

EFEITOS DA ARTRITE INDUZIDA POR ADJUVANTE E DO TRATAMENTO COM METOTREXATO (MTX) E CURCUMINA (LIVRE E EM NANOPARTICULAS) SOBRE A MORFOMETRIA DAS UNIDADES SECRETORAS MUCOSAS DA GLÂNDULA SALIVAR SUBMANDIBULAR DE RATOS *HOLTZMAN*

Yasmin Morais Zanin, (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Kamilly Vitória de Siqueira, Alberto José Pelegrini, Éder Paulo Belato Alves, Angela Maria Pereira Alves, Fernanda Errero Porto Saporoli (Orientadora). E-mail: fepsaporoli@uem.br

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

Área e subárea do conhecimento: Morfologia/Histologia

Palavras-chave: artrite; metotrexato; parênquima glandular.

RESUMO

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 morfometria das unidades secretoras mucosas da glândula salivar submandibular de ratos *Holtzman*. Vinte e cinco ratos foram distribuídos em cinco grupos (n=5): controle (C), artrítico (AIA), 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). 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). A análise morfométrica das unidades secretoras mucosas da glândula submandibular revelou que a artrite induzida comprometeu a morfologia glandular, parcialmente revertida pelo MTX isolado. A curcumina, livre ou nanoencapsulada, não potencializou esse efeito.

INTRODUÇÃO

Em doenças autoimunes como a síndrome de Sjögren (SS) e artrite reumatoide (AR) é notório o comprometimento da homeostase oral, em decorrência da infiltração linfocitária, fibrose e da redução da capacidade secretora acinar (Yura e Hamada, 2023). Considerando que essas patologias se manifestam de forma sistêmica, torna-se imprescindível compreender seus efeitos para fornecer informações essenciais sobre sua apresentação clínica e experimental, visando à prevenção de suas complicações.

Diante disso, o presente estudo objetivou avaliar os efeitos da artrite induzida por adjuvante e do tratamento com metotrexato (MTX) e curcumina (livre e em nanopartículas) sobre a morfometria das unidades secretoras mucosas da glândula salivar submandibular de ratos *Holtzman*.

MATERIAIS E MÉTODOS

Utilizou-se 25 ratos albinos da linhagem *Holtzman*, com 50 dias de idade (CEUA nº 2012070222) que foram distribuídos em 5 grupos (n=5): controle (C), artrítico (AIA), artrítico sem tratamento que recebeu apenas o veículo; 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 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 Cibernetics; versão 4.0) por um único observador. Foram mensuradas a área de 100 unidades secretoras por glândula/animal, totalizando 500 unidades secretoras por grupo. Os dados foram analisados com análise de variância e o teste de Tukey, com nível de significância de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na análise morfométrica das áreas das unidades secretoras, todos os grupos artríticos tratados ou não (AIA, AIA+MTX, AIA+CL+MTX e AIA+CN+MTX) apresentaram redução significativa em comparação ao grupo controle ($p < 0,001$). Dentre os grupos submetidos a tratamento, apenas o AIA+MTX apresentou aumento significativo da área em relação ao grupo AIA ($p < 0,001$). Em contrapartida, os grupos (AIA+CL+MTX e AIA+CN+MTX) mantiveram áreas reduzidas semelhantes às observadas no grupo AIA ($p > 0,05$) (Figura 1).

Os resultados deste estudo reforçam que a artrite reumatoide, além de afetar articulações, pode comprometer glândulas salivares, como evidenciado pelos grupos artríticos tratados ou não (AIA, AIA+MTX, AIA+CL+MTX e AIA+CN+MTX). Considerando a dosagem e o tempo estabelecidos pelo protocolo experimental do presente estudo, observamos aumento das áreas das unidades secretoras da glândula submandibular do grupo artrítico tratado com metotrexato (AIA+MTX) em comparação com o grupo artrítico não tratado (AIA) ($p < 0,001$). Embora o MTX apresente efeitos variáveis nessas glândulas conforme dose e duração do tratamento, Wolff *et al.* (1989) demonstraram que, 18 horas após a administração via intraperitoneal de 15 mg/kg de MTX em ratos, não houve efeitos agudos significativos na função da glândula parótida nem ação citotóxica em tecidos de renovação rápida (mucosa oral) ou lenta (glândulas salivares), tanto *in vivo* quanto *in vitro*.

Além da ausência de efeitos citotóxicos na glândula salivar, é plausível inferir que o MTX tenha exercido influência benéfica em diversos processos biológicos dessa glândula; tanto que, Zhao et al. (2022) destacam os possíveis mecanismos terapêuticos multifacetados do MTX, dentre eles, antagonista do folato, efeitos antiproliferativos, antimetabólicos; assim como Cronstein e Aune (2020) relataram que o MTX em baixas doses exibe ação anti-inflamatória, mediada principalmente pela promoção da liberação de adenosina, que possui potentes efeitos imunossupressores, além de reduzir os níveis circulantes de citocinas pró-inflamatórias.

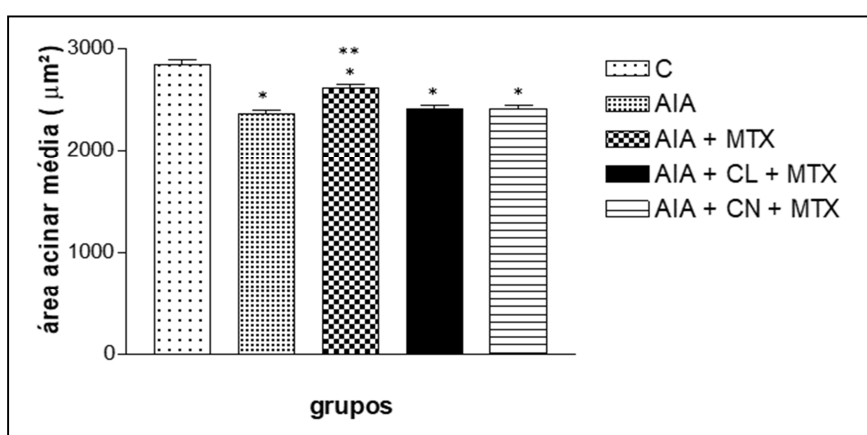


Figura 1 – Área média das unidades secretoras mucosas da glândula submandibular de ratos nos grupos: controle(C), artrítico (AIA), artrítico com metotrexato (AIA+MTX), artrítico com curcumina livre e metotrexato (AIA+CL+MTX) e artrítico com nanopartículas de curcumina e metotrexato (AIA+CN+MTX). * $p < 0,001$ comparado com grupo C; ** $p < 0,001$ comparado com grupo AIA; $p > 0,05$ comparados todos os outros grupos entre si.

Dessa forma, os resultados observados neste estudo podem estar relacionados à combinação desses mecanismos, os quais, ao atuarem de forma integrada, contribuem para a modulação da resposta inflamatória sistêmica e local, favorecendo a preservação parcial da morfologia glandular.

Com relação ao efeito da curcumina, apesar de alguns estudos como o de Zeng et al. (2022); demonstrarem seu efeito anti-inflamatório e antioxidante; no presente estudo, a adição de curcumina (tanto livre quanto em nanopartículas) ao tratamento com MTX (grupos AIA+CL+MTX e AIA+CN+MTX), possivelmente não tenha tido um efeito anti-inflamatório sistêmico robusto o suficiente para impactar a morfologia glandular. Além disso, Kawami et al. (2016), reportaram que a curcumina pode ainda afetar a via terapêutica do MTX ao inibir transportadores como PEPT1 e glicoproteína P, responsáveis pela absorção de fármacos semelhantes a peptídeos no intestino. Por outro lado, a curcumina também pode aumentar a atividade de outros receptores, como os da Rodamina (Rho123), sugerindo que sua ação sobre

esses transportadores pode tanto reduzir quanto potencializar a absorção de medicamentos, impactando diretamente sua biodisponibilidade.

CONCLUSÕES

A artrite induzida comprometeu a morfologia das unidades secretoras da glândula submandibular, sendo parcialmente revertida pelo MTX isolado. A associação com curcumina, livre ou em nanopartículas, não ampliou esse efeito, indicando ausência de ação sinérgica na proteção glandular.

AGRADECIMENTOS

Ao PIBIC-AF-IS/CNPq-FA.

REFERÊNCIAS

CRONSTEIN, B. N., & AUNE, T. M. (2020). Methotrexate and its mechanisms of action in inflammatory arthritis. **Nature Reviews Rheumatology**, 16(3), 145–154. <https://doi.org/10.1038/s41584-020-0373-9>. Acesso em: 04 de agosto de 2025.

KAWAMI, M., YAMADA, Y., TOSHIMORI, F., ISSARACHOT, O., JUNYAPRASERT, V. B., YUMOTO, R., & TAKANO, M. (2017). Effect of Curcuma comosa extracts on the functions of peptide transporter and P-glycoprotein in intestinal epithelial cells. **Pharmazie**, 72, 123–127. <https://doi.org/10.1691/ph.2017.6147>. Acesso em: 04 de agosto de 2025.

WOLFF, A., MOREIRA, J. E., MARMARY, Y., & FOX, P. C. (1989). Lack of acute effects of methotrexate on rat parotid salivary gland function. **Archives of Oral Biology**, 34(2). Disponível em: 109–115. DOI: 10.1016/0003-9969(89)90134-9. Acesso em: 04 de agosto de 2025.

ZHAO, Z., HUA, Z., YU, L., LI, M., LU, C., ZHAO, T., & LIU, Y. (2022). Application and pharmacological mechanism of methotrexate in rheumatoid arthritis. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, 150, 113074. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113074>. Acesso em: 05 de agosto de 2025.

ZENG, L., YANG, T., LI, J., XIANG, W., & CHEN, H. (2022). Efficacy and safety of curcumin and Curcuma longa extract in the treatment of arthritis. **Frontiers in Immunology**, 13, 891822. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.891822>. Acesso em: 05 de agosto de 2025.

YURA, Y., & HAMADA, M. (2023). Outline of salivary gland pathogenesis of Sjögren's syndrome and current therapeutic approaches. **International Journal of Molecular Sciences**, 24(13), 11179. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37446355>. Acesso em: 04 de agosto de 2025.