

## **CURCUMINA RESTAURA A ESPESSURA DA PAREDE ALVEOLAR ALTERADA PELA ARTRITE INDUZIDA POR ADJUVANTE EM RATOS**

Bruna Peres Arns (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Karile Cristina da Costa Salomão (PBC/UEM), Melissa Cumani Aragão (PBF/UEM), Luciana Facco Dalmolin (FCF/USP), Janette Betzabeth Villarruel Muñoz (FCF/USP), Renata Fonseca Vianna Lopez (FCF/USP), Robero Kenji Nakamura Cuman (DFT/UEM), Nilza Cristina Buttow (Orientadora). E-mail: ra130285@uem.br

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

### **Morfologia/Histologia**

**Palavras-chave:** Metotrexato; Nanoemulsão; Pulmão

### **RESUMO**

A artrite reumatoide (AR) é uma inflamação na membrana sinovial das articulações com ação sistêmica que pode, inclusive, estar associada a doenças pulmonares e que aumentam o risco de mortalidade do paciente. Assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar o uso de curcumina livre (CL) ou nanoemulsificada (CN) de forma isolada ou associada com metotrexato (MTX) sobre a morfometria dos alvéolos pulmonares de ratos com artrite induzida por adjuvante (AIA). Manuseou-se 42 ratos albinos machos (n=6) da linhagem *Holtzman* divididos em 7 grupos: controle (CONT); artrítico induzido por adjuvante (AIA); artrítico tratado com curcumina livre (AIA+CL); artrítico tratado com nanopartículas de curcumina (AIA+CN); artrítico tratado com MTX (AIA+MTX); artrítico tratado com curcumina livre e MTX (AIA+CL+MTX); artrítico tratado com nanopartículas de curcumina e MTX (AIA+CN+MTX). Foram analisadas as medidas da espessura da parede e a área dos alvéolos pulmonares. Sendo assim, os resultados mostraram que a AIA causou a diminuição no diâmetro da parede dos alvéolos pulmonares e o tratamento apenas com MTX não alterou esse prejuízo pulmonar. Entretanto, no tratamento com a curcumina tanto na forma livre como em nanoemulsão, associada ou não ao MTX, a morfometria da parede dos alvéolos foi revertida à normalidade. A AIA diminuiu a espessura da parede do alvéolo e o tratamento com curcumina associada ou não com MTX é capaz de restaurar este parâmetro a normalidade.

### **INTRODUÇÃO**

Caracterizada especialmente pela inflamação na membrana sinovial das articulações, a artrite reumatoide (AR) é uma doença autoimune crônica que causa

dor e deformidade nos tecidos cartilaginoso e ósseo (ANTON *et al.*, 2024). A AR tem manifestações por todo organismo, como no caso dos pulmões onde causa doenças pulmonares intersticiais (DPI), hemorragia alveolar difusa, nódulos reumatóides e pneumonite são algumas das doenças pulmonares. Essas doenças aumentam o risco de mortalidade de pacientes reumáticos, podendo ser causadas por manifestações extra-articulares ou por efeitos adversos dos medicamentos usados para o tratamento com, por exemplo, metotrexato (MTX) (KOU *et al.*, 2023). O MTX é um medicamento utilizado como primeira escolha no tratamento padrão global da AR, pois apresenta boa eficácia e um baixo custo. Porém, o tratamento com MTX pode desencadear outras complicações no organismo, como a DPI e a pneumonite, hipersensibilidade e efeitos citotóxicos (HUANG *et al.*, 2023). Sendo assim, o uso de um composto antioxidante e anti-inflamatório, como a curcumina, associado ao tratamento pode ser de grande ajuda contra esses efeitos adversos do fármaco. Porém, a curcumina é classificada como um composto de baixa absorção pelo organismo, sendo assim, sua administração na forma de nanoemulsão possui como vantagem aumentar a absorção do composto, amplificando sua biodisponibilidade. Assim, esse projeto teve como objetivo avaliar o uso de curcumina livre (CL) ou nanoemulsificada (CN) de forma isolada ou associada ao tratamento com metotrexato (MTX) sobre a morfometria dos alvéolos pulmonares de ratos com artrite induzida por adjuvante.

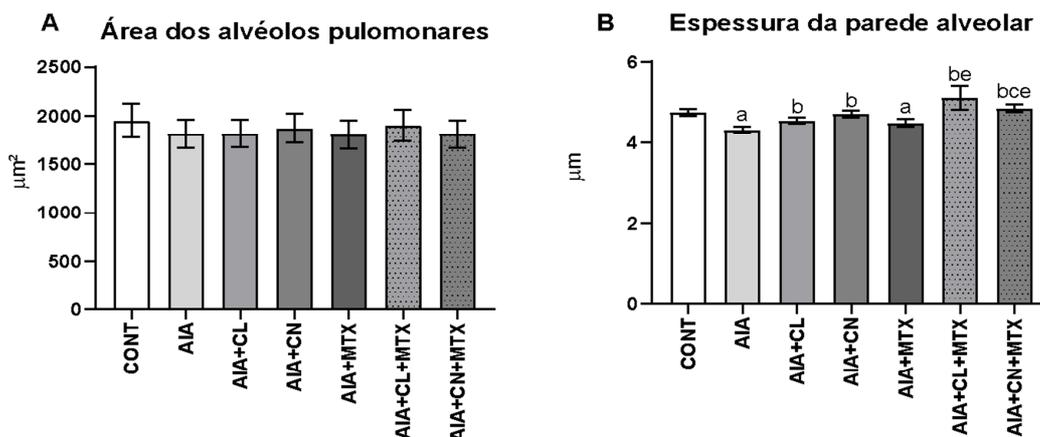
## MATERIAIS E MÉTODOS

Todos os experimentos foram aprovados pela Comissão de Ética do Uso de Animais da Universidade Estadual de Maringá - CEUA nº 2012070222. Foram usados 42 ratos albinos da linhagem *Holtzman* machos com 50 dias de idade, sendo utilizado um n=6 para 7 grupos: controle (CONT); artrítico induzido por adjuvante (AIA); artrítico tratado com curcumina livre (AIA+CL); artrítico tratado com nanopartículas de curcumina (AIA+CN); artrítico tratado com MTX (AIA+MTX); artrítico tratado com curcumina livre e MTX (AIA+CL+MTX); artrítico tratado com nanopartículas de curcumina e MTX (AIA+CN+MTX). A indução da artrite ocorreu por injeção intradérmica de adjuvante completo de Freud (CFA) na pata posterior esquerda dos animais. O tratamento foi realizado do 7º ao 29º dia após a indução da artrite, realizado via gavagem. No 30º dia, realizou-se a pesagem dos animais e a eutanásia com dose letal de ketamina e xilazina, sendo submetidos à toracotomia para retirada do pulmão. O pulmão direito foi fixado em paraformaldeído 4% (pH 7,4) e armazenado em álcool 70%. Os tecidos passaram por uma bateria de álcoois, diafanização em xilol e inclusão em parafina. Os blocos de parafina foram cortados em micrótomo com 5 µm, 5 cortes por lâmina e coradas com hematoxilina-eosina (HE). Ademais, foram capturadas mais 30 imagens por animal, na objetiva de 40X para medir a área e a espessura da parede dos alvéolos pulmonares. As imagens

obtidas foram analisadas por meio do Software Image Pro Plus. A análise estatística foi realizada no programa GraphPad Prisma v.8.05. Realizou-se o Teste Mann-Whitney; resultados expressos em mediana  $\pm$  intervalo de confiança e valor de  $p$  menor que 0,05 foi considerado estatisticamente significativo.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Analisando a área dos alvéolos na figura 1 A, não foi obtida nenhuma diferença significativa. Enquanto na análise da espessura das paredes alveolares (figura 1 B), nota-se uma diminuição nos grupos AIA ( $p=0,0001$ ) e AIA+MTX ( $p=0,0328$ ) quando comparados com o grupo CONT. Já os grupos AIA+CL ( $p=0,033$ ), AIA+CN ( $p=0,0012$ ), AIA+CL+MTX ( $p=0,0099$ ) e AIA+CN+MTX ( $p < 0,0001$ ) apresentaram aumento da espessura comparados com o grupo AIA. Além disso, o grupo AIA+CN+MTX ( $p = 0,011$ ) apresentou maior espessura da parede dos alvéolos em relação ao grupo AIA+CL e os grupos AIA+CL+MTX ( $p=0,0459$ ) e AIA+CN+MTX ( $p = 0,045$ ) aumentaram em relação ao grupo AIA+MTX.



**Morfometria dos alvéolos pulmonares de ratos submetidos a AIA.** (A) Área dos alvéolos pulmonares expressa em  $\mu\text{m}^2$ . (B) Média da espessura da parede dos alvéolos pulmonares; expressos em  $\mu\text{m}$ . ( $n=6$ ). Teste Mann-Whitney; resultados expressos em mediana  $\pm$  intervalo de confiança. Grupos: CONT: controle; AIA: artrite induzida por adjuvante; AIA+CL: artrite induzida por adjuvante + curcumina livre; AIA+CN: artrite induzida por adjuvante + curcumina nanoemulsificada; AIA+MTX: artrite induzida por adjuvante + metotrexato; AIA+CL+MTX: artrite induzida por adjuvante + curcumina livre+ metotrexato; AIA+CN+MTX: artrite induzida por adjuvante + curcumina nanoemulsificada + metotrexato. (a) Grupo com  $p < 0,05$  vs grupo CONT; (b) Grupo com  $p < 0,05$  vs grupo AIA; (c) Grupo com  $p < 0,05$  vs grupo AIA+CL; (e) Grupo com  $p < 0,05$  vs grupo AIA+MTX.

Com base nesses resultados nota-se que a AIA ocasionou uma redução da espessura da parede dos alvéolos. Em outras doenças, como a disfunção pulmonar, também podem apresentar redução na espessura do septo alveolar, que pode ter como causa a ação da pressão positiva ao final da expiração sobre os alvéolos (DE

OLIVEIRA, 2009). Sendo assim, a alteração da estrutura alveolar pode resultar em diminuição da função do órgão, o que leva à menor eficácia das trocas gasosas no pulmão (SANAR, 2023). No entanto, observamos que a curcumina foi eficaz em amenizar estas alterações sendo, desta forma, uma alternativa de tratamento para amenizar os danos ocasionados pela artrite no pulmão.

## CONCLUSÕES

Pode-se concluir que o tratamento com a curcumina, livre e nanoemulsificada, usada em monoterapia ou associada com o MTX restaura a morfometria da parede dos alvéolos pulmonares promovidas pela AIA.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço à Universidade Estadual de Maringá (UEM), ao Laboratório de Histologia da UEM, ao CNPq, ao Laboratório de Inflamação da UEM e à Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP Ribeirão Preto pelo apoio ao longo do projeto.

## REFERÊNCIAS

ANTON, M. L. *et al.* The Lung in Rheumatoid Arthritis-Friend or Enemy? **International molecular sciences**, v. 25, n.12, p. 6460, 12 jun. 2024. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC11203675/>. Acesso em: 22 ago. 2024.

DE OLIVEIRA, W. R. S. *et al.* Aspectos histomorfológicos e respiratórios em modelo de lesão pulmonar aguda por sepse em ratos tratados com pentoxifilina. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 55, n.2, 2009. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/ramb/a/7kMNgSFBwhY7v6h9gbYMPYk/abstract/?lang=pt#>. Acesso em: 22 ago. 2024.

KOU, H. *et al.* Effect of curcumin on rheumatoid arthritis: a systematic review and meta-analysis. **Frontiers in Immunology**, v. 14, 31 mai. 2023. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10264675/>. Acesso em: 22 ago.2024.

SANAR, 8 de ago. 2023. Disponível em: <https://sanarmed.com/doenca-pulmonar-tipos-principais-sintomas-diagnostico-e-manejo-sanarflix/>. Acesso em: 22 de ago. 2024.