

ANÁLISE QUANTITATIVA DOS ÁCINOS SEROSOS DA GLÂNDULA SALIVAR PARÓTIDA DE RATOS *HOLTZMAN* COM ARTRITE INDUZIDA POR ADJUVANTE E TRATADOS COM METOTREXATO (MTX) E CURCUMINA (LIVRE E EM NANOPARTÍCULAS)

Fernanda Isabely Morgan Magalhães (PIBIC-AF-IS/CNPq-FA/UEM), Alberto José Pelegrini, Yasmin Moraes Zanin, Éder Paulo Belato Alves, Angela Maria Pereira Alves, Nilza Cristina Buttow (Orientador). E-mail: ncbuttow@uem.br

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

Área e subárea do conhecimento: Ciências biológicas / Morfologia

Palavras-chave: antioxidante; artrite; glândula salivar.

RESUMO

Este estudo teve como objetivo analisar a densidade média dos ácinos serosos da glândula parótida em ratos *Holtzman* com artrite induzida por adjuvante, tratados com metotrexato (MTX) e curcumina (na forma livre ou nanoencapsulada). 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 (1mg/Kg). Houve redução significativa da densidade acinar nos grupos AIA, AIA+CL, AIA+CN e AIA+CN+MTX em relação ao controle ($p<0,001$). Por outro lado, os grupos AIA+MTX e AIA+CL+MTX não diferiram do controle ($p>0,05$). Em comparação ao grupo AIA, apenas AIA+MTX ($p<0,001$) e AIA+CL+MTX ($p<0,01$) demonstraram preservação significativa da densidade acinar. Os demais tratamentos não apresentaram efeito relevante ($p>0,05$). Conclui-se que o MTX, isolado ou associado à curcumina livre, foi eficaz em preservar a integridade acinar, enquanto os demais protocolos não mostraram benefício evidente.

INTRODUÇÃO

A artrite reumatoide (AR), além de comprometer articulações, pode afetar as glândulas salivares, mesmo estando associada ou não à síndrome de Sjögren. A busca por terapias eficazes imperativa. O metotrexato (MTX) permanece como fármaco de primeira linha, devido à eficácia, baixo custo e perfil de segurança favorável (Tian & Cronstein, 2007). Compostos adjuvantes, como a curcumina, com ampla atividade biológica, podem complementar a terapêutica convencional. Assim, objetivou-se nesse estudo analisar a densidade média dos ácinos serosos da

glândula salivar parótida de ratos *Holtzman* com artrite induzida por adjuvante e tratados com metotrexato (mtx) e curcumina (livre e em nanopartículas) sobre a densidade média dos ácinos serosos.

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. As parótidas extraídas foram lavadas em solução salina 0,9% e fixadas em formol tamponado 10%. Cortes histológicos de 6 µm foram corados com HE e as lâminas obtidas foram capturadas, de forma cega, em microscópio óptico NIKON® Eclipse 80i (em aumento de 20X) acoplado a uma câmera de alta resolução (Nikon®, Ds-Fi1c) e conectado a um computador com software NIS-Elements (versão 4.0). As imagens obtidas foram armazenadas em arquivo digital e então analisadas no Software Image Pro Plus® 4.5 (Media Cybernetics; versão 4.0) por um único observador. Foram quantificados ácinos serosos presentes em 20 campos por animal, de cada grupo, a fim de delinear a densidade média dos mesmos. Os dados foram analisados por ANOVA, seguida do teste de Tukey, adotando-se nível de significância de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve redução significativa na densidade acinar nos grupos AIA, AIA+CL, AIA+CN e AIA+CN+MTX em relação ao controle ($p < 0,001$). Nos grupos AIA+MTX e AIA+CL+MTX, a densidade acinar não diferiu significativamente do controle ($p > 0,05$). Comparados ao grupo AIA, os grupos AIA+MTX ($p < 0,001$) e AIA+CL+MTX ($p < 0,01$) apresentaram menor perda acinar. Os grupos AIA+CL, AIA+CN e AIA+CN+MTX não apresentaram diferenças significativas em relação ao grupo AIA ($p > 0,05$), (Figura 1).

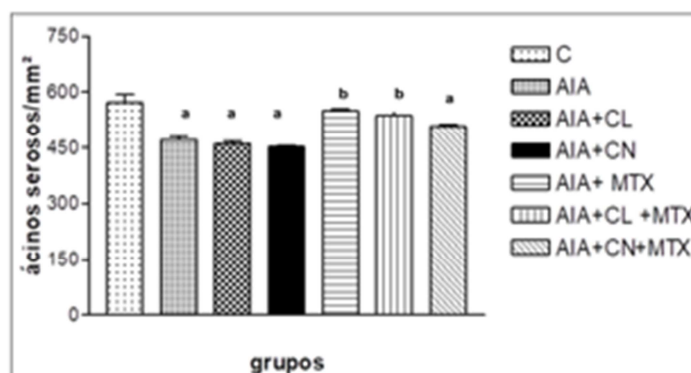


Figura 1 – Densidade média dos ácinos serosos da glândula parótida de ratos nos grupos: Controle(C), Artrítico (AIA), artrítico com curcumina livre (AIA+CL); artrítico com nanopartículas de curcumina (AIA+CN); artrítico com metotrexato (AIA+MTX); artrítico com curcumina livre e metotrexato (AIA+CL+MTX); e, artrítico com nanopartículas de curcumina e metotrexato (AIA+CN+MTX). a: $p < 0,05$ comparado com grupo C; b: $p < 0,05$ comparado com grupo AIA.

A densidade média acinar da glândula salivar parótida (Figura 1) nos grupos artríticos tratados ou não (AIA; AIA+CL; AIA+CN; AIA+CN+MTX) mostrou-se significativamente reduzida em relação as do grupo controle (C), apontando para injúrias no parênquima glandular que poderiam estar atreladas a processos inflamatórios característicos da artrite reumatoide (AR). Esta doença, especialmente quando associada à síndrome de Sjögren secundária, pode cursar com xerostomia e xeroftalmia devido à infiltração linfocitária das glândulas salivares e lacrimais (Barsottini *et al.*, 2023). Yura e Hamada (2023) relataram predomínio de linfócitos T nas glândulas salivares desses pacientes, implicando-os na inflamação local e na destruição epitelial de ácinos e ductos.

Apesar dos efeitos adversos decorrentes do uso prolongado, o metotrexato (MTX) mantém-se como primeira escolha terapêutica na AR, tendo em vista suas propriedades antimetabólicas, anti-inflamatórias, imunossupressoras e pró-apoptóticas. Além disso, estratégias adjuvantes, como a curcumina, tanto na sua forma livre como em nanoemulsão têm demonstrado eficácia em mitigar danos teciduais, devido às suas propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias. Em nosso modelo experimental, os grupos AIA+MTX e AIA+CL+MTX apresentaram preservação acinar semelhante ao grupo controle (C). Kim *et al.* (2019) observaram que a curcumina protegeu as glândulas salivares contra lesões por radiação, inibindo espécies reativas de oxigênio (EROs), modulando inflamação e apoptose, e estimulando a proliferação de fibroblastos.

Quanto ao MTX, Wolff *et al.* (1989) não identificaram efeitos agudos citotóxicos na glândula parótida ou mucosa oral de ratos, 18 horas após administração intraperitoneal de 15 mg/kg, tanto in vivo quanto in vitro, sugerindo ausência de toxicidade imediata em tecidos de renovação rápida como a mucosa, ou lenta como a parótida.

Embora a curcumina nanoencapsulada (CN) apresente biodisponibilidade superior à curcumina livre (CL), seu uso isolado ou em associação com o MTX não foi suficiente para preservar a densidade acinar média nos grupos AIA+CL, AIA+CN

e AIA+CN+MTX, em comparação ao grupo AIA; indicando que estes tratamentos não foram capazes de reverter completamente as alterações inflamatórias induzidas pela AIA no parênquima da glândula parótida.

CONCLUSÕES

O tratamento com MTX, isolado ou associado à CL, preservou a densidade acinar da glândula parótida em níveis semelhantes ao grupo controle. Por outro lado, CL e CN em monoterapia, bem como CN combinada ao MTX, não impediram a perda acinar em ratos artríticos, indicando eficácia limitada desses protocolos frente às lesões glandulares induzidas pela AIA.

AGRADECIMENTOS

PIBIC/UEM e à Fundação Araucária.

REFERÊNCIAS

BARSOTTINI, O. G. P.; MORAES, M. P. M.; FRAIMAN, P. H. A.; MARUSSI, V. H. R.; SOUZA, A. W. S.; BRAGA NETO, P.; SPITZ, M. Sjogren's syndrome: a neurological perspective. **Arquivos de neuro-psiquiatria**, Rio de Janeiro, v. 81, n. 12, p. 1077–1083, 2023. DOI: 10.1055/s-0043-1777105. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10756846>. Acesso em: 04 de ago. 2025.

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**, v. 13, n. 4, p. 674-681, fev. 2019. DOI: 10.1002/term.2833. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30801961>. Acesso em: 04 de ago. 2025.

TIAN, H.; CRONSTEIN, B.N. Understanding the mechanisms of action of methotrexate: Implications for the treatment of rheumatoid arthritis. **Bull NYU Hosp Jt Dis**, v. 65, n. 3, p. 168–73, ago. 2007. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17922664>. Acesso em: 04 de ago. 2025.

WOLFF, A.; MOREIRA, J.; MARMARY, Y.; & FOX, P. C. Lack of acute effects of methotrexate on rat parotid salivary gland function. **Archives of oral biology**, v. 34, n. 2, p. 109–115, 1989. DOI: 10.1016/0003-9969(89)90134-9. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2783044/> Acesso em: 04 de ago. 2025.

YURA, Y.; HAMADA, M. Outline of Salivary Gland Pathogenesis of Sjögren's Syndrome and Current Therapeutic Approaches. **Int J Mol Sci**, Suíça, v. 24, n. 13, p. 11179, 2023. DOI: 10.3390/ijms241311179. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37446355/>. Acesso em: 04 de ago. 2025.