INVESTIGAÇÃO MORFOMÉTRICA DOS ÁCINOS SEROSOS DA GLÂNDULA SUBMANDIBULAR DE RATOS HOLTZMAN SOB TRATAMENTO COM CURCUMINA (LIVRE E NANOEMULSIFICADA) E METOTREXATO

João Pedro Crevelaro de Oliveira (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Angela Maria Pereira Alves (Orientadora), Éder Paulo Belato Alves (Coorientador). E-mail: ra143858@uem.br

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

Área e subárea do conhecimento: Ciências biológicas/Morfologia.

Palavras-chave: artrite; histopatologia; parênquima glandular.

RESUMO

Considerando as possíveis repercussões da artrite reumatoide sobre as glândulas salivares, este estudo investigou a morfometria dos ácinos serosos da glândula submandibular de ratos Holtzman sob tratamento com Curcumina (livre e nanoemulsificada) e Metotrexato. Trinta e cinco ratos foram distribuídos em sete grupos (n=5): controle (C), artrítico (AIA), artrítico com metotrexato (AIA+MTX); artrítico tratado com curcumina livre (AIA+CL); artrítico tratado com nanopartículas de curcumina (AIA+CN); 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 30° dia (via gavagem) após a indução da artrite e houve suplementação diária com veículo (água), curcumina (30 mg/ kg) livre ou nanoencapsulada, e em dose semanal, o metotrexato (1mg/Kg). Houve redução significativa da área acinar média dos ácinos serosos da glândula submandibular em relação ao controle ($p < 0,05$), bem como alteração nos grupos AIA+MTX, AIA+CL, AIA+CN e AIA+CL+MTX. Todos os tratamentos diferiram significativamente do grupo AIA ($p < 0,05$), enquanto AIA+CN+MTX foi o único grupo sem diferença em relação ao controle ($p > 0,05$), indicando que essa associação apresentou a resposta morfométrica mais próxima da condição basal.

INTRODUÇÃO

O metotrexato (MTX) é um dos principais agentes terapêuticos empregados na artrite reumatoide (AR) e a curcumina é uma substância que apresenta efeitos anti-inflamatórios e antioxidantes, porém sua baixa biodisponibilidade limita seu uso terapêutico, sendo a nanoemulsão uma alternativa para favorecer maior absorção e disponibilidade (MORAN et al., 2016). Entretanto, os efeitos do MTX e da curcumina sobre as glândulas salivares, particularmente quanto às alterações morfológicas associadas à AR, ainda permanecem pouco exploradas. Assim, este estudo teve como objetivo investigar a morfometria dos ácinos serosos da glândula submandibular de ratos Holtzman sob tratamento com Curcumina (livre e

nanoemulsificada) e Metotrexato.

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 metotrexato (AIA+MTX); artrítico tratado com curcumina livre (AIA+CL); artrítico tratado com nanopartículas de curcumina (AIA+CN); 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 30° 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 ácinos serosos por glândula/animal, totalizando 500 ácinos por grupo. Os dados foram analisados com análise de variância e o teste de Tukey, com nível de significância de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve redução na área acinar média dos ácinos serosos da glândula submandibular dos ratos do grupo artrítico (AIA) e artríticos tratados (AIA+MTX; AIA+CL; AIA+CN; AIA+CL+MTX) em relação a do grupo controle (C) ($p < 0.05$). No entanto, o grupo AIA+CN+MTX não revelou diferença estatística quando comparado ao grupo C. Quando comparado ao grupo AIA, houve diferença significativa na área acinar média em todos os grupos tratados: AIA+CL, AIA+CN, AIA+MTX, AIA+CL+MTX e AIA+CN+MTX ($p < 0,05$) (Figura 1).

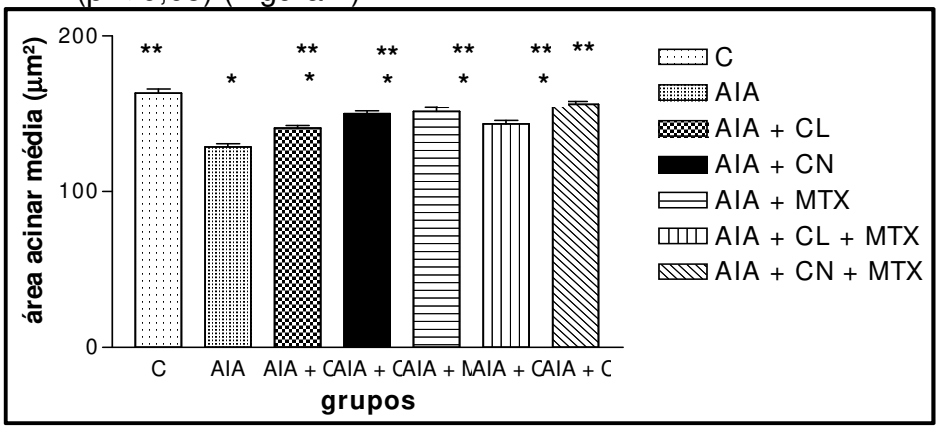


Figura 1 – Área média dos ácinos serosos da glândula salivar submandibular de ratos nos grupos: Controle(C), Artrítico (AIA), artrítico com curcumina livre (AIA+CL); artrítico com nanoemulsão de curcumina (AIA+CN); artrítico com metotrexato (AIA+MTX); artrítico com curcumina livre e metotrexato (AIA+CL+MTX);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

A redução da área acinar média no grupo AIA, em relação ao grupo C, é compatível com evidências de que a AR apresenta repercussões sistêmicas capazes de atingir as glândulas salivares. Markkanen et al. (1989) observaram, em pacientes com AR, maior frequência de atrofia acinar e fibrose nas glândulas salivares labiais em comparação ao grupo controle, sugerindo a incidência de processos inflamatórios sistêmicos sobre o parênquima glandular. Os demais grupos artríticos tratados (AIA+MTX; AIA+CL; AIA+CN; AIA+CL+MTX) também tiveram suas áreas reduzidas em comparação às do grupo C, não sendo observada influência na manutenção da área média dos ácinos serosos da glândula submandibular com o tratamento com o MTX e com a curcumina (na forma livre ou em nanoemulsão), isolados ou em combinação, exceto o grupo AIA+CN+MTX ($p > 0,05$). No entanto, vale salientar que o tamanho dos ácinos não constitui a única variável exclusivamente estrutural; tendo em vista que a análise quantitativa desses ácinos (dados não publicados) não mostrou diferença estatística significativa entre os grupos analisados, indicando que a redução da área acinar média não esteve acompanhada de diminuição detectável no número dos mesmos. Em nosso protocolo experimental, pode-se inferir que nesta fase precoce e de progressão gradativa da doença (30 dias) e na faixa etária (50 dias), os ácinos serosos da glândula salivar submandibular possivelmente estejam recorrendo à plasticidade celular a fim de se regenerar de injúrias celulares iniciais devido ao processo inflamatório gerado pela AR. Em estudos de doenças autoimunes das glândulas salivares, alterações histológicas podem se desenvolver progressivamente, tanto que Sharawy e White (1978) avaliaram as glândulas submandibulares de ratos em modelo experimental de sialadenite autoimune em diferentes momentos e constataram que as alterações morfológicas e ultraestruturais evoluem temporalmente.

A associação entre curcumina nanoemulsionada e MTX (AIA+CN+MTX) produziu a resposta morfométrica mais próxima à observada no grupo C. Esse resultado corrobora estudos em AIA que demonstram o potencial da associação entre curcumina e MTX em potencializar a resposta antiartrítica, com melhora da artrite e de parâmetros hematológicos (BANJI et al., 2011). Além disso, Arora et al. (2015) observaram maior efeito antiartrítico da curcumina incorporada a nanopartículas lipídicas em comparação à curcumina livre. Todos os grupos tratados apresentaram aumento significativo da área acinar em relação ao AIA, indicando atenuação das possíveis alterações provocadas pela artrite, com destaque para AIA+CN+MTX, que não diferiu do controle. Esse efeito pode estar relacionado às propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias da curcumina, que já demonstrou proteção contra lesões em glândulas salivares (KIM et al., 2019).

CONCLUSÕES

A artrite induzida por adjuvante (AIA) reduziu significativamente a área acinar média da glândula submandibular. Os tratamentos testados reverteram esse efeito, com destaque para a associação de curcumina em nanoemulsão com MTX. Essa combinação foi a única capaz de restaurar a área acinar a níveis equivalentes aos do grupo controle, indicando maior eficácia terapêutica.

AGRADECIMENTOS

Ao PIBIC-AF-IS/CNPq-FA, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e ao Centro de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Maringá (UEM) pelo suporte e incentivo à realização da pesquisa.

REFERÊNCIAS

ARORA, R.; KUHAD, A.; KAUR, I.P.; CHOPRA, K. Curcumin loaded solid lipid nanoparticles ameliorate adjuvant-induced arthritis in rats. Eur J Pain. V.19, n. 7, p.940-52, 2015. https://doi.org/10.1002/ejp.620Digital Object Identifier (DOI). Acesso em 12 jun 2026.

BANJI, D.; PINNAPUREDDY, J.; BANJI, O.J.; KUMAR, A.R.; REDDY, K.N. Evaluation of the concomitant use of methotrexate and curcumin on Freund's complete adjuvant-induced arthritis and hematological indices in rats. Indian J Pharmacol. V.43, n. 5, p. 546-50, 2011. https://www.ovid.com/jnls/iphr/fulltext/10.4103/0253-7613.84970. Acesso em 12 jun 2026.

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, 2019. https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/term.2833. Acesso em 12 jun 2026.

MARKKANEN, S.O.; SYRJÄNEN, S.M.; LAPPALAINEN, R.; MARKKANEN, H. Assessment of labial salivary gland changes in patients with rheumatoid arthritis by subjective and quantitative methods. Appl Pathol. V.7, n.4, p. 233-240, 1989. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2803785/. Acesso em 12 jun 2026.

MORAN, M. P.; FERNANDEZ, J. M.; RAMIREZ, T. C.; RAMIREZ, T. M. Curcumin and Health. Molecules, v. 21, n. 3, p. 264, 2016. https://www.mdpi.com/1420-3049/21/3/264. Acesso em 12 jun 2026.

SHARAWY, M.; WHITE, S. C. Morphometric and fine structural study of experimental autoallergic sialadenitis of rat submandibular glands. Virchows Archiv. B, Cell pathology, v. 28, n. 3, p. 255–273, 1978. https://doi.org/10.1007/BF02889075. Acesso em 12 jun 2026.