

## **AVALIAÇÃO DA MORFOMETRIA DOS ÁCINOS SEROSOS DA GLÂNDULA SALIVAR PARÓTIDA DE RATOS *HOLTZMAN* COM ARTRITE REUMATOIDE INDUZIDA POR ADJUVANTE E TRATADOS COM METOTREXATO(MTX) E CURCUMINA (LIVRE E EM NANOPARTÍCULA)**

Yasmin Morais Zanin (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Alberto José Pelegrini, Kamilly Vitória de Siqueira, Eder Paulo Belato Alves, Angela Maria Pereira Alves, Marli Aparecida Defani (Orientadora), e-mail: [madedfani@uem.br](mailto:madedfani@uem.br)

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

**Área e sub-área do conhecimento: Morfologia**

**Palavras-chave:** Antioxidante, imunossupressão, parênquima glandular.

### **RESUMO**

Objetivou-se neste estudo, analisar a morfometria dos ácinos serosos da glândula salivar parótida de ratos *Holtzman* com artrite reumatoide induzida por adjuvante e tratados com metotrexato (MTX) e curcumina (livre e em nanopartícula) (CEUA nº 2012070222). Para tal, trinta e cinco ratos foram distribuídos em sete grupos (n=5): Controle (C), Artrítico (AIA), Artrítico com curcumina livre (AIA+CL); Artrítico com nanopartículas de curcumina (AIA+CN); Artrítico com metotrexato (AIA+MTX); Artrítico com curcumina livre e metotrexato (AIA+CL+MTX); e, grupo artrítico com nanopartículas de curcumina e metotrexato (AIA+CN+MTX). O tratamento foi realizado, do 7º dia até o 30º dia (via gavagem) após a indução da artrite, houve suplementação diária com veículo (água), curcumina (30 mg/ kg) livre ou em nanoencapsulada, e em dose semanal, o metotrexato (1 mg/Kg). A morfometria foi avaliada medindo a área ( $\mu\text{m}^2$ ) de 100 ácinos serosos por rato, totalizando 500 ácinos por grupo, e os resultados foram expressos em  $\mu\text{m}^2$  por grupo. Observou-se uma redução significativa na área acinar média dos grupos artríticos em comparação com o grupo controle ( $p < 0.001$ ) e o tratamento com MTX, curcumina (livre ou em nanopartículas) ou a combinação desses tratamentos não foi eficaz em preservar a área média acinar da glândula parótida.

### **INTRODUÇÃO**

A secreção salivar está relacionada ao estado geral de hidratação e também pode ser afetada por doenças locais ou sistêmicas, como a Síndrome de Sjögren (SS) e a Artrite Reumatoide (AR), que podem provocar alterações nocivas no parênquima glandular, afetando sua morfologia e função. Embora o fármaco mais utilizado para o tratamento da AR seja o metotrexato (MTX), o seu uso contínuo por longos períodos podem gerar efeitos colaterais graves. Pesquisas sugerem que as nanopartículas de curcumina podem diminuir a inflamação e atenuar os efeitos adversos do metotrexato quando usadas em combinação. Diante disso, o presente estudo objetivou analisar a morfometria dos ácinos serosos da glândula salivar parótida de ratos *Holtzman* com artrite reumatoide induzida por adjuvante e tratados com metotrexato (MTX) e curcumina (livre e em nanopartícula).

## MATERIAIS E MÉTODOS

Utilizou-se 35 ratos albinos da linhagem *Holtzman*, com 50 dias de idade (CEUA nº 2012070222) que foram distribuídos em 7 grupos (n=5): Controle (C), Artrítico (AIA), Artrítico sem tratamento que recebeu apenas o veículo; Artrítico tratado com curcumina livre (AIA+CL); Artrítico tratado com nanopartículas de curcumina (AIA+CN); Artrítico tratado com metotrexato (AIA+MTX); Artrítico tratado com curcumina livre e metotrexato (AIA+CL+MTX) e Artrítico tratado com nanopartículas de curcumina e metotrexato (AIA+CN+MTX). O tratamento foi realizado, via gavagem, do 7º dia até o 30º dia após a indução da artrite por Adjuvante completo de Freund (CFA) contendo 5% de *Mycobacterium tuberculosis* inativadas pelo calor. No 30º dia após a indução da artrite, os animais foram anestesiados com cetamina (90 mg/kg) e xilazina (10 mg/kg) e submetidos à punção cardíaca, seguida de uma dose letal da mesma anestesia. Em seguida, as glândulas parótidas extraídas foram lavadas em solução salina 0,9%, e transferidas para solução fixadora contendo formol tamponado 10%. Cortes histológicos de 6 µm foram corados com HE (Hematoxilina e Eosina) e analisados com um microscópio Olympus BX20 (20X). As imagens dos ácinos foram capturadas com câmera de alta resolução acoplada ao microscópio Olympus BX20 e gravadas digitalmente. A análise, realizada com o *software* Image-Pro-Plus, mediu a área de 100 ácinos serosos por glândula/animal, totalizando 500 ácinos por grupo. Os dados foram analisados com análise de variância e o teste de *Tukey*, com nível de significância de 5%.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve redução na área acinar média da glândula parótida (Figura 1) dos ratos dos grupos artríticos tratados ou não (AIA; AIA+MTX; AIA+ CN+MTX; AIA+CL; AIA+CN; AIA+CL+MTX) ( $p < 0.001$ ) em relação a do grupo controle (C).

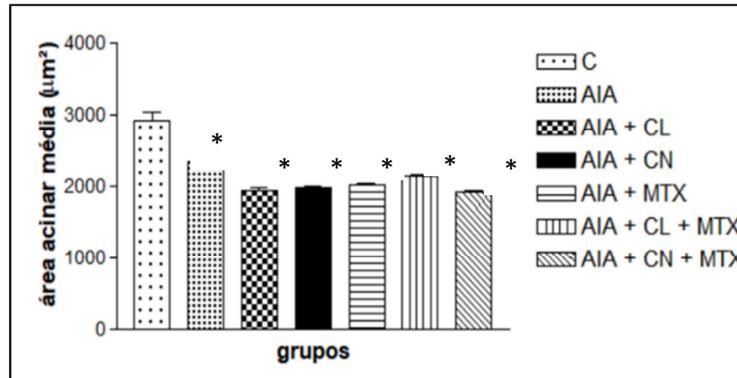


Figura 1 – Área média dos acinos serosos da glândula parótida de ratos nos grupos: Controle(C), Artrítico (AIA), artrítico com curcumina livre (AIA+CL); artrítico com nanopartículas de curcumina (AIA+CN); artrítico com metotrexato (AIA+MTX); artrítico com curcumina livre e metotrexato (AIA+CL+MTX); e, artrítico com nanopartículas de curcumina e metotrexato (AIA+CN+MTX). \*  $p < 0,001$  comparado com grupo C;  $p > 0,05$  comparados todos os outros grupos entre si

A análise morfométrica dos ácinos da glândula salivar parótida (Figura 1) nos grupos artríticos tratados ou não (AIA; AIA+MTX; AIA+ CN+MTX; AIA+CL; AIA+CN; AIA+CL+MTX) mostrou-se significativamente reduzida em relação a do grupo controle (C), o que pode ser indicativo de injúrias acinares decorrentes de processos inflamatórios característicos da AR. Yura e Hamada (2023), analisando as glândulas salivares de pacientes com AR e síndrome de Sjögren secundária, constataram infiltrações de células linfocíticas, sobretudo de linfócitos T que contribuíram para os processos inflamatórios do parênquima glandular com conseqüente destruição das células epiteliais de seus ácinos e ductos, modificando sua morfologia. Molina et al., (2006) observaram que na síndrome de *Sjögren*, havia alterações na lâmina basal das glândulas salivares labiais, o que aumenta sua vulnerabilidade.

O tratamento da AR é comumente realizado com fármacos como o metotrexato, porém os benefícios frequentemente vêm acompanhados de diversos efeitos adversos. Entre eles, destaca-se a toxicidade relacionada ao estresse oxidativo, que resulta da produção excessiva de espécies reativas de oxigênio (ROS) nos tecidos levando a alteração morfológica. Esta constatação foi feita por Abdel Fattah e Omar (2023) ao investigarem o efeito da nanocurcumina contra a toxicidade induzida pelo MTX nas glândulas submandibulares de ratos durante 7 dias. Eles observaram alterações histopatológicas e ultraestruturais nas glândulas submandibulares e concluíram que a administração de nanocurcumina foi eficaz na redução da apoptose nas glândulas salivares dos ratos submetidos ao MTX. Contudo, em nosso estudo não foi observado efeito benéfico da combinação de MTX e curcumina (seja livre ou em nanopartículas) na manutenção da área média dos ácinos serosos da glândula parótida.

Embora nossos dados não tenham mostrado efeito protetor da curcumina (livre ou em nanopartículas) para os ácinos da glândula parótida, a curcumina é reconhecida por seus efeitos biológicos e farmacológicos. Especificamente nas glândulas salivares, Kim et al. (2019) demonstraram que a curcumina protegeu e regenerou lesões causadas por radiação ionizante em camundongos, inibindo a formação de espécies reativas de oxigênio, modulando inflamação e apoptose, e aumentando a proliferação de fibroblastos devido às suas propriedades antioxidantes e mitigadoras de radiação.

## CONCLUSÕES

A AR reduziu a área média dos ácinos serosos, e o tratamento com MTX, curcumina (CL e CN) ou a combinação de ambos não foi eficaz na preservação da morfometria acinar da glândula parótida.

## AGRADECIMENTOS

PIBIC/UEM e à Fundação Araucária

## REFERÊNCIAS

ABDEL FATTAH, H.S.; OMAR, E.M. **The protective role of curcumin nanoparticles on the submandibular salivary gland toxicity induced by methotrexate in male rats.** Arch Oral Biol. 152:105717, 2023.

KIM, J.M.; KIM, J.W.; CHOI, M.E.; KIM, S.K.; KIM, Y.M.; CHOI, J.S. **Protective effects of curcumin on radioiodine-induced salivary gland dysfunction in mice.** J Tissue Eng Regen Med.13(4):674-681, 2019.

MOLINA, C.; ALLIENDE, C.; AGUILERA, S.; KWON, Y.J.; LEYTON, L.; MARTÍNEZ, B.; LEYTON, C.; PÉREZ, P.; GONZÁLEZ, M.J. **Basal lamina disorganisation of the acini and ducts of labial salivary glands from patients with Sjogren's syndrome: association with mononuclear cell infiltration.** Ann Rheum Dis. Feb;65(2):178-83, 2006.

YURA, Y.; HAMADA, M. **Outline of Salivary Gland Pathogenesis of Sjögren's Syndrome and Current Therapeutic Approaches.** Int J Mol Sci. 6;24(13):11179, 2023.