em relação aos rins. O metotrexato (MTX) é o fármaco mais amplamente prescrito em diversos países para o tratamento de AR, porém de maneira combinatória com anti-inflamatórios não hormonais - AINH e drogas modificadoras do curso da doença - DMCD, já que o mesmo apresenta uma

toxicidade considerável, sendo válido a atenção aos efeitos colaterais, como: distúrbios gastrointestinais, distúrbios hematológicos, nefrotoxicidade, desregulação hepática, entre outros (WANG, W.; ZHOU, H.; LIU, L., 2018). Este é um metabólito antifolato que inibe a síntese, o reparo e a replicação celular do DNA, além de possuir propriedades anti-inflamatórias e imunomoduladoras.

Diante ao exposto, a utilização de produtos naturais em conjunto ao MTX foi uma das alternativas encontradas pelos pesquisadores objetivando amenizar seus efeitos colaterais. A curcumina (CURC), tem demonstrado bons resultados para o tratamento da artrite pois apresenta efeitos anti-inflamatórios, antioxidantes e até mesmo antitumorais. Porém, ao considerar sua baixa biodisponibilidade, uma formulação como nanoemulsão pode aumentar a sua eficácia. Estudos mostram que a CURC em nanopartículas apresenta efeitos benéficos no controle de edema artrítico, haja vista a redução da inflamação e a melhora nas alterações histológicas da artrite, contudo seus efeitos sobre as modificações renais ainda devem ser melhor esclarecidas (FAN, Z. *et al.*, 2018).

Por isso, este estudo objetivou investigar os efeitos do tratamento com curcumina livre ou nanoemulsificadas em monoterapia e em conjunto com o MTX no córtex renal de ratos submetidos à artrite induzida por adjuvante (AIA).

MATERIAIS E MÉTODOS

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Estadual de Maringá (CEUA-UEM), nº 20120702222. Utilizou-se ratos albinos da linhagem *Holtzman*, com 50 dias de idade. Os animais foram divididos em sete grupos experimentais (n=6): controle (C), artrítico (AIA), artrítico tratado com CURC livre (AIA+CL), artrítico tratado com CURC nanoemulsificadas (AIA+CN), artrítico tratado com metotrexato (AIA+MTX), artrítico tratado com CURC livre e metotrexato (AIA+CL+MTX) e artrítico tratado com CURC nanoemulsificadas e metotrexato (AIA+CN+MTX). No dia zero do tratamento, induziu-se a artrite nos ratos com Adjuvante completo de Freund (CFA) administrado intradermicamente na pata posterior esquerda. O tratamento foi realizado, via gavagem, a partir do sétimo dia de experimento, o qual o grupo C e AIA receberam diariamente apenas água, enquanto em relação a CURC, tanto os grupos que continham CURC livres quanto nanoemulsificadas, administrou-se 30 mg/kg de peso corporal diariamente. Já nos grupos tratados com MTX, o medicamento foi administrado uma vez por semana, com dose de 1 mg/kg. A nanoemulsão foi produzida pela Faculdade de Farmácia da Universidade de São Paulo (USP-Ribeirão Preto).

Para as análises histológicas, no 30º dia do tratamento foi realizada a eutanásia dos animais, os rins foram retirados, fixados em paraformaldeído a 4% e armazenados em álcool 70%. Posteriormente, desidratou-se os órgãos em bateria de álcoois, diafanizou em xilol e incluídos em parafina. Após realizar cortes semi-seriados de 5 µm de espessura em micrótomo e corados com hematoxilina e eosina (HE), foram capturadas 50 imagens/animal com o microscópio óptico (NIKON® Eclipse 80i), sendo empregadas para a contagem de densidade glomerular. Além disso foi

avaliada área de 50 glomérulos, da cápsula glomerular e do espaço de Bowman. As imagens foram analisadas no *Software Image Pro Plus* versão 4.5.0.29.

Para a análise estatística foi utilizado programa GraphPad Prisma v.8.05. Realizou-se o teste de normalidade Shapiro-Wilk. Assim para os dados com distribuição normal foi realizado a análise de variância One-Way ANOVA e pós-teste de Tukey, com resultados expressos como média \pm erro padrão. Para os dados fora da normalidade, o teste de Kruskal Wallis foi seguido pelo pós-teste de Dunns, com resultados expressos em mediana \pm intervalo de confiança. Para ambas análises o valor de p menor que 0,05 foi considerado estatisticamente significativo.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Como mostrado na figura 1, não houve diferença significativa entre os grupos C e AIA, em relação a área do espaço de Bowman, corpúsculo renal e do glomérulo ($p=0,7405$; $p=0,7336$; $p=0,2985$). Além disso, em relação a densidade glomerular, não foram encontrados resultados significativos (Tabela 1).

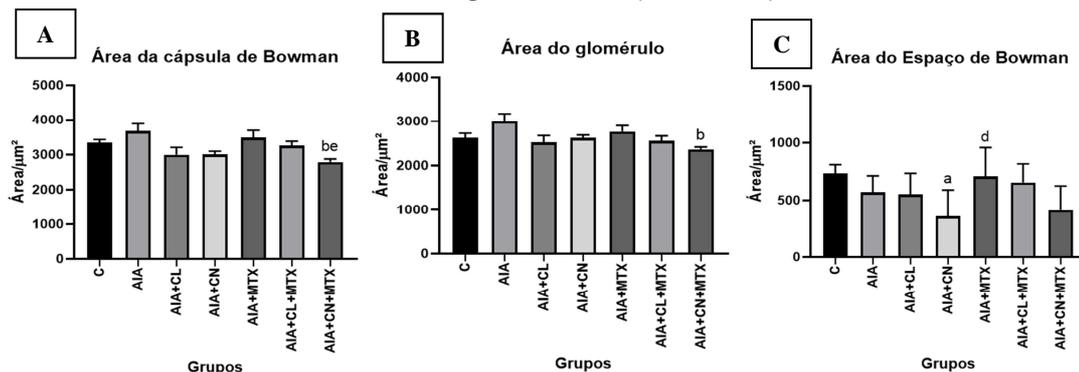


Figura 1. Morfometria da área: (A) Cápsula de Bowman. (B) Glomérulo. (C) Espaço de Bowman. Análises realizadas por One-way ANOVA, dados expressos por média \pm erro padrão. (a) $p < 0,05$ vs. C. (b) $p < 0,05$ vs. AIA. (e) $p < 0,05$ vs. AIA+MTX. (d) $p < 0,05$ vs. AIA+CN

Tabela 1. Densidade glomerular e níveis de Creatinina sérica. *One-way ANOVA, dados expressos por média \pm erro padrão ($n=6$). #Kruskal-Wallis, dados expressos em mediana \pm intervalo de confiança. ($n=5$). (a) $p < 0,05$ vs. C. (c) $p < 0,05$ vs. AIA+CL.

	C	AIA	AIA+CL	AIA+CN	AIA+MTX	AIA+CL+MTX	AIA+CN+MTX
Densidade glomerular*	110 \pm 16.77	114.5 \pm 15.87	136 \pm 17.13	113.5 \pm 18.71	134 \pm 12.44	119 \pm 28.47	122 \pm 27.07
Creatinina (mg/dL)#	0.600 \pm 0.55; 0.64	0.50 \pm 0.42; 0.55	0.60 \pm 0.54; 0.67	0.45 \pm 0.41; 0.46 ^{ac}	0.50 \pm 0.48; 0.53	0.50 \pm 0.42; 0.61	0.475 \pm 0.39; 0.54

Houve uma diminuição significativa do espaço de Bowman no grupo AIA+CN em comparação ao grupo C ($p=0,225$), característica também encontrada em casos de nefrotoxicidade (VELJKOVIĆ, M. *et al.*, 2016) e diabetes mellitus tipo I (EL AGAWANY, A. *et al.*, 2012). É possível observar, além disso, uma diminuição ténue no grupo AIA em comparação ao grupo C e uma diminuição dos grupos tratados, no entanto, esses resultados não são estatisticamente significativos.

Porém no grupo AIA+CN+MTX houve diminuição significativa na área da cápsula glomerular e do glomérulo em relação ao AIA ($p=0,0056$; $p=0,0108$) (Figura 1). Estas alterações foram opostas às encontradas em estudo com a gentamicina a qual

causa lesão aguda renal (VELJKOVIĆ, M. *et al.*, 2016), o que pode evidenciar uma melhoria da função renal.

Assim como houve redução no espaço de Bowman, também houve redução da creatinina no grupo AIA+CN comparado com o grupo C ($p= 0,0016$) (Tabela 1). Estudos sugerem que a redução da creatinina possa estar relacionada com a hiperfiltração glomerular (DIAGO, C.A.A; SEÑARIS, J.A.A., 2020), a qual sobrecarrega os glomérulos contribuindo para o desenvolvimento de doenças renais crônicas, além de servir de prognóstico para outras doenças como osteoporose densitométrica e diabetes mellitus tipo 2.

CONCLUSÕES

Nos animais artríticos a CURC nanoemulsificada reduz a área do espaço de Bowman e os níveis séricos de creatinina em ratos com AIA, indicando que o uso desta formulação deve ser melhor avaliado por meio de novos estudos para confirmar seu nível de segurança.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao CNPq pelo apoio financeiro e ao laboratório de Histotécnica/UEM.

REFERÊNCIAS

WANG, W.; ZHOU, H.; LIU, L.. Side effects of methotrexate therapy for rheumatoid arthritis: a systematic review. **European journal of medicinal chemistry**, v.158, p. 502-516, 2018. Disponível em: [sciencedirect.com/science/article/pii/S0223523418307992](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0223523418307992). Acesso em: 16 ago 2023.

FAN, Zengjie *et al.* Anti-inflammation and joint lubrication dual effects of a novel hyaluronic acid/curcumin nanomicelle improve the efficacy of rheumatoid arthritis therapy. **ACS applied materials & interfaces**, v. 10, n. 28, p. 23595-23604, 2018. Disponível em: pubs.acs.org/doi/10.1021/acsami.8b06236. Acesso em: 24 ago 2023.

VELJKOVIĆ, Milica *et al.* Morphological and morphometric study of protective effect of green tea in gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. **Life sciences**, v. 147, p. 85-91, 2016. Disponível em: [sciencedirect.com/science/article/pii/S0024320516300352](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0024320516300352). Acesso em: 18 ago 2023.

EL AGAWANY, Amany *et al.* Propolis effect on rodent models of streptozotocin-induced diabetic nephropathy. **J Am Sci**, v. 8, n. 12, 2012. Disponível em: jofamericanscience.org/. Acesso em: 16 ago 2023.

DIAGO, C.A.A; SEÑARIS, J.A.A. Should we pay more attention to low creatinine levels?. **Endocrinología, Diabetes y Nutrición (English ed.)**, v. 67, n. 7, p. 486-492, 2020. Disponível em: [sciencedirect.com/science/article/pii/S2530018020300962](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2530018020300962). Acesso em: 26 ago 2023

32º Encontro Anual de Iniciação Científica
12º Encontro Anual de Iniciação Científica Júnior



23 e 24 de Novembro de 2023