

EFEITO DO TRATAMENTO POR METOTREXATO, CURCUMINA LIVRE E NANOENCAPSULADA SOBRE A ARTRITE REUMATOIDE INDUZIDA POR ADJUVANTE EM RATOS

João Marcelo de Souza Baptista (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Karile Cristina da Costa Salomão, Nilza Cristina Buttow, Diogo Rodrigues Jimenes (Coorientador). E-mail: pg54706@uem.br. Carmem Patrícia Barbosa (Orientadora). E-mail:

cpbarbosa@uem.br.

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

Área e subárea do conhecimento: Ciências Biológicas e Morfologia.

Palavras-chave: Adjuvante completo de Freund; reumatismo; açafrão.

RESUMO

A Artrite Reumatoide (AR) é uma doença com grande prevalência em mulheres e morbimortalidade. O metotrexato (MTX) e a curcumina são alternativas no tratamento da AR, e a nanoencapsulação da curcumina surge como uma estratégia para melhorar sua eficácia. Dessa forma, o presente estudo objetivou avaliar os efeitos do uso combinado ou em monoterapia da curcumina livre, nanoencapsulada, e do metotrexato. Ratos albinos *Holtzman* foram subdivididos em grupos controle (C), artrítico (AIA), 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 metotrexato e curcumina nanoencapsulada (AIA-CN-MTX). Cortes histológicos do joelho foram corados para avaliar área e densidade numérica dos condrócitos, e espessura da cartilagem. A quantificação dos leucócitos na cavidade articular do joelho também foi feita. Os grupos AIA-CN-MTX e AIA-CL-MTX mostraram redução significativa da área dos condrócitos no fêmur e maior densidade celular na tíbia em comparação aos outros grupos. A espessura da cartilagem mostrou diferença apenas entre AIA-MTX e AIA-CL-MTX no fêmur. Houve redução em todos os grupos tratados em relação aos ratos artríticos. Diante disso, esses resultados são relevantes para compreender os efeitos dos tratamentos na saúde da cartilagem articular.

INTRODUÇÃO

A AR é uma doença inflamatória crônica que afeta cerca de 1% da população, predominando em mulheres, e é caracterizada pela inflamação da membrana sinovial, frequentemente nas articulações do joelho, levando ao aumento no risco de mortalidade precoce. Entre os tratamentos, o MTX é eficaz e seguro, enquanto a curcumina, com suas propriedades anti-inflamatórias, é estudada como alternativa terapêutica. A curcumina nanoencapsulada tem mostrado potencial para melhorar sua biodisponibilidade. Dessa forma, esse estudo objetivou avaliar os efeitos do uso isolado e combinado de curcumina, livre ou nanoencapsulada, e do MTX no tratamento da AIA na articulação do joelho.

MATERIAIS E MÉTODOS

O presente projeto foi previamente aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais desta instituição (CEUA-UEM) sob nº 2012070222. Ratos *Holtzman* com 50 dias de vida foram divididos em sete grupos: controle (C), artrítico (AIA), artrítico com curcumina livre (AIA+CL), curcumina nanoencapsulada (AIA+CN), metotrexato (AIA+MTX), curcumina livre e metotrexato (AIA+CL+MTX), e curcumina nanoencapsulada e metotrexato (AIA+CN+MTX). Os animais permaneceram no biotério setorial do Departamento de Farmacologia e Terapêutica (DFT) da Universidade estadual de Maringá (UEM) para aclimatização e indução da artrite. Na eutanásia, os joelhos esquerdos foram coletados para análise morfométrica, avaliando área total e densidade dos condrócitos, espessura da cartilagem articular e quantificação de leucócitos na cavidade articular. Os dados foram analisados com o teste de Shapiro-Wilk, ANOVA e pós-teste de *Bonferroni*, considerando $p < 0,05$ como significativo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados indicaram aumento da área dos condrócitos no grupo AIA comparado ao grupo controle na cartilagem do fêmur ($p=0,0070$) e da tíbia ($p>0,05$). Houve redução significativa dessa área nos grupos AIA+CL ($p=0,0041$), AIA+MTX ($p=0,0001$), e AIA+CL+MTX ($p=0,0022$) em relação ao grupo AIA. No grupo AIA+CN+MTX, a área dos condrócitos foi menor do que no AIA ($p<0,0001$) e também no AIA+CN ($p=0,0202$). Houve redução na área dos condrócitos nos grupos AIA+CL ($p=0,0146$), AIA+MTX ($p=0,0055$), AIA+CL+MTX ($p=0,05$), AIA+CN ($p<0,0001$) e AIA+CN+MTX ($p<0,0001$) em relação ao AIA. Também houve diferença significativa entre o controle e AIA+CL+MTX ($p=0,0097$).

Nesse contexto, os dados indicaram que a área dos condrócitos foi maior nos grupos artríticos, evidenciando hipertrofia destas células de maneira associada à inflamação. Assim, nossos resultados demonstraram efeito antioxidativo e inibitório da curcumina e do MTX sobre as células da inflamação (Rinkunaite et al., 2021).

Os grupos AIA+CL+MTX e AIA+CN+MTX mostraram maior densidade de condrócitos que o AIA ($p=0,0382$ e $p=0,0224$, respectivamente). O grupo AIA+CL+MTX teve densidade maior que o AIA+MTX ($p=0,0281$). Na cartilagem da tíbia, o grupo AIA+CN+MTX apresentou maior densidade de condrócitos comparado aos grupos Controle ($p=0,0010$), AIA ($p=0,0003$), AIA+CL ($p=0,0012$), AIA+MTX ($p=0,0085$), AIA+CL+MTX ($p=0,0063$) e AIA+CN ($p=0,0253$).

A senescência celular pode ser influenciada por estresse oxidativo e inflamação crônica. Esses fatores promovem a formação de condrócitos senescentes, que apresentam redução na resposta proliferativa e anabólica aos fatores de crescimento. Com o envelhecimento, a senescência dos condrócitos pode contribuir para a diminuição do número de células devido ao aumento da morte celular (Campisi, 2005). Nossos resultados indicam que os tratamentos utilizados aumentaram a densidade dos condrócitos, sugerindo impacto positivo na redução da senescência relacionada à inflamação. Quanto à espessura da cartilagem, diferenças significativas foram encontradas apenas no fêmur, nos grupos AIA+MTX e AIA+CL+MTX ($p=0,0058$).

O grupo AIA teve aumento dos leucócitos na cavidade articular comparado ao controle ($p<0,0001$). Houve redução de leucócitos nos grupos AIA+CL ($p=0,0003$), AIA+MTX ($p<0,0001$), AIA+CL+MTX ($p<0,0001$), AIA+CN ($p<0,0001$) e AIA+CN+MTX ($p<0,0001$) em relação ao AIA. Diferenças significativas foram observadas entre os grupos AIA+MTX ($p<0,0001$), AIA+CL+MTX ($p<0,0001$), AIA+CN ($p=0,0001$) e AIA+CN+MTX ($p<0,0001$) comparados ao AIA+CL, e entre AIA+MTX e AIA+CN ($p=0,01$) e AIA+CN e AIA+CN+MTX ($p=0,0182$).

Os resultados mostraram uma redução de leucócitos na cavidade articular nos grupos AIA+CL, AIA+MTX, AIA+CL+MTX, AIA+CN, e AIA+CN+MTX, devido às propriedades anti-inflamatórias e imunomoduladoras das substâncias utilizadas. A curcumina pode inibir citocinas pró-inflamatórias o NF- κ B, reduzindo a ativação de leucócitos (Zhou; Beevers; Huang, 2011), enquanto o MTX atua como antimetabólito e aumenta a liberação de adenosina, diminuindo a migração e a ativação de leucócitos (Friedman; Cronstein, 2018). Assim, a combinação desses agentes pode potencializar a redução dos leucócitos e aliviar a inflamação.

CONCLUSÃO

Em conjunto, nossos resultados indicam que a combinação de curcumina e metotrexato melhora a preservação da estrutura articular e modula a resposta inflamatória de forma mais eficazmente do que o uso em monoterapia destes fármacos. Assim, a combinação mostra excelente potencial como abordagem terapêutica para o tratamento da AR.

AGRADECIMENTOS

Os agradecimentos são direcionados ao CNPQ pelo financiamento do projeto PIBIC, à professora Dra. Carmem Patrícia Barbosa e ao Ms. Diogo Rodrigues Jimenes por toda a orientação e apoio recebido.

REFERÊNCIAS

CAMPISI, J. Senescent Cells, Tumor Suppression, and Organismal Aging: Good Citizens, Bad Neighbors. **Cell**, v. 120, n. 4, p. 513–522, fev. 2005.

FRIEDMAN, B.; CRONSTEIN, B. Methotrexate mechanism in treatment of rheumatoid arthritis. **Joint Bone Spine**, v. 86, n. 3, ago. 2018.

PRABHA, J. et al. Nano-platform Strategies of Herbal Components for the Management of Rheumatoid Arthritis: A Review on the Battle for Next-Generation Formulations. **Current Drug Delivery**, v. 21, n. 8, p. 1082–1105, 1 out. 2024.

RINKUNAITE, I. et al. Anti-inflammatory effect of different curcumin preparations on adjuvant-induced arthritis in rats. **BMC Complementary Medicine and Therapies**, v. 21, n. 1, 21 jan. 2021.

ZHOU, H.; S. BEEVERS, C.; HUANG, S. The Targets of Curcumin. **Current Drug Targets**, v. 12, n. 3, p. 332–347, 1 mar. 2011.