

AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA DAS ARTICULAÇÕES DE RATOS ARTRÍTICOS TRATADOS COM SNEDDS CONTENDO β -CARIOFILENO

Ana Maria Canassa Pinheiro (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Any Carolina Chagas Almeida (Coorientadora), Jurandir Fernando Comar (Orientador). E-mail: jfcomar@uem.br.

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

Área e subárea do conhecimento: Bioquímica/Metabolismo e Bioenergética

Palavras-chave: Artrite reumatoide; Inflamação crônica; Óleo essencial de cravo.

RESUMO

A artrite reumatoide (AR) é uma doença autoimune inflamatória crônica que acomete cerca de 1% da população adulta, afetando predominantemente as articulações, mas também órgãos como fígado e pulmões. A artrite induzida por adjuvante em ratos é um modelo experimental amplamente utilizado para investigar terapias anti-inflamatórias. O β -cariofileno, um sesquiterpeno com propriedades anti-inflamatórias e antirreumáticas, apresenta baixa solubilidade e biodisponibilidade oral, limitações que podem ser superadas pelo uso de sistemas autoemulsionantes nanoestruturados (SNEDDS). Este estudo avaliou os efeitos do β -cariofileno livre e veiculado em SNEDDS em ratos com artrite induzida pelo adjuvante completo de Freund. O tratamento com β -cariofileno em SNEDDS preveniu a perda de peso, reduziu em aproximadamente 50% o edema na pata contralateral, retardou o aparecimento das lesões secundárias e restabeleceu a quantidade de leucócitos articulares a valores semelhantes aos controles. Já o β -cariofileno livre retardou apenas o aparecimento das lesões secundárias e reduziu o número de leucócitos circulantes e articulares na pata injetada, sem efeito sobre o peso ou edema. A análise histológica demonstrou redução de até 50% da espessura da cartilagem em animais artríticos, revertida parcialmente apenas pelo SNEDDS na região central, enquanto nenhum tratamento preservou o disco epifisário. Esses achados indicam que o β -cariofileno carregado em SNEDDS potencializa os efeitos anti-inflamatórios e protetores do composto, reduzindo parâmetros clínicos da artrite e preservando parcialmente a cartilagem articular, embora sem impacto sobre o disco epifisário.

INTRODUÇÃO

A artrite reumatoide é uma doença inflamatória autoimune crônica que afeta as articulações e atinge cerca de 1% da população adulta mundial. A patologia envolve uma intensa hiperplasia da cartilagem e membrana sinovial das pequenas articulações. A artrite induzida por adjuvante completo de Freund em ratos é um modelo experimental muito semelhante à artrite reumatoide severa e tem sido amplamente utilizado para investigar os efeitos de drogas anti-inflamatórias e antirreumáticas. O (-)- β -cariofileno é um sesquiterpeno que apresenta atividade anti-

inflamatória e é obtido por síntese assimétrica ou a partir de óleos essenciais (MAFFEI *et al.*, 2020). Este composto oralmente administrado foi capaz de diminuir o edema das patas e a hiperplasia articular de ratos com artrite induzida por adjuvante, mas apenas em doses elevadas (400 mg/kg) (AMES-SIBIN *et al.*, 2018). Botões de cravo são ricos em eugenol (70-90%), que é amplamente utilizado em perfumes e aromatizantes, mas também contém uma quantidade considerável de β -cariofileno. O eugenol é extraído do óleo de cravo por destilação fracionada, que também separa uma fração muito rica em β -cariofileno (NURDJANNAH & BERMAWIE, 2012). Esta última é chamada β -cariofileno natural, mas outros hidrocarbonetos também são encontrados em pequenas quantidades, como o α -humuleno.

O caráter lipofílico do β -cariofileno dificulta a sua interação com o ambiente aquoso gastrointestinal, o que deve diminuir a sua biodisponibilidade quando oralmente administrado. Veículos nanoemulsionantes são eficazes como sistemas para administração oral de compostos com baixa solubilidade aquosa (YAO *et al.*, 2020). Portanto, eles deveriam melhorar a atividade antirreumática do β -cariofileno. Desta forma, o presente estudo foi planejado para avaliar se β -cariofileno formulado em SNEDDS, oralmente administrado, modifica as alterações histopatológicas articulares que ocorre na artrite reumatoide, utilizando como modelo experimental ratos Wistar com artrite induzida por adjuvante completo de Freund.

MATERIAIS E MÉTODOS

O β -cariofileno natural, da Quinarí Fragrâncias, teve sua composição determinada por GC-MS. O SNEDDS continha β -cariofileno, detergente e uma fase oleosa. Ratos Holtzman (50 dias) foram divididos em quatro grupos: S (saúdáveis/salina), AIA (artríticos/salina), F100 (artríticos/ β -cariofileno 100 mg/Kg em SNEDDS) e C100 (artríticos/ β -cariofileno 100 mg/Kg não formulado). Todos os procedimentos foram aprovados pela CEUA-UEM (nº 2008040222).

Os animais foram tratados por 18 dias, com monitoramento de peso, volume das patas (pletismógrafo) e escore inflamatório a cada três dias. No 19º dia, foram eutanasiados, e a pata posterior esquerda foi coletada, fixada, descalcificada, incluída em parafina, cortada (6 μ m), corada com hematoxilina e eosina e analisada em microscópio Motic BA400. Avaliaram-se três cortes semi-seriados por animal, com mensurações padronizadas na cartilagem articular e disco epifisário via Image Pro Plus.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O tratamento com β -cariofileno promoveu efeitos benéficos no modelo experimental de artrite. Considerando o caráter sistêmico e crônico da doença, é improvável que um composto natural consiga neutralizar todos os parâmetros inflamatórios; contudo, a forma carregada em SNEDDS apresentou maior eficácia. Nesse grupo, observou-se menor perda de peso, redução de aproximadamente 50%

do edema na pata contralateral, retardo no aparecimento das lesões secundárias e restabelecimento da contagem de leucócitos articulares a níveis semelhantes aos do grupo controle (resultados não apresentados). Por outro lado, o β -cariofileno livre não preveniu a perda de peso nem reduziu o edema, embora tenha retardado o desenvolvimento das lesões secundárias e diminuído a quantidade de leucócitos circulantes e articulares da pata injetada (resultados não apresentados).

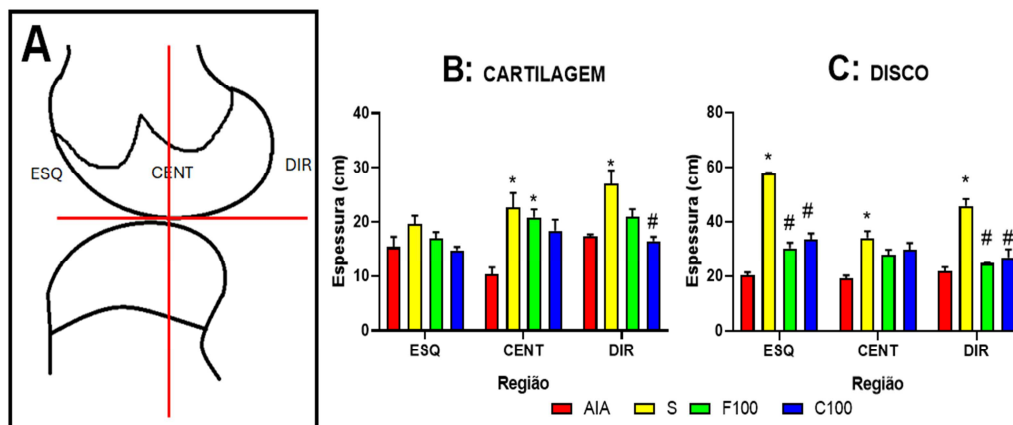


Figura 1: Medições da cartilagem articular e disco epifisário. A: Representação esquemática das regiões de cartilagem articular em articulações do joelho de ratos. A delimitação das áreas foi realizada com base na posição da articulação inserida, considerando o centro como ponto de referência. As linhas vermelhas indicam os eixos que definem a região central (CENT), diferenciando-a das regiões lateral esquerda (ESQ) e lateral direita (DIR). B: Espessura da cartilagem em cm de todas as regiões. C: Espessura do disco epifisário em cm em todas as regiões. A análise estatística foi feita em GraphPad Prism 8.0.2. $p < 0,05$. * representa diferenças significativas com relação ao grupo AIA. # representa diferenças significativas com relação ao grupo S.

A Figura 1 apresenta os resultados das análises histopatológicas articulares. Esta análise confirmou alterações significativas na espessura da cartilagem articular. Animais artríticos exibiram cerca de 50% de redução dessa estrutura em relação aos controles, principalmente nas regiões central e direita. O tratamento com β -cariofileno emulsionado promoveu recuperação significativa da cartilagem central, enquanto o composto livre não apresentou efeito protetor relevante. Em relação ao disco epifisário, animais saudáveis apresentaram espessura superior em todas as regiões comparados aos artríticos (285% na esquerda, 178% na central e 214% na direita), mas nenhum dos tratamentos reverteu a redução observada.

Esses resultados indicam que a artrite compromete de forma marcante a cartilagem e o disco epifisário (Figura 2), sendo o último mais resistente à intervenção farmacológica. O β -cariofileno, quando administrado em sistema autoemulsionante, demonstrou efeito protetor parcial, restaurando a espessura da cartilagem em região específica e atenuando parâmetros inflamatórios e oxidativos, o que reforça seu potencial terapêutico superior em relação à forma livre.

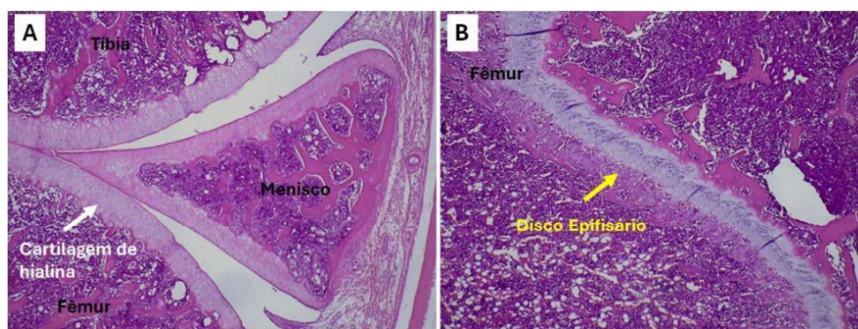


Figura 2. Lâmina histológica da articulação do joelho de rato tratado com F100, corada com hematoxilina e eosina (HE). Aumento de 4x. A: seta branca indicando a cartilagem hialina; B: seta amarela indicando a região do disco epifisário.

CONCLUSÕES

O β -cariofileno demonstrou efeito antirreumático na artrite induzida por adjuvante em ratos, com maior eficácia quando veiculado em SNEDDS. Esse sistema preservou parcialmente a cartilagem. Desta forma, o β -cariofileno carregado em SNEDDS pode ser uma alternativa para complementar o tratamento da artrite reumatoide.

AGRADECIMENTOS

CAPES e CNPq.

REFERÊNCIAS

AMES-SIBIN, A.P.; BARIZÃO, C.L.; CASTRO-GHIZONI, C.V.; SILVIA, F.M.S.; SÁ-NAKANISHI, A.B.; BRACHT, L.; BERSANI-AMADO, C.A.; MARÇAL-NATALI, M.R.; BRACHT, A. & COMAR, J.F., 2018. β -Caryophyllene, the major constituent of copaiba oil, reduces systemic inflammation and oxidative stress in arthritic rats.

Journal of Cellular Biochemistry, 119(12), 10262–10277.

<https://doi.org/10.1002/jcb.27369>

NURDJANNAH, N.; BERMAWIE, N. Cloves. In: Peter KV, Editor. Handbook of Herbs and Spices, second edition, vol.1. Woodhead Publishing limited, p. 197-215, 2012.

<https://doi.org/10.1533/9780857095671.197>

YAO, M.; LI, Z.; MCCLEMENTS, D.J.; TANG, Z.; XIAO, H., 2020. Design of nanoemulsion-based delivery systems to enhance intestinal lymphatic transport of lipophilic food bioactives: Influence of oil type, Food Chem. 317, 126229.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126229>