

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
CURSO DE MEDICINA

Larisse Brito da Silva

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DA FRAÇÃO FA4 DE *Scoparia dulcis* L EM
MODELO EXPERIMENTAL DE OSTEOARTRITE EM RATOS**

São Luís
2018

Larisse Brito da Silva

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DA FRAÇÃO FA4 DE *Scoparia dulcis* L EM
MODELO EXPERIMENTAL DE OSTEOARTRITE EM RATOS**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao curso de medicina da Universidade Federal do Maranhão para a obtenção do grau de Médico.

Orientadora: Profa. Dra. Maria do Socorro de Sousa Cartágenes

Co-orientadora: Ms. Tereza Cristina de Melo Monteiro Prazeres

São Luís

2018

Brito da Silva, Larisse.

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DA FRAÇÃO FA4 DE *Scoparia dulcis* L EM MODELO EXPERIMENTAL DE OSTEOARTRITE EM RATOS / Larisse Brito da Silva. - 2018.

22 p.

Coorientador(a): Tereza Cristina de Melo Monteiro Prazeres.

Orientador(a): Maria do Socorro de Sousa Cartágenes.

Curso de Medicina, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2018.

1. Fração. 2. Osteoartrite. 3. *Scoparia dulcis* L. I. de Melo Monteiro Prazeres, Tereza Cristina. II. de Sousa Cartágenes, Maria do Socorro. III. Título.

Larisse Brito da Silva

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DA FRAÇÃO FA4 DE *Scoparia dulcis* L EM
MODELO EXPERIMENTAL DE OSTEOARTRITE EM RATOS**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao curso de medicina da Universidade Federal do Maranhão para a obtenção do grau de Médico.

Orientadora: Profa. Dra. Maria do Socorro de Sousa Cartágenes

Co-orientadora: Ms. Tereza Cristina de Melo Monteiro Prazeres

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Maria do Socorro de Sousa Cartágenes
(Orientadora)

Prof^o. Dr^o. Orlando José dos Santos
(Examinador)

Prof^a. Ms^a. Adriana Lima dos Reis Costa
(Examinadora)

Prof^a. Ms. Santiago Cirilo Noguera Servin
(Examinador)

Aos meus pais, Nelson e Edinéia, e a Deus, por tudo que sou.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela oportunidade da vida, de crescimento e aprendizados diários nessa jornada de transformações eternas.

Aos meus pais, Nelson da Silva Oliveira e Edinéia Pereira de Brito Silva, que me deram a vida e a força para ser quem eu sou.

As minhas orientadoras, Professoras Socorro e Tereza, pela paciência, acolhimento e toda forma de auxílio ao longo dessa jornada de formação acadêmica.

Aos meus familiares que mesmo distante estão sempre comigo e são as raízes que nutrem meu caminhar.

Ao Sr Geraldo Eguimar Polesso e Leonardo Eguimar Polesso sem os quais essa caminhada não teria começado.

A Valéria e Eduarda que me acolheram carinhosamente quando cheguei a Ilha do Amor.

Ao meu amigo Talvane, por ter me levado ao LEED e por todas as conversas e trocas durante esses 6 anos.

Ao meu amigo André Formiga por toda forma de apoio e auxílio.

A todo equipe do Laboratório de estudo experimental da dor - LEED, sem o qual esse trabalho não seria possível.

A todos meus amigos que acreditaram em mim e me auxiliaram de alguma forma.

“Conhece-te a ti mesmo e conhecerás o universo e os deuses, porque se o que procuras não achares primeiro dentro de ti mesmo, não acharás em lugar algum. ”
Templo de Delfos

RESUMO

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DA FRAÇÃO FA4 DE *Scoparia dulcis* L EM MODELO EXPERIMENTAL DE OSTEOARTRITE EM RATOS

Introdução: A osteoartrite (OA) é um conjunto de alterações que induz sinais e sintomas articulares associados a defeitos na cartilagem articular e membrana sinovial junto a alterações relacionadas ao tecido ósseo situado na borda articular havendo processo inflamatório e degenerativo que envolve praticamente todas as estruturas da articulação bem como diminuição das propriedades visco elásticas do líquido sinovial. Também conhecida como vassourinha, *Scoparia dulcis* L, está presente em todo território nacional. Essa espécie possui propriedades anti-inflamatória, analgésica e outras. Essas propriedades são atribuídas a presença de flavonóides, compostos fenólicos e triterpenos. Esse estudo busca avaliar o efeito analgésico dessa espécie no tratamento da OA.

Material & Método: Foram utilizados animais machos da espécie *Rattus norvegicus* (variedade *albinus*) distribuídos em 3 grupos com 6 animais cada. Destes, dois grupos receberam 3 mg de monoiodoacetato de sódio (MIA), diluídos em um volume máximo de 50 µL de solução para indução da osteoartrite. O terceiro grupo permaneceu sem indução, servindo como parâmetro de normalidade. Dos grupos induzidos, um foi tratado com 5µg/Kg de FSD (Fração FA4 de *Scoparia dulcis* L) por via oral, estes começaram a receber tratamento dois dias após a indução até o dia do sacrifício totalizando 20 dias de tratamento. O outro grupo recebeu o equivalente a 0,1 ml/Kg de solução salina também por 20 dias. Os animais foram avaliados quanto a incapacidade articular, alodínea mecânica e quantificação da dor espontânea. Essas avaliações foram realizadas nos dias 0* (* antes da indução) e nos dias 3#, 7#, 14#, 21# (#após injeção de MIA), sendo os animais sacrificados no 21º dia pós indução. **Resultados:** Foi observado que a administração da FSD por via oral foi diferente estatisticamente do grupo salina evidenciando ação analgésica a partir do 21 dia. Também houve melhora no desconforto articular a partir do 7º dia de indução. Por fim, os animais apresentaram melhora no escore de marcha que foi significativa a partir do 7º dia após a indução. **Conclusões:** A etnofarmacologia tem mostrado indicação dos efeitos analgésicos da *Scoparia dulcis* L. Os nossos resultados corroboram com esse achado, mostrando que a FSD melhorou o limiar nociceptivo dos animais bem como o escore de marcha e desconforto articular. Entretanto são necessários mais estudos com outras doses para melhor avaliação.

Palavras-chave: Osteoartrite. *Scoparia dulcis*. Fração

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	10
2	OBJETIVOS	12
2.1	Objetivos Gerais	12
2.2	Objetivos Específicos	12
3	METODOLOGIA E PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	13
3.1	Modelo de Osteoartrite induzida por iodoacetato de sódio	13
3.2	Animais	13
3.3.	Avaliação da atividade motora/deambulação forçada	13
3.4	Alodínia mecânica	13
3.5	Teste de incapacitância/ Distribuição do peso nas patas traseiras	14
3.6	Grupos de tratamento e sacrifício dos animais	14
3.7	Análise Estatística	14
4	RESULTADOS	15
4.1	Avaliação da atividade motora/deambulação forçada	15
4.2	Avaliação da alodínia mecânica	15
4.3	Avaliação da distribuição do peso nas patas traseiras	16
5	DISCUSSÃO	17
6	CONCLUSÕES	19
7	REFERÊNCIAS	20

1 INTRODUÇÃO

A osteoartrite (OA) é definida pelo Colégio Americano de Reumatologia como um conjunto de alterações heterogêneas que induzem sinais e sintomas articulares dolorosos associados a defeitos na integridade da cartilagem articular e membrana sinovial em associação às alterações relacionadas ao tecido ósseo situado na margem articular (XIMENES, MENDES e CUSTODIO, 2009).

Essa doença é uma das mais frequente do sistema musculoesquelético e sua prevalência é crescente em virtude do aumento da expectativa de vida da população. Fatores de risco como gênero, idade, trauma, uso excessivo da articulação, genética e obesidade contribuem para iniciar o processo de lesão nos diferentes componentes da articulação. Já é bem estabelecido que a sinóvia, o osso e a cartilagem são os três principais tecidos atingidos pelos mecanismos patológicos da OA. (MATSUZAKI, T; et al, 2014).

A OA é uma doença degenerativa da cartilagem articular associada a várias condições patológicas relacionadas aos condrócitos. (MATSUZAKI, T; et al, 2014) A degeneração da cartilagem articular constitui a alteração mais característica e importante da OA. Em estágios clínicos da doença são observadas alterações na membrana sinovial, normalmente associada a alterações inflamatórias, sendo a dor uma das queixas mais frequente e importante (HAWKER, GA; STANAITIS I, 2014).

Segundo a IASP (International Association for the Study of Pain) a dor é uma “experiência sensitiva e emocional desagradável associada ou relacionada a lesão real ou potencial dos tecidos. Cada indivíduo aprende a utilizar esse termo através das suas experiências anteriores” (MATSUZAKI, T; et al, 2014).

A dor articular insidiosa é o sintoma mais recorrente, comumente acompanhada por rigidez, deformidade e diminuição na amplitude do movimento articular, levando a movimentos limitados e fraqueza muscular em torno das articulações afetada. É a dor que leva os pacientes a procurar aconselhamento médico e geralmente está associada à redução da capacidade funcional. No entanto, as causas da dor na OA permanecem pouco compreendidas, como podemos observar através do insucesso de várias abordagens terapêuticas, sejam elas farmacêuticas, tratamento físico e cirúrgico em proporcionar alívio sintomático e melhor qualidade de vida aos pacientes que sofrem dessa condição (Dimitroulas, T; et al, 2014).

Avanços no entendimento da fisiopatologia da OA permitiu que houvesse aumento considerável nos alvos terapêuticos e algumas medicações têm sido associadas à diminuição da progressão das lesões cartilaginosas, com redução da remodelação óssea subcondral (MALY, MR; ROBBINS, SM2014).

A espécie *Scoparia dulcis* L. (Scrophulariaceae) é conhecida como vassourinha, sendo distribuída em regiões tropicais e subtropicais como América do Sul e Ásia (BEH, JE; et al, 2013). Apresenta atividades anti-inflamatória, antiviral, antimicrobiana, hipoglicemiante, analgésico e anti-hipertensiva. As atividades anti-inflamatória, antioxidantes e analgésicas do extrato de *Scoparia dulcis* L. foram atribuídas a presença de flavonóides, compostos fenólicos e triterpenos, possuindo desta forma potencial para redução da dor (PATRA, PK.;et al, 2014) . Estudos também demonstraram que o extrato de *Scoparia dulcis* L. apresenta atividade hepatoprotetora quando administrado por via oral (TSAI, 2010).

Di Stasi & Hiruma-Lima (2002) mencionam que esta espécie possui atividades analgésica, anti-inflamatória, antibacteriana gram-positiva, antidiabética, antiviral, antisséptica, anti-herpética, antiespasmódica, simpatomimética, antifúngica, hipocolesterolêmica, depressora do sistema nervoso central, secretagoga, gastroprotetora, anti-hipertensiva, expectorante e atóxica. Segundo Freire et al. (1989), a atividade analgésica da espécie *S. dulcis* está relacionada, possivelmente, à atividade anti-inflamatória do triterpeno glutinol. Freire et al (1988) observou atividade analgésica e anti-inflamatória no extrato etanólico de toda planta, quando administrada por via oral a ratos e camundongos.

A dificuldade de realização de estudos em humanos por razões técnicas ou éticas levou à necessidade do desenvolvimento de modelos experimentais de artrite que apresentem semelhança com a fisiopatologia da doença humana. Em modelos experimentais com animais podem-se traçar paralelos com as alterações químicas e histológicas observadas na doença, podem-se realizar manipulações experimentais para testar novos medicamentos ou procedimentos, com controle maior das variáveis envolvidas, como exclusão do placebo, homogeneidade do grupo entre outros.

Levando-se em consideração os fatores que contribuem para dor nociceptiva, a resposta ineficaz ao tratamento com analgésicos usuais, assim como a tolerância e efeitos adversos observados pelo seu uso prolongado e o potencial antioxidante e anti-inflamatório de *Scoparia dulcis* L., utilizou-se seu extrato em modelo experimental de osteoartrite para avaliação dos possíveis efeitos antinociceptivos.

2 OBJETIVOS

1.1 Objetivo Geral

Avaliar os efeitos da fração FA4 de *Scoparia dulcis* L por via oral, em modelo experimental de osteoartrite em joelhos de ratos.

1.2 Objetivos Específicos

Avaliar o efeito da fração FA4 de *Scoparia dulcis* L sobre o grau de incapacitação articular, através de parâmetros clínicos no modelo de osteoartrite induzida por injeção intra-articular de iodoacetato de sódio.

3 METODOLOGIA E PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

3.1 - Modelo de Osteoartrite induzida por iodoacetato de sódio

Os animais foram anestesiados através de injeção intraperitoneal (seringa e agulha estéril descartável) de solução com Xilazina e Ketamina. Após certificação do plano anestésico, foi realizada a tricotomia da pata posterior direita, posteriormente antissepsia local com solução tópica de polividona iodo 10%. A lesão articular foi induzida por uma única injeção intra-articular de 3 mg de monoiodoacetato de sódio neste joelho, diluídos em um volume máximo de 50 µL de solução. Com a perna flexionada, na altura do joelho, em um ângulo de aproximadamente 90°, a solução de monoiodoacetato de sódio foi injetada através do ligamento patelar utilizando-se uma agulha 26GX3/8, no espaço intra-articular entre tibia e fêmur (Jeong J-H, Moon S-J, Jhun J-Y, Yang E-J, Cho M-L, Min J-K 2015).

3.2 - Animais

Para execução destes trabalhos foram utilizados ratos da espécie *Rattus norvegicus* (variedade albinus), com aproximadamente 60 dias de idade, machos, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal do Maranhão.

3.3 - Avaliação da atividade motora/deambulação forçada (RotaRod test)

Foi avaliado o desempenho motor do animal através do aparelho “rotarod”, que se baseia numa barra giratória com velocidade 4-40 rpm por um período de tempo de 300 segundos. Foi computada a utilização do membro posterior direito a partir de uma escala numérica que varia de 1 a 5 onde, 1 = uso do membro normal; 2 = mancando leve, 3 = grave mancando, 4 = desuso intermitente do membro afetado; 5 = desuso completo do membro. Após a indução, três avaliações foram realizadas e a deambulação média foi registrada (CASTRO, R. R.; CUNHA, F. Q.; SILVA JUNIOR, F. S.; ROCHA, F. A. C. A., 2006).

3.4 - Alodínia mecânica (Von Frey)

Foi utilizado filamentos de Von Frey para avaliação da alodínia mecânica. Os animais foram colocados em caixas individuais de acrílico apoiados sobre uma superfície elevada e revestida por uma tela metálica. Após aclimação, foram aplicados até 6 estímulos na pata posterior direita e esquerda, sendo a média aritmética simples dos 3 valores mais próximos utilizados para avaliação (SILVA, Morgana Duarte da, 2009).

3.5 - Teste de incapacitância/ Distribuição do peso nas patas traseiras (weight bearing)

Os animais foram colocados em uma caixa acrílica angulada e posicionados de modo que cada pata traseira repousasse sobre plataformas diferentes. O peso exercido sobre cada pata traseira foi avaliado três vezes por um período de 3 segundos em cada avaliação sendo realizado a média das mesmas (KALFF KM, et al, 2010).

3.6 - Grupos de tratamento e sacrifício dos animais

Os animais foram divididos em três grupos (Tratado com fração – FSD, Tratado com salina – Salina e Sadio – Controle +) com 6 animais cada (n= 6). Nos animais dos grupos FSD e Salina foi induzido osteoartrite com 3mg de Monoiodoacetato de Sódio (MIA) em volume máximo de 50 µL no joelho direito e nos animais do grupo Controle + foi aplicado correspondente volume de solução Salina 0,9%. Os animais foram avaliados no dia 0 (zero) – antes da indução – e nos dias 3, 7, 14 e 21 após indução de OA, utilizando a metodologia citada acima. No 2º dia após a indução da osteoartrite, o grupo FSD começou a receber 5µl/Kg da fração FA4 do extrato de *Scoparia dulcis* L por via oral, o grupo Salina recebeu Solução fisiológica a 0,9% na dose de 0,1 ml/kg e o grupo controle + permaneceu sem tratamento. No 21º dia de estudo, após a avaliação clínica os animais foram sacrificados.

3.7 – Análise estatística

A comparação das médias de diferentes grupos experimentais foi realizada com teste t de Student ou análise de variância univariada (One-way ANOVA), seguida pelo teste de Tukey. Na avaliação de duas fontes de variabilidade, foi utilizada Análise de variância bivariada (TWO-way ANOVA). O valor de $P < 0,05$ foi considerado como indicativo de significância e os dados obtidos foram analisados através do software “Graph pad InStat® (GraphPad software, San Diego, CA).

4 RESULTADOS

4.1 Avaliação da atividade motora/deambulação forçada (ROTAROD TEST)

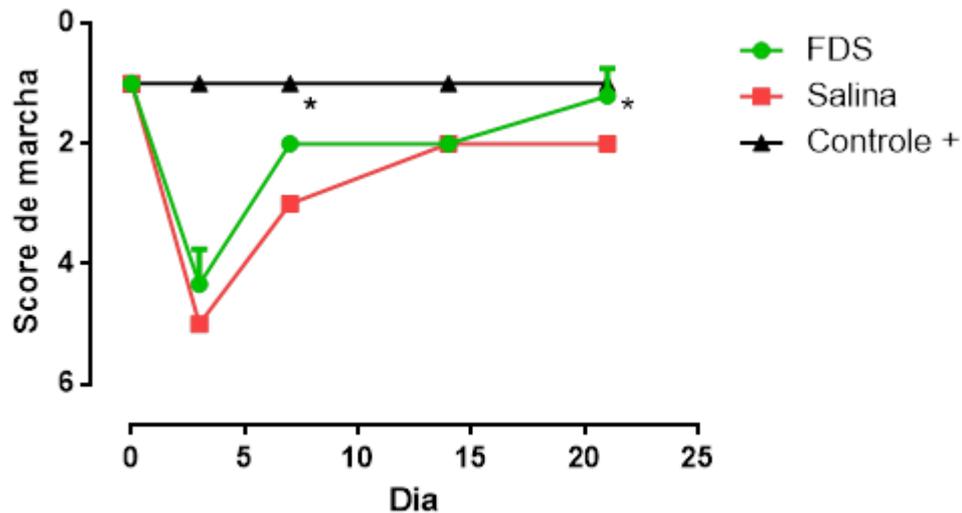


Figura 1

Podemos observar na figura 1 que após a indução de osteoartrite notou-se aumento no escore de marcha à deambulação forçada nos animais dos grupos FSD e Salina. Essa diferença em relação ao grupo controle + com os animais sadios não induzidos foi diminuindo em 75% com o passar do estudo até que o padrão de marcha dos animais tornassem-se semelhantes. Já no 7º dia após a indução nota-se uma melhora estatisticamente significativa no escore de marcha que perdura até o 21º dia de estudo. Após o 14º dia de indução o escore de marcha do grupo salina estabiliza e não sofre mais alterações.

4.2 – Avaliação da alodínia mecânica (VON FREY)

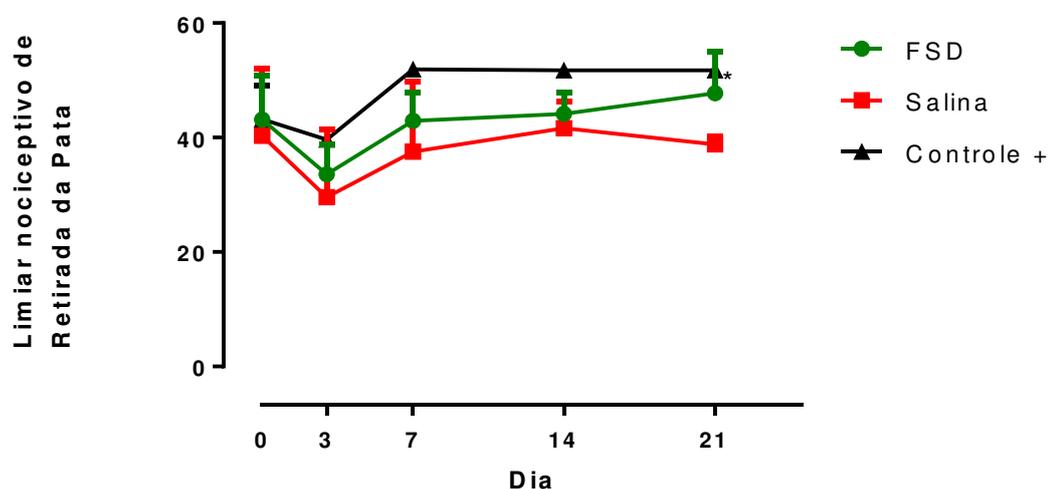


Figura 2

Na figura 2 observa-se que após indução houve aumento na alodínia mecânica dos grupos induzidos, refletido na diminuição do limiar nociceptivo. Havendo melhora da mesma a partir do 7º dia após a indução. A fração de *Scoparia dulcis L* na dose de 5µg/Kg mostrou-se estatisticamente diferente da salina sugerindo que a mesma apresenta ação analgésica a partir do 21º dia de indução. Possivelmente essa ação não foi detectada devido a dose utilizada.

4.3 - Avaliação da distribuição do peso nas patas traseiras (WEIGHT BEARING)

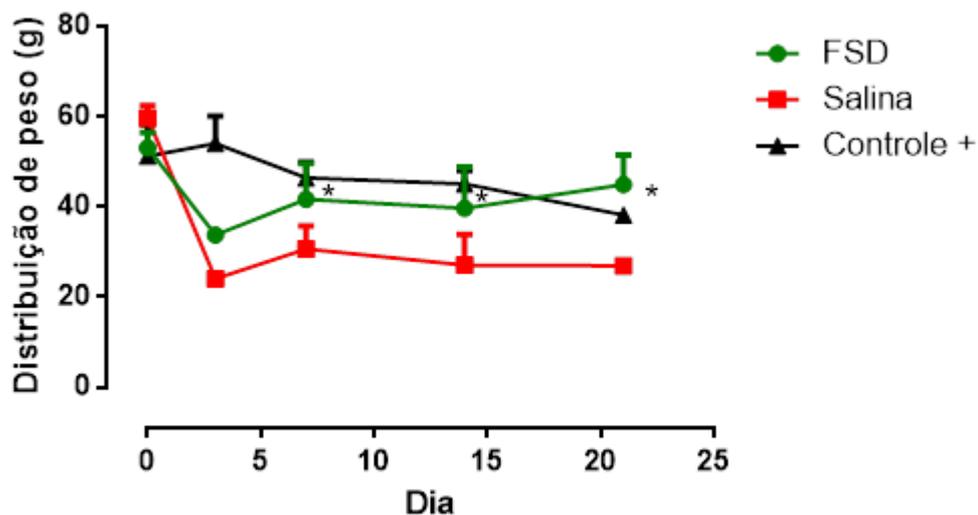


Figura 3

A figura 3 mostra a avaliação da distribuição do peso do animal em suas patas traseiras. Após indução de osteoartrite houve mudança no padrão de distribuição do peso das patas dos animais, sendo que, devido a presença de desconforto articular, os animais apoiavam seu peso predominantemente sobre a pata saudável. Houve melhora progressiva nesse padrão a partir do 7º dia de indução em aproximadamente 33% em relação ao grupo que recebeu somente salina. Pode-se observar que a fração de *Scoparia dulcis L* atenuou o déficit na distribuição do peso do animal de forma significativa a partir do 7º de indução de osteoartrite até o final do experimento.

5 DISCUSSÃO

Está bem documentado na literatura que a injeção intra-articular de MIA, um inibidor da glicólise, provoca a degeneração e morte dos condrócitos, ocasionando um processo inflamatório reparador resultando em OA, com alterações clínicas e histopatológicas semelhantes à doença (BOVE, 2003, FERNIHOUGH, 2004, SILVA, 2008, SCHUELERT, 2009).

No presente estudo, a injeção do MIA foi eficaz, provocando um estado inflamatório na cavidade articular, que foi demonstrado pela diminuição significativa no escore de marcha no terceiro dia após indução, quando os animais passaram a apresentar sinais de desconforto articular, distribuindo o peso predominantemente sobre a pata saudável e através da diminuição significativa no limiar de dor.

Nesse estudo foi observado que fração FA4 do extrato de *Scoparia dulcis L* foi capaz de diminuir o desconforto articular, tanto na fase aguda quanto na fase crônico degenerativa, medido através da distribuição do peso nas patas traseiras em ratos com OA induzida por MIA, sendo observada uma melhora em relação ao grupo que não recebeu tratamento. Estes resultados estão de acordo com a literatura. O efeito analgésico e anti-inflamatório já foi referido por Freire et al (1993), ao realizar screening farmacológicos com teste de contorções e edema de pata utilizando o extrato aquoso de *Scoparia dulcis L*. na dose de 0,5 e 1 g / kg, embora este trabalho seja com modelo de OA diferente do que foi utilizado neste estudo.

Como pode-se observar a injeção de MIA intra-articular levou a aumento da alodínea mecânica diminuindo o limiar nociceptivo dos animais. Nossos resultados na avaliação clínica sugerem que a fração FA4 do extrato de *Scoparia dulcis L* por via oral possui ação analgésica, pois no 21º dia de estudo a diferença no limiar nociceptivo entre o grupo salina e o grupo FSD é estatisticamente significativa.

Entretanto a metodologia de nosso trabalho não nos permite inferir qual seria o mecanismo de ação para esse efeito analgésico, sendo nossa limitação. Porém, isso nos instiga a prosseguir os estudos com a *Scoparia dulcis L* realizando novos experimentos com análise histopatológica, dosagem de citocinas e expressão de receptores para o entendimento do mecanismo analgésico da *Scoparia dulcis L*.

Vale também destacar que esse projeto é piloto de um doutorado em andamento no Laboratório de estudo experimental da dor da Universidade Federal do Maranhão, portanto nas próximas etapas do referido projeto realizar-se-ão análises

mais profundas da fração FA4 do extrato de *Scoparia.dulcis L* que talvez poderão elucidar essas questões.

6 CONCLUSÕES

A *Scoparia dulcis* L já é utilizada e reconhecida como planta de interesse medicinal por suas propriedades analgésicas, anti-inflamatórias dentre outras. Os nossos resultados corroboram com esses achados mostrando uma possível ação analgésica através da avaliação do limiar nociceptivo bem como da melhora do escore de marcha e da distribuição do peso dos animais nas patas traseiras mostrando aliviar a dor. Possivelmente usando-se doses variadas essa ação pode ser potencializada o que instiga a continuidade de trabalhos com essa planta para maiores investigações.

8 REFERÊNCIAS

1. MATSUZAKI, T; et al. **Intra-articular administration of gelatina hydrogels incorporating rapamycin – micelles reduces the development of experimental osteoarthritis in a murine model.** *Biomaterials* 35 (2014) 9904-9911
2. HAWKER, GA; STANAITIS I; **Osteoarthritis year.in.review 2014: clinical.** *Osteoarthritis and Cartilage* 22 (2014) 1953-1957
3. MOYER, RF; RATNESWARAN, A; BEIER, F; BIRMINGHAM, TB; **Osteoarthritis year in review 2014: mechanics – basic and clinical studies in osteoarthritis.** *Osteoarthritis and Cartilage* 22 (2014) 1989-2002
4. MALY, MR; ROBBINS, SM; **Osteoarthritis year in review 2014: rehabilitation and outcomes.** *Osteoarthritis and Cartilage* 22 (2014) 1958-1988
5. BEH, JE; et al. **SDF7, a group of Scoparia dulcis linn. derived flavonoid compounds, stimulates glucose uptakes and regulates adipocytokines in 3T3-F442a adipocytes.** *Jornal of Ethnopharmacology* 150 (2013) 339-352
6. PATRA, PK.;et al. **Antioxidant study of different extracts of Scoparia dulcis.** *International jornal of pharmacy and pharmaceutical sciences.* Vol 6, issue 1. 2014.
7. Jeong J-H, Moon S-J, Jhun J-Y, Yang E-J, Cho M-L, Min J-K (2015) **Eupatilin Exerts Antinociceptive and Chondroprotective Properties in a Rat Model of Osteoarthritis by Downregulating Oxidative Damage and Catabolic Activity in Chondrocytes.** *PLoS ONE* 10(6): e0130882.doi:10.1371/journal.pone.0130888
8. CASTRO, R. R.; CUNHA, F. Q.; SILVA JUNIOR, F. S.; ROCHA, F. A. C. A **Quantitative approach to measure joint pain in experimental osteoarthritis-evidence for a role for nitric oxide.** *Osteoarthritis Cartilage*, v. 14, p.769-768, 2006.
9. SILVA, Morgana Duarte da. **Estudos comportamentais e farmacológicos com a diacereína no modelo de monoartrite induzida por adjuvante completo de Freund (cfa) em ratos.** 2009. 76f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

10. KALFF KM, et al. **Pre-treatment with capsaicin in a rat osteoarthritis model reduces the symptoms of pain and bone damage induced by monosodium iodoacetate.** Eur J Pharmacol 2010; 641: 108-113
11. TSAI, J.C et al. **Hepatoprotective Effect of Scoparia dulcis on Carbon Tetrachloride Induced Acute Liver Injury in Mice.** The American Journal of Chinese Medicine, v. 38, 18 n.4, p.761-775, 2010
12. DI STASI, L.C.; HIRUMA-LIMA, C.A. **Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica.** 2.ed. São Paulo: UNESP, 2002. 604p.
13. FREIRE, S.M.F.; TORRES, L.M.B.; ROQUE, N.F.; SOUCCAR, C.; LAPA, A.J. **Analgesic activity of a triterpene isolated from Scoparia dulcis L. (vassourinha).** In: SIMPÓSIO BRASIL – CHINA DE QUÍMICA E FARMACOLOGIA DE PRODUTOS NATURAIS, 1989, Rio de Janeiro. Programa e Resumos. Rio de Janeiro: Ministério da Saúde/Fundação Oswaldo Cruz, 1989. p.250
14. FREIRE, S.M.F.; TORRES, L.M.B.; SOUCCAR, C.; LAPA, A.J. **Fracionamento do extrato etanólico da Scoparia dulcis L. com separação dos princípios com atividade analgésica, antiinflamatória e vasoconstritora.** In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 39., 1988, Belém. Resumos... Belém: Sociedade Botânica do Brasil/Museu Paraense Emílio Goeldi, 1988. p.50.
15. XIMENES, A.C.; MELO, A.M.P.; CUSTODIO, D.M.E.J. **Dor Osteoarticular.** In: Dor: Princípios e Prática. Porto Alegre: Artmed, 2009. Cap. 40, p. 486- 490.
16. Dimitroulas, Theodoros ; Duarte, Rui V ; Behura, Asis ; Kitas, George D ; Raphael, Jon H. **Neuropathic pain in osteoarthritis: a review of pathophysiological mechanisms and implications for treatment Seminars in arthritis and rheumatism,** October 2014, Vol.44(2), pp.145-54
17. BOVE SE, CALCATERRA SL, BROOKER RM, HUBER CM, GUZMAN RE, JUNEAU PL, SCHRIER DJ, KILGORE KS. **Weight bearing as a measure of disease progression and efficacy of anti-inflammatory compounds in a model of monosodium iodoacetate induced osteoarthritis.** Osteoarthritis Cartilage 11,p. 821-830, 2003.
18. FERNIHOUGH, J. et al. **Pain related behavior in two models of osteoarthritis in rat knee.** Pain, 112, p.83-93, 2004.

19. SILVA, A.; ANDERSEN, M. L.; TUFIK, S. **Sleep pattern in an experimental model of osteoarthritis**. Pain, 140. p. 446-455, 2008.
20. SHENGELIA, R. et al. **Complementary therapies for osteoarthritis: are they effective?** Pain management nursing, New York, v. 14, n. 4, p.274-288, 2013
21. Freire, SMF. et al. **Analgesic and anti-inflammatory properties of Scoparia dulcis L. extracts and glutinol in rodents**. Phytotherapy research, Vol 7, 408 – 414 (1993)