

EFEITOS DA ARTRITE INDUZIDA POR ADJUVANTE E DO TRATAMENTO COM METOTREXATO (MTX) E CURCUMINA (LIVRE E EM NANOPARTÍCULAS) SOBRE A DENSIDADE MÉDIA DOS DUCTOS ESTRIADOS DA GLÂNDULA SALIVAR SUBMANDIBULAR DE RATOS *HOLTZMAN*

Alberto José Pelegrini (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Yasmin Moraes Zanin, Fernanda Errero Porto Saporoli, Kamilly Vitória de Siqueira, Angela Maria Pereira Alves, Éder Paulo Belato Alves (Orientador), e-mail: epbalves@uem.br

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

Área e subárea do conhecimento: Morfologia

Palavras-chave: glândula submandibular; nanopartículas; artrite reumatoide.

RESUMO

Estudos experimentais com modelos de artrite induzida por adjuvante (AIA), têm sido utilizados para investigar possíveis repercussões sistêmicas da doença, incluindo o comprometimento da função e estrutura das glândulas salivares. Nesse contexto, objetivou-se neste estudo avaliar os efeitos da artrite induzida por adjuvante e do tratamento com metotrexato (MTX) e curcumina (livre e em nanopartículas) sobre a densidade média dos ductos estriados da glândula salivar submandibular de ratos *Holtzman*. 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 com suplementação diária com veículo (água), curcumina (30 mg/ kg) livre ou em nanoencapsulada, e metotrexato (1mg/Kg) em dose semanal. A análise quantitativa não revelou diferenças estatisticamente significativas ($p > 0,05$) entre os grupos avaliados. No modelo de artrite induzida por adjuvante, os tratamentos com MTX, curcumina (livre ou nanoencapsulada) e suas combinações não promoveram alterações relevantes na densidade média dos ductos estriados da glândula submandibular durante o período de intervenção de 30 dias.

INTRODUÇÃO

A associação do metotrexato (MTX) com curcumina, seja em sua forma livre ou nanoencapsulada, configura-se como uma abordagem terapêutica promissora no tratamento da artrite reumatoide (AR), com potencial não apenas para atenuar a inflamação sistêmica, mas também para resguardar a integridade funcional das glândulas salivares (ABDEL; OMAR, 2023). Contudo, os impactos isolados e sinérgicos desses compostos em outros sistemas orgânicos ainda permanecem

pouco elucidados, ressaltando a necessidade de estudos complementares para ampliar a compreensão de seus efeitos sistêmicos. Assim, o objetivo deste estudo, foi avaliar os efeitos da artrite induzida por adjuvante e do tratamento com metotrexato (MTX) e curcumina (livre e em nanopartículas) sobre a densidade média dos ductos estriados da glândula salivar submandibular de ratos *Holtzman*.

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 glândulas submandibulares extraídas foram lavadas em solução salina 0,9% e fixadas em formol tamponado 10%. Cortes histológicos de 6 µm foram corados com Hematoxilina-Eosina (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 todos os ductos estriados das glândulas submandibulares em 20 imagens capturadas por glândula/animal. Os dados foram analisados por ANOVA, seguida do teste de Tukey, adotando-se nível de significância de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A indução de artrite por adjuvante (AIA) não promoveu alterações significativas ($p > 0,05$) na densidade média dos ductos estriados da glândula salivar submandibular em relação ao grupo controle (C), assim como os diferentes regimes terapêuticos com metotrexato (MTX), curcumina livre (CL), curcumina nanoencapsulada (CN) ou suas combinações também não resultaram em diferenças significativas detectáveis no parâmetro avaliado (Figura 1).

A função primordial do sistema de ductos, intercalares, estriados e excretores é conduzir e alterar a saliva primária através de secreção e reabsorção de eletrólitos e secreção de glicoproteínas; além de outras funções cruciais na renovação celular do parênquima. Todavia, pacientes com artrite reumatoide podem desenvolver sobreposição com a síndrome de Sjögren secundária e, independentemente dessa associação, frequentemente apresentam alterações nas glândulas salivares, caracterizadas por redução das unidades secretoras, infiltração linfocitária intensa ao redor dos ductos estriados (VERSTAPPEN, et al., 2021), inflamação difusa,

substituição por tecido adiposo e formação de fibrose (YIN, et al., 2021). Em nosso estudo, a análise da densidade média dos ductos estriados da glândula salivar submandibular (Figura 1) manteve-se inalterada nos grupos artríticos tratados ou não (AIA; AIA+MTX; AIA+CN+MTX; AIA+CL; AIA+CN; AIA+CL+MTX) quando comparada a do grupo controle (C). A manutenção da densidade média dos ductos estriados da glândula submandibular, mesmo no grupo (AIA) sem tratamento, é sugestiva de que, nesta fase inicial e de progressão gradual da doença (30 dias) e dentro da faixa etária analisada (50 dias), o parênquima glandular provavelmente ainda não tenha sofrido injúrias celulares expressivas desencadeadas pelo processo inflamatório característico da AR. Outro fator a ser considerado, quanto à manutenção da densidade dos ductos estriados, é que Ohlsson et al. (2002) relatam que as células do ducto estriado das glândulas salivares são mais resistentes à apoptose, diante das alterações causadas pela síndrome de Sjögren.

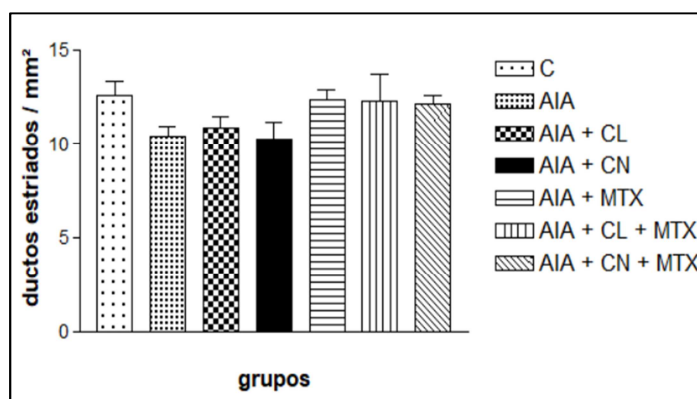


Figura 1 – Densidade média dos ductos estriados da glândula submandibular de ratos nos grupos: Controle (C), Artrítico (AIA), Artrítico sem tratamento que recebeu apenas o veículo; Artrítico tratado com curcumina livre (AIA+CL); Artrítico tratado com nanopartículas de curcumina (AIA+CN); Artrítico tratado 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). Não houve diferença estatística significativa entre os grupos ($p > 0,05$).

É importante ressaltar que, embora nossos resultados não tenham demonstrado efeitos significativos do tratamento com metotrexato (MTX), seja administrado isoladamente ou em combinação com curcumina (na forma livre ou nanoencapsulada), sobre as glândulas submandibulares no intervalo de 30 dias; relatos prévios em modelos de artrite demonstraram benefício dessa associação, principalmente quando direcionada ao microambiente articular (SYED et al., 2019), sugerindo que a eficácia da formulação pode estar relacionada ao perfil de distribuição farmacocinética. Assim, a ausência de alterações histológicas em glândulas salivares pode refletir o fato de que essas formulações foram concebidas para atingir prioritariamente o tecido sinovial.

Em conjunto, os achados deste estudo reforçam a hipótese de que a glândula submandibular, no período de 30 dias, apresenta relativa resistência a alterações precoces induzidas pela inflamação sistêmica no modelo de AIA, e que os

tratamentos testados, apesar de clinicamente relevantes para o manejo da AR, não modulam significativamente a arquitetura parenquimal glandular nesse contexto.

CONCLUSÕES

A indução de artrite por adjuvante (AIA) não alterou significativamente a densidade média dos ductos estriados da glândula submandibular e os diferentes regimes terapêuticos avaliados MTX, curcumina livre, curcumina nanoencapsulada e suas combinações também não promoveram modificações nesse parâmetro.

AGRADECIMENTOS

PIBIC/UEM e à Fundação Araucária.

REFERÊNCIAS

ABDEL, F. H.S.; OMAR, E.M. "The protective role of curcumin nanoparticles on the submandibular salivary gland toxicity induced by methotrexate in male rats." Archives of oral biology vol. 152 105717, 2023. Disponível em:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37182319/> Acesso em: 22/08/2025

OHLSSON, M.; SZODORAY, P.; LORO, L.L.; JOHANNESSEN, A.C.; JONSSON, R. CD40, CD154, Bax and Bcl-2 expression in Sjögren's syndrome salivary glands: a putative anti-apoptotic role during its effector phases. Scand J Immunol. 56(6):561-71, 2002. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12472667/> Acesso em: 27 de agosto de 2025.

SYED, A.; KARWA, P.; VEMULA, K.D.; SALWA. Multifunctional nanoparticles encapsulating methotrexate and curcumin for holistic management of rheumatoid arthritis: *in-vitro* and pre-clinical assessment. Drug Dev Ind Pharm.49(8):536-549, 2023. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37551958/> Acesso em: 27 de agosto de 2025.

VERSTAPPEN, G.M.; PRINGLE, S.; BOOTSMA, H.; KROESE, F.G.M. Epithelial-immune cell interplay in primary Sjögren syndrome salivary gland pathogenesis. Nat Rev Rheumatol. 17(6):333-348, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33911236/> Acesso em: 27 de agosto de 2025.

YIN, H.; PRANZATELLI, T.J.F.; FRENCH, B.N.; ZHANG, N.; WARNER, B.M.; CHIORINI, J.A.; NIDCD/NIDCR Genomics and Computational Biology Core. Sclerosing Sialadenitis Is Associated With Salivary Gland Hypofunction and a Unique Gene Expression Profile in Sjögren's Syndrome. Front Immunol. 30;12:699722, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34400910/> Acesso em: 27 de agosto de 2025.