

## **DENSIDADE MÉDIA DE MASTÓCITOS NA GLÂNDULA SALIVAR PARÓTIDA DE RATOS HOLTZMAN COM ARTRITE INDUZIDA POR ADJUVANTE E TRATADOS COM METOTREXATO E CURCUMINA EM NANOPARTÍCULAS.**

Kamilly Vitória de Siqueira (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Alberto José Pelegrini, Eder Paulo Belato Alves, Yasmin Moraes Zanin, Melissa Cumani Aragão, Angela Maria Pereira Alves (Orientadora), e-mail: angela.01.com@gmail.com

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

**Área e subárea do conhecimento: Ciências Biológicas/Morfologia.**

**Palavras-chave:** mastócitos; artrite reumatoide; glândula salivar.

### **RESUMO**

A artrite reumatoide (AR) é uma doença autoimune que causa inflamação crônica nas articulações, gerando sintomas extra-articulares que podem ser observados em vários órgãos, incluindo as glândulas salivares. Frente o exposto, objetivou-se neste estudo, analisar a densidade média de mastócitos na glândula salivar parótida de ratos Holtzman com artrite induzida por adjuvante e tratados com metotrexato (MTX) e curcumina em nanopartículas (CN). 20 ratos foram distribuídos nos grupos (n=5): Controle (C), artrítico (AIA), artrítico tratado com metotrexato (AIA+MTX) e artrítico tratado com curcumina em nanopartículas e metotrexato (AIA+CN+MTX). O tratamento foi realizado, via gavagem, do 7º dia até o 30º dia após a indução da artrite. Na análise quantitativa não foi constatada alteração na quantificação de mastócitos em todos os grupos artríticos em relação aos ratos do grupo controle (C) ( $p > 0,05$ ). Esses dados permitem inferir que a artrite reumatoide (AR) não promoveu alterações na densidade média dos mastócitos e a ação isolada e/ou combinada da curcumina em nanopartículas e do MTX também não influenciou na quantificação dos mastócitos da glândula salivar parótida.

### **INTRODUÇÃO**

As principais alterações da cavidade oral associadas à artrite reumatoide (AR) avançada são a perda dentária progressiva oriunda da destruição óssea alveolar, aumento da placa bacteriana e periodontite geradas pela redução do fluxo salivar, em decorrência das alterações morfofisiológicas das glândulas salivares. Embora o

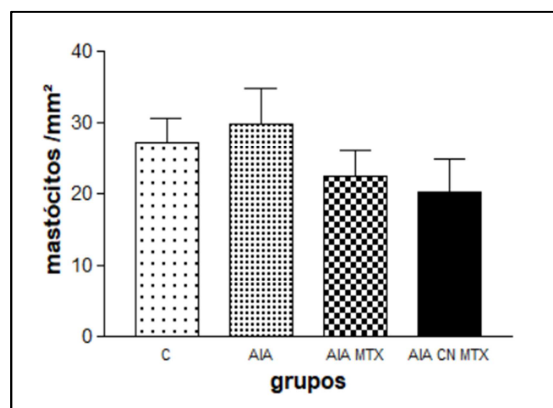
tratamento da AR possa ser proporcionado por alguns fármacos disponíveis, como o metotrexato (MTX), que é um dos medicamentos mais utilizados, os seus benefícios em relação à sintomatologia da doença, muitas vezes podem gerar inúmeros efeitos adversos. Frente a esse cenário clínico, a utilização de nanotecnologia combinada de metotrexato (MTX) e curcumina foi reportada como benéfica na redução do edema artrítico, permitindo o uso de concentrações mais baixas do MTX e maior potência na janela terapêutica. Assim, o objetivo deste estudo, foi analisar a densidade média de mastócitos na glândula salivar parótida de ratos Holtzman com artrite induzida por adjuvante e tratados com metotrexato e curcumina em nanopartículas.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Utilizou-se 20 ratos albinos da linhagem *Holtzman*, com 50 dias de idade (CEUA nº 2012070222), que foram distribuídos em 4 grupos (n=5): controle (C), artrítico (AIA), artrítico tratado com metotrexato (AIA+MTX), artrítico tratado com nanopartículas de curcumina e metotrexato (AIA+CN+MTX). A artrite foi induzida por Adjuvante completo de Freund (CFA) preparado no laboratório contendo 5% de *Mycobacterium tuberculosis* inativadas pelo calor (derivadas da cepa humana H37Rv). Os ratos dos grupos C e AIA foram tratados com veículo (água) diariamente, enquanto os ratos do grupo AIA+MTX foram tratados com 1 mg/kg/semana de MTX, e nos ratos do grupo AIA+CN+MTX foram administrados 30 mg/kg/dia de curcumina nanoencapsulada mais a dose semanal de MTX 1 mg/kg. As parótidas extraídas foram lavadas em solução salina 0,9%, e transferidas para solução fixadora contendo formol tamponado 10%. Cortes histológicos (6µm) foram corados em Giemsa. As imagens foram capturadas por câmera de alta resolução acoplada ao microscópio Olympus BX20, em um aumento de 20X, e transmitidas para microcomputador e armazenadas em arquivo digital. Das imagens capturadas, foram quantificados, pelo programa de análise de imagens *Image-Pro-Plus*, os mastócitos presentes em 50 campos por animal de cada grupo, a fim de delinear a densidade destas células. Os dados coletados foram submetidos a testes estatísticos apropriados, como análise de variância e teste de Tukey, para comparação dos aspectos quantitativos dos mastócitos glandulares entre os grupos. O nível de significância foi de 5%.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A AR não promoveu alteração na densidade média dos mastócitos da glândula salivar parótida (Figura 1), quando os grupos artríticos tratados ou não (AIA, AIA+MTX, AIA+CN+MTX) foram comparados com os ratos do grupo (C) ( $p > 0,05$ ).



**Figura 1** – Densidade média dos mastócitos da glândula parótida de ratos nos grupos: Controle (C) grupo artrítico (AIA), artrítico tratado com metotrexato (AIA+MTX) e artrítico tratado com nanopartículas de curcumina e metotrexato (AIA+CN+MTX) N= 5

Alguns estudos revelam a presença de mastócitos em glândulas salivares em diferentes mamíferos, e há indícios de que estas células estejam envolvidas com injúrias estruturais nesses tecidos, em virtude da artrite reumatoide (AR). Este fato pode ser atribuído à uma série de fatores, entre os quais se destacam: 1) a presença de triptase nos grânulos dos mastócitos, podendo estar envolvida na fibrose observada na sialodente crônica das glândulas submandibulares (EPIVATIANOS *et al.*, 2008); 2) estas células também têm sido atreladas a distúrbios inflamatórios imunes que afetam as glândulas salivares, como a síndrome de Sjögren. Esta síndrome pode estar associada à AR (HASSOLD *et al.*, 2022), uma doença autoimune multisistêmica, manifestada por processos inflamatórios crônicos articulares e extra articulares; e ambas as síndromes (isoladas ou associadas) podem apresentar sintomas de secura oral (xerostomia) e ocular (xerofthalmia), em virtude da infiltração linfocítica das glândulas salivares e lacrimais. Contudo, em nosso estudo (Figura 1), não foi constatada alteração na quantificação de mastócitos ( $p > 0,05$ ), o que é indicativo que nesta fase precoce e de progressão gradativa da doença (30 dias) e na faixa etária (50 dias), o parênquima da glândula salivar parótida possivelmente tenha recorrido à plasticidade parenquimal a fim de se regenerar de injúrias celulares iniciais devido ao processo inflamatório gerado pela AR. Cabe ressaltar que os mastócitos podem ser ativados em doenças autoimunes para expressar uma ampla variedade de citocinas e quimiocinas, e a proliferação de mastócitos produtores de histamina talvez seja modulada pela inflamação aguda local prévia, possivelmente por meio de mediadores de macrófagos e fibroblastos (KOBAYASHI; OKUNISHI, 2002), o que poderia explicar essa lacuna de tempo onde

os mastócitos ainda não tenham sido ativados. Outro fator a ser considerado é que na AR, as manifestações extra articulares atingem cerca de 40% dos indivíduos, sendo que os sintomas podem se desenvolver em dias ou evoluir ao longo de várias semanas ou meses (TALBOT, 2011). Embora nossos dados não mostrem o efeito do tratamento com metotrexato (MTX) e/ou MTX associado à curcumina em nanopartículas sobre a densidade dos mastócitos, a literatura evidencia atividades benéficas sobre o uso da curcumina, tais como: anti-inflamatório, anticarcinogênico, hepatoprotetor, trombossupressor, antiartrítico e antioxidante, as quais tem demonstrado bons resultados nesta doença.

## CONCLUSÕES

A AR não promoveu alterações na densidade média dos mastócitos durante o período de tempo aplicado no protocolo experimental, e a ação isolada e/ou combinada da curcumina em nanopartículas e do MTX também não influenciou na quantificação dos mastócitos da glândula salivar parótida.

## AGRADECIMENTOS

PIBIC/UEM e à Fundação Araucária.

## REFERÊNCIAS

EPIVATIANOS A., ZARABOUKAS T., POULOPOULOS A., HARRISON J.D. Estudo imunohistoquímico de fibroblastos e mastócitos na sialadenite submandibular crônica. *Distúrbio oral* abril de 2008;14(3):259-63.

HASSOLD, N.; SEROR, R.; MARIETTE, X.; NOCTURNE, G. Characteristics of Sjögren's syndrome associated with rheumatoid arthritis. *RMD Open*. 8(1):e002234, 2022.

KOBAYASHI, Y.; OKUNISHI, H. Mast Cells as a Target of Rheumatoid Arthritis Treatment. *Jpn. J. Pharmacol.* 90, 7 – 11, 2002.

TALBOT, J. Estudo de associação entre polimorfismos genéticos no Receptor de Hidrocarbonetos de Arila (AhR) e o desenvolvimento da Artrite Reumatoide. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade de São Paulo – São Paulo, 2011.