

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

EDUARDO RODRIGUES SILVA

OSTEOARTRITE EM MODELO EXPERIMENTAL: parâmetros radiológicos associados aos testes de motricidade, para avaliação e caracterização da evolução da osteoartrite induzida por monoiodoacetato de sódio (MIA) em ratos

SÃO LUÍS - MA
2025

EDUARDO RODRIGUES SILVA

OSTEOARTRITE EM MODELO EXPERIMENTAL: parâmetros radiológicos associados aos testes de motricidade, para avaliação e caracterização da evolução da osteoartrite induzida por MIA em ratos

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenação do Curso de Graduação em Nutrição da Universidade Federal do Maranhão para obtenção do Grau de Bacharel em Nutrição.

Orientador: Prof. Dr. Rafael Cardoso Carvalho

SÃO LUÍS - MA

2025

Ficha catalográfica

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Diretoria Integrada de Bibliotecas/UFMA

Rodrigues Silva, Eduardo.

OSTEOARTRITE EM MODELO EXPERIMENTAL: parâmetros radiológicos associados aos testes de motricidade, para avaliação e caracterização da evolução da osteoartrite induzida por monoiodoacetato de sódio MIA em ratos / Eduardo Rodrigues Silva. - 2025.

36 p.

Orientador(a): Rafael Cardoso Carvalho.

Monografia (Graduação) - Curso de Nutrição, Universidade Federal do Maranhão, Universidade Federal do Maranhão, 2025.

1. Osteoartrite. 2. Raio-x. 3. Testes Comportamentais. I. Cardoso Carvalho, Rafael. II. Título.

EDUARDO RODRIGUES SILVA

OSTEOARTRITE EM MODELO EXPERIMENTAL: parâmetros radiológicos associados aos testes de motricidade, para avaliação e caracterização da evolução da osteoartrite induzida por MIA em ratos

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à banca de defesa do Curso de Graduação em Nutrição da Universidade Federal do Maranhão para obtenção do Grau de Bacharel em Nutrição.

Aprovado em 24/02/ 2025, em sessão pública, pela banca examinadora constituída pelos seguintes membros:

Prof. Dr. Rafael Cardoso Carvalho

Orientador - UFMA

Profa. Dra. Maria do Socorro de Sousa Cartágenes

1ª Examinadora - UFMA

Profa. Dra. Joelma Ximenes Prado Teixeira

2ª Examinadora - UFMA

AGRADECIMENTOS

Nada dessa trajetória seria possível se fosse feita sozinha. É impossível terminar esse último momento sem destacar todas as pessoas que fizeram parte deste percurso e que contribuíram direta ou indiretamente para a realização da minha formação.

Primeiro, eu gostaria de agradecer a Deus por ter me dado toda a sorte de conhecer quem conheci, e por ter me dado a oportunidade de fazer tudo que desejei durante esta etapa.

Obrigado as instituições que me receberam sempre da melhor forma possível. Muito obrigado à instituição que estou me formando, a Universidade Federal do Maranhão (UFMA), que me deu as chances de realizar todos os processos, sonhar e viver todas as experiências mais incríveis que um estudante poderia almejar. As instituições parceiras, Centro Universitário do Maranhão (UNICEUMA), Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), Universidade Estadual do Maranhão (UEMA). Todas essas universidades sempre foram portas que tive a sorte de abrir e de fazer excelentes amizades, que foram fundamentais durante os momentos de bancada, de aprendizado e de muitas risadas. Meus sinceros agradecimentos para estes amigos, Antônio Viana do Nascimento Filho, Artur Francisco da Silva Neto, Gabriel Silva, Aline de Oliveira Rezende, Nathália Martins, Beatriz Ribeiro Ferreira e Adriana Araújo Dourado.

Muito obrigado também aos meus amigos do LEED, o laboratório que faço parte, onde passei cerca de 3 dos meus 4 anos de graduação. Vivemos muitos momentos onde passamos mais horas em experimentos e na UFMA do que na nossa casa, mas eu viveria tudo isso novamente se fosse necessário, por ser com vocês. Muito obrigado por todo o apoio e dedicação, Lilah Karen Ribeiro Ferreira, Davi de Sousa Pinheiro, Raysa Caldas, Armando Reinaldo Marques Silva, Arney José Nogueira, Guilherme Rocha, Gustavo Frota, Thamira Mendes Cunha, Anne Caroline Silva, Michelline Mesquita, Victoria Falcone, Rafael Lima, Larissa Rodrigues, Larissa Fernanda, Erwalber Mendes e Amanda Tissore.

Aos professores que fizeram parte da minha formação, muito obrigado, por toda a paciência, por toda calma e por sempre serem muito atenciosos em transmitir tudo o

que vocês poderiam e podiam com os recursos que vocês tinham. Vocês são uma inspiração para mim, e também um dos motivos de me fazer escolher sonhar com esta profissão, muito obrigado, Profa. Dra Joicy Cortez de Sá, Profa Dra Adriana Oliveira Dias de Sousa Morais, Prof Dr. Rui Miguel Gil da Costa Oliveira, Profa. Dra Silvia Tereza de Jesus Rodrigues Moreira Lima, Profa Dra Katia Danielle Araujo Lourenço Viana, Profa. Dra. Nayra Anielly Cabral Cantanhede, Profa. Dra. Deysianne Costa das Chagas, Profa. Dra. Isabela Leal Calado, Profa. Dra. Helma Jane Ferreira Veloso, Profa. Dra. Ana Karina Teixeira da Cunha Franca, Profa. Dra. Elane Viana Hortegal Furtado, Profa. Dra. Maylla Luanna Barbosa Martins Bragança, Profa. Dra. Maria Tereza Borges Araújo Frota, Profa. Dra. Aline Guimarães Amorim, Profa. Dra. Priscila Sousa Barcelos, Profa. Ma Yuko Ono, Prof. Dr. Tonyclay Alexandre da Silva, Profa. Dra. Sueli Ismael Oliveira da Conceição, Profa. Dra. Danile Gomes Cassias Rodrigues, Prof Dr. Mário Norberto Sevilio de Oliveira Júnior, Prof. Dr. Herikson Araújo Costa, Prof. Dr. Cristiano Teixeira Mostarda, Prof. Dr. Christian Emmanuel Torres Cabido, Prof. Dr. Carlos José Morais Dias, Prof. Dr. Flávio de Oliveira Pires, Prof. Dr. Eder Rodrigo Mariano e Profa. Dra Kátia de Angelis Lobo D'Avila.

Aos amigos de corredores, de sala de aula e de momentos que a universidade me proporcionou, vocês foram pontos de apoio e de esparecimento, que com toda certeza ajudaram a fazer esse processo ser muito mais leve e gostoso de viver, muito obrigado a Adrielly Mendes Silva, Mônica Cristina Sampaio, Rebeca Lopes Alves, Francisca Thaynara Alencar Lima, David Brito Mafra, Gabriel Jouzzano Vieira Costa, Ricardo Pinho Melo, Marcus Vinícius de Sousa Peixoto Filho, Ana Beatriz Furtado da Silva, Karla Vanessa Chaves Brandão, Rayane Fernandes Azevedo, Dyonara Maria Linhares Azevedo, Juliana Beatriz Pereira Gama e Ramyla Diniz Silva.

Aos meus amigos de longas datas, infância, escola e parceiros de vida. Obrigado por sempre serem uma fonte de alegria na minha vida e sempre estarem por perto em qualquer momento, muito obrigado, João Marco Grego D'Andrea, Aécio Cabral de Oliveira Robson, João Guilherme Leitão Queiroz, Igor de Lucas Mesquita Ferreira da Silva, Adara Vasconcelos Santos Sanches, Sabrina Borralho, Emily Maria Monte Pereira, Sarah Said Pinho, Mariana Azevedo, Vinícius Rafael Fernandes, Ialdo Alves Trindade, Wallace Vasconcelos Pessoa, Matheus Nadler de Araújo, Felipe Emanuel Campo Borba e Ana Beatriz Nogueira.

Como a família da gente é uma coisa extremamente valiosa, eu não poderia deixar de agradecer algumas pessoas, que sem elas eu não faço ideia do que eu seria e como seria a minha vida. Vocês são meus norte e vocês são meu tudo. Tem uma frase que eu gosto muito, e ela define muito bem o que é uma família para mim “Lar é onde tem alguém sempre pensando em você”, para mim vocês foram e são essa frase, tanto a família que eu vim, quanto a que eu formei e escolhi nessa jornada.

Minha professora e co-orientadora Dra Maria do Socorro Cartagenes, obrigado! Agradeço profundamente pela oportunidade que a senhora me concedeu de iniciar minha jornada na ciência. Sua disposição em me receber em seu laboratório, mesmo sem me conhecer pessoalmente, foi um presente inesquecível, especialmente por ter ocorrido no dia do meu aniversário. Agradeço também por sua confiança em seus alunos e por sua habilidade em transmitir o conhecimento científico de forma clara e acessível. Seu acolhimento e crença em nosso potencial são evidentes no sucesso do nosso laboratório, que está sempre cheio de estudantes interessados em aprender.

Minha professora e amiga Rachel Melo Ribeiro, muito obrigado! A senhora é aquela professora que trata todos os alunos como se fossem seus filhos, e isso é tão acolhedor que a gente às vezes até se sente como seu filho mesmo. Professora, é muito bom dividir momentos com a senhora, escutar as fofocas, discutir sobre os experimentos e viver ao seu lado. Obrigado por ficar mais feliz do que eu quando ganhei minhas premiações, obrigado por sempre me receber com o maior sorriso do mundo, muito obrigado por cada “relaxa meu filho, isso a gente resolve” e por deixar de ser a professora Rachel e ser a Rachelzinha.

Professor Dr. Eduardo Martins de Sousa, muito obrigado! Professor, o senhor não faz ideia de como é bom saber que o senhor estará em um experimento. O senhor parece uma máquina de pensar e fazer associações, eu fico pensando em uma frase que o professor Rafael disse uma vez: “A pessoa que mais se aproxima de um cientista, entre as que conheço, é o Edu”. É fascinante observar o seu raciocínio. Agradeço por todo o carinho, parceria e ensinamentos ao longo desses anos. Sua presença neste processo foi fundamental, sempre prestativa e disposta a nos ajudar e ensinar.

Ao Biotério e Centro de Experimentação Animal - UFMA (BCEA-UFMA), meus eternos agradecimentos a equipe, composta por Hildecy Silva da Luz, Verônica Saraiva Cesar,

Nádia Selene Guimarães Costa, Giuliano Lima Alves e Alexandre Magno Moraes Furtado. Vocês sempre me receberam muito bem, como se o Biotério fosse realmente a minha casa, perguntando para mim e para Renzo, “Vocês já almoçaram?” ou desejando uma boa prova ou boa aula todas as vezes que saímos de lá. Essas pequenas atitudes deram uma aliviada na sensação de estar tanto tempo fora de casa. Vocês sempre pararam para discutir qualquer assunto que eu tivesse interesse relacionado a experimentação, sempre foram muito atenciosos com cada questionamento e o sentimento que tenho é que vocês me adotaram no momento em que o professor me levou ao biotério. Sem dúvidas nenhum, o BCEA é o melhor lugar para se trabalhar no mundo, vocês são pessoas incríveis, muito obrigado!

Aos meus irmãos, Victor Rodrigues Silva e Camila Rodrigues Silva, muito obrigado por todos os anos que passamos juntos, apesar da distância sei que posso contar com vocês para qualquer situação e em qualquer momento. Está chegando a nossa hora de ser adulto e é meio maluco, mas acho que estamos indo bem. De vez em quando me pego pensando na nossa infância e foi muito bom crescer com vocês.

Uma amizade que me ajudou muito durante todos esses anos, e foi primordial para que toda essa história fosse escrita e vivida, Vitória Fernanda Silva Moreira. Obrigado por todo o apoio durante esses anos, você foi quem me apresentou a pesquisa dentro da universidade e a minha primeira incentivadora de ir e tentar. Obrigado de verdade, ter o teu apoio foi extremamente importante para a construção dessa história.

Professora Dra. Joelma Ximenes Prado Teixeira, muito obrigado! Para mim, é a “Joelmãe do curso de nutrição”, muito obrigado por ter feito parte desta jornada. Obrigado por parar para ouvir as queixas de cada aluno durante a sua aula, obrigado pelos momentos de conversa nos corredores antes das aulas, obrigado por acreditar muito em mim e comemorar e se fazer presente da forma que a senhora pôde nas minhas conquistas e na minha felicidade. A senhora é uma pessoa e professora incrível, uma verdadeira fonte de inspiração para qualquer aluno deste curso.

Professora Dra Isabela Leal Calado, muito obrigado! A senhora foi a professora que me deu a primeira oportunidade de me ver como nutricionista. Passei um ano agradecendo pela oportunidade, e mesmo assim acho que foi pouco. Obrigado pela

oportunidade que me ajudou muito a me formar como profissional e facilitou a minha vida quando cheguei aos estágios. A senhora é uma mulher incrível, que espera e almeja que os alunos tenham êxito através do esforço. A gente não entende muito bem as suas exigências no primeiro contato, mas depois a gente entende que esse é o seu jeito de demonstrar carinho e preocupação com o nosso futuro. Obrigado por exigir sempre o máximo de mim e da minha turma, a senhora é uma professora que faz o curso formar bons profissionais, que passam a entender que sem estudar a gente não vai chegar em lugar nenhum.

Dois amigos que vieram quase no fim desta jornada, mas aparentemente a gente se conhece desde o início de tudo, Gabriel Moreira Pereira (Gabs) e João Paulo Alves Pereira. Amigos, obrigado por terem aparecido nessa história, vocês surgiram para melhorar o que já estava bom, e eu achava que isso não era possível. Mas a disponibilidade de vocês de sempre estarem dispostos a ajudar e a simplicidade de vocês para se encaixar nessa aventura foi muito legal. Que bom que vocês apareceram e ficaram, tenho muita sorte de ter o “Paulinho e o Gabs” para me ajudar e para poder ajudá-los quando necessário. Vocês são pessoas incríveis.

Pai, Luiz Alberto Luz Silva, obrigado por ser a minha fonte de inspiração, de como levar a vida de um jeito leve e por me mostrar que nunca é tarde para tentar. Esse meu jeito leve de enxergar a vida e sempre buscar o lado bom das coisas, eu sei que herdei do senhor, está no nosso gene. Às vezes, nós somos até ingênuos com a nossa perspectiva de ver o mundo, mas eu não trocaria essa ingenuidade por nada. Que bom é ter o senhor como pai e amigo! Desculpa ter faltado em alguns jogos do Flamengo por causa dos estudos, por não poder lhe acompanhar nas caminhadas porque não tinha tempo devido aos meus compromissos, mas tudo tinha um propósito, e prometo compensar esse tempo, tá bom?

Meu professor orientador Rafael Cardoso Carvalho, obrigado! O senhor é um exemplo que tenho como líder, professor, amigo, conselheiro, aluno e entusiasta em aprender. Obrigado por todos os direcionamentos que o senhor me deu até aqui, não tenho como agradecer com palavras todas as suas atitudes comigo, uma vez eu disse: “O meu sonho era que todo aluno um dia tivesse um “professor Rafael” na vida dele.” e talvez seja por isso que quero tanto ser um professor, sabe? É muito bom poder estar

com o senhor para poder conversar e viajar nos nossos assuntos. Muito obrigado por ter feito parte dessa jornada e por ter cumprido com todas as suas promessas.

Meu irmão da UFMA, José Renzo Castro Garcês, muito obrigado! “Mano”, eu não esperava fazer uma amizade como a que nós fizemos nesse tempo de graduação. Eu hoje tenho 3 irmãos, porque não posso te considerar menos que isso. A gente viveu e dividiu muita coisa nesse tempo, e a tua presença me fez querer encarar e aceitar todos esses desafios. Tinha coisa que eu pensava “se Renzo fez eu também posso”, e isso foi me incentivando a libertar muitas limitações. Uma vez eu disse: “Queria que todo mundo tivesse um amigo que nem o Renzo na universidade.” porque é bom demais saber que posso contar contigo para cada loucura que passa na minha mente, passar 8,10,14,16 horas em laboratório, em estágio, ou em um carro indo para mais uma das viagens nunca foi cansativo, porque eu tinha comigo o meu melhor amigo, e sabia que por mais cansado que eu estivesse, a gente iria trabalhar e fazer o nosso melhor. Muito obrigado por ter dividido comigo cada dia de todos esses anos. Te desejo o melhor de tudo que pode ter neste mundo, porque eu sei o quanto você merece. Muito obrigado por ser meu amigo!

Mãe, Daniela Rodrigues, obrigado por todo o esforço e dedicação que a senhora sempre teve comigo e com os meus irmãos. O meu maior sonho sempre foi de ser um motivo de orgulho para senhora, porque você me ensinou uma das coisas mais importantes da vida, que sempre temos que lutar por tudo que sonhamos e acreditamos. A senhora não me ensinou isso através de discursos, mas da melhor forma, com o seu exemplo. Eu e meus irmãos sabemos da sorte que temos de ter uma mãe assim. Obrigado por me preparar para a vida e de sempre ficar ao meu lado, me apoiando e até duvidando das minhas ideias, por ter medo de me ver falhar, mas eu aprendi e me inspirei nesses 25 anos de vida no seu esforço e na sua coragem. Isso é o suficiente para eu saber que sou capaz de tudo, tá bom? Deu certo o primeiro passo, pode ficar tranquila, que o seu filho só está começando e ele sabe muito bem para onde ir e que tem para onde voltar. Te amo muito, mais uma vez, obrigado por tudo!

“Você quer um milagre, filho? Seja um milagre.”
(Morgan, Freeman: **TODO PODEROSO**, 2003)

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Avaliação de distribuição de pesos sobre as patas traseiras em fêmeas e machos – WEIGHT BEARING. Página 23.

Figura 2 – Avaliação da dor espontânea pela deambulação forçada em fêmeas e machos – Von Frey. Página 25.

Figura 3 – Avaliação da dor espontânea pela deambulação forçada em fêmeas e machos – ROTAROD. Página 27.

Figura 4 - Radiologia da articulação do joelho de ratas fêmeas – Grupos II, V e VII. Página 29.

Figura 5 – Radiologia da articulação do joelho de ratos machos – Grupos I, III e IV. Página 30.

LISTA DE ABREVIACOES:

AINE - Anti-inflamatório não esteroideal

AO - Osteoartrite

CEUA - Comissão de tica no Uso de Animais Universidade Federal do Maranhão

CONCEA - Conselho Nacional de Controle de Experimentao Animal

IMC - ndice de massa corporal

LNRPA - Limiar da pata afetada

LNRPC - Limiar da pata contralateral

Micro-CT - Tomografia microcomputadorizada

MIA - Monoiodoacetato sódico

OMS - Organizao Mundial da Saúde

PPA - Peso da Pata Afetada

PPC - Peso da Pata Contralateral

RPM - Rotaes por Minuto

SBCAL - Sociedade Brasileira de Animais de Laboratório

WB - Weight Bearing

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REFERENCIAL TEÓRICO	13
2.1 Osteoartrite (OA)	13
2.2 Modelos Experimentais da AO	14
2.3 Radiologia na caracterização da OA experimental	15
2.4 Testes de Motricidade na Avaliação Funcional da AO	15
2.5 Influência do Dimorfismo Sexual na OA Experimental	16
3 OBJETIVOS	17
3.1 Geral	17
3.2 Específicos	17
4 METODOLOGIA	17
4.1 Protocolo anestésico e indução da OA	17
4.2 Protocolo experimental	18
4.3 Testes Comportamentais	18
4.3.1 Weigh Bearing	18
4.3.2 Von Frey	19
4.3.3 Rota Rod	20
4.4 Avaliação radiográfica	20
4.5 Análise estatística	20
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	21
5.1 Testes comportamentais	21
5.2 Análise Radiográfica	26
6 CONCLUSÃO	30
Referências	31

RESUMO

A osteoartrite (OA) é uma doença articular degenerativa caracterizada por lesões na cartilagem articular e do osso subjacente, muitas vezes levando à dor e a incapacidade funcional. Modelos experimentais são ferramentas importantes para entender a patogênese da OA, assim como o desenvolvimento de intervenções terapêuticas. Estes modelos, que variam de estudos *in vitro* em sistemas celulares, e *in vivo* em animais, podem fornecer insights sobre os mecanismos da doença e potenciais estratégias de tratamento. Neste contexto, objetivou-se com esse estudo descrever radiologicamente a OA em modelo experimental, relacionando as características radiológicas com as análises comportamentais nos diferentes sexos. Para tanto, foram utilizados 36 ratos adultos (18 machos e 18 fêmeas) Wistar (*Rattus norvegicus*), com 60 dias de idade. Para a indução da OA experimental com o monoiodoacetato sódico (MIA) no joelho direito dos animais, e realização dos exames radiográficos, os animais foram anestesiados com cloridrato de quetamina, midazolam e tramadol por via intraperitoneal, e mantidos em plano anestésico com máscara de isoflurano a 2,5%. Os animais foram divididos em três grupos para ambos os sexos, induzido e tratado (Meloxicam), induzido e não tratado, saudável.

O experimento foi dividido em seis tempos experimentais, D0, D4, D7, D14, D21 e D28. No D0 é feita a indução da OA, o D4 é o primeiro dia de testes comportamentais e análise radiológica, e assim segue até o D28, onde são feitos os testes comportamentais, análise radiológica e a eutanásia. Os resultados demonstraram que os testes comportamentais não diferem entre os grupos tratados e não tratados, exceto no D4 de machos no teste de deambulação forçada (Rotarod) e em fêmeas no D28 quando submetidas ao teste de sustentação de peso (WB). Os achados radiológicos, como diminuição do espaço articular e surgimento de osteófitos confirmam que houve uma progressão natural da OA dentro do tempo experimental proposto. Os resultados demonstraram que, após a indução da OA foram encontradas esclerose subcondral, osteófitos marginais e diminuição do espaço articular nos joelhos avaliados, demonstrando graus de severidade da doença semelhantes entre os grupos tratados e não tratados.

Palavras-chave: Osteoartrite; Raio-x; Testes comportamentais.

ABSTRACT

Osteoarthritis (OA) is a degenerative joint disease characterized by lesions in the articular cartilage and underlying bone, often leading to pain and functional disability. Experimental models are important tools for understanding the pathogenesis of OA, as well as the development of therapeutic interventions. These models, which range from in vitro studies in cellular systems to in vivo studies in animals, can provide insights into the mechanisms of the disease and potential treatment strategies. In this context, this study aimed to radiologically describe OA in an experimental model, relating the radiological characteristics with behavioral analyses in different sexes. For this purpose, 36 adult Wistar rats (*Rattus norvegicus*) (18 males and 18 females), aged 60 days, were used. For the induction of experimental OA with sodium monoiodoacetate (MIA) in the right knee of the animals, and for radiographic examinations, the animals were anesthetized with ketamine hydrochloride, midazolam and tramadol intraperitoneally, and maintained under anesthesia with 2.5% isoflurane mask. The animals were divided into three groups for both sexes: induced and treated (Meloxicam), induced and untreated, and healthy. The experiment was divided into six experimental times: D0, D4, D7, D14, D21 and D28. On D0, OA induction is performed, D4 is the first day of behavioral tests and radiological analysis, and so on until D28, when behavioral tests, radiological analysis and euthanasia are performed. The results showed that behavioral tests did not differ between treated and untreated groups, except on D4 in males in the forced ambulation test (Rotarod) and in females on D28 when subjected to the weight-bearing test (WB). Radiological findings, such as decreased joint space and the appearance of osteophytes, confirm that there was a natural progression of OA within the proposed experimental time. The results demonstrated that, after OA induction, subchondral sclerosis, marginal osteophytes and decreased joint space were found in the evaluated knees, demonstrating similar degrees of disease severity between treated and untreated groups.

Keywords: Osteoarthritis; X-ray; Behavioral tests.

1 INTRODUÇÃO

A osteoartrite (OA) é uma doença articular crônica degenerativa e uma das principais causas de incapacidade em todo o mundo. A dor acaba sendo o principal sintoma, e nenhum tratamento pode interromper a progressão da doença ou ter um alívio sintomático eficaz Alves-Simões (2022). A OA é a causa mais comum e persistente que gera dependência e incapacidade de mobilidade Messier et al., (2022). No Brasil a faixa etária mais afetada está entre 60 e 69 anos, com as mulheres sendo o público mais acometido Abrahão et al., (2023).

Tendo em vista que a idade é um dos fatores que podem desencadear doenças ortopédicas degenerativas, é importante ter um olhar atento para os novos casos, uma vez que no ano de 2021, foram identificadas 10.180 pessoas que estavam internadas, onerando os SUS em virtude da OA Abrahão et al., (2023). Além da idade, segundo Pacca et al., (2018), o valor do índice de massa corporal (IMC) elevado, associado ao tempo elevado nesta condição também são considerados fatores de risco para o desenvolvimento da OA. A Organização Mundial da Saúde (OMS), estima que 10% da população com mais de 60 anos tenha complicações resultantes da OA.

Desta forma, levando em consideração toda problemática e contexto desta patologia, a OA pode ser considerada uma preocupação crescente da medicina, e um dos grandes desafios para ciência neste século. Sendo assim, é cabível e oportuno destacar que para o estudo da OA, modelos experimentais permitem que os pesquisadores acompanhem a progressão da doença, sendo os estudos em ratos atualmente bem aceitos por toda a comunidade científica Alves-Simões (2022). Vários modelos experimentais demonstram a eficácia da utilização de animais de laboratório para as pesquisas com OA.

Entretanto, em uma análise crítica algumas lacunas para o estudo desta patologia são observadas, principalmente no que diz respeito às caracterizações morfológicas do processo de evolução e tratamento da doença em modelos animais, quer sejam elas por análises histológicas ou por técnicas de imagem, como RX, cujo o critério de avaliação radiográfica e classificação do grau radiológico é geralmente baseada nas descrições nos critérios de avaliação descritos por Kellgren & Lawrence (1957), para grau radiológico de osteoartrose em humanos.

As pesquisas sobre osteoartrite (OA) utilizam principalmente modelos pré-clínicos murinos, que estudam mecanismos e vias que conduzem a patogênese da doença. Esses modelos identificaram alvos terapêuticos para tratamentos inovadores,

entretanto, muitas descobertas não foram traduzidas com sucesso para aplicações humanas. Segundo Dvir-Ginzberg; Maatuf; Mobasher (2024) há o uso predominante de animais machos que podem ignorar diferenças relacionadas ao sexo, que influenciam a progressão da OA. Além disso, relataram que as pesquisas devem incluir ambos os sexos para entender melhor as discrepâncias mecanicistas na OA.

Posto isso, e entendendo a existência de lacunas no conhecimento sobre as diferenças na progressão da OA entre os sexos, especialmente no que se refere aos achados radiológicos e sua relação com a função motora e sinais de dor, e sabendo-se que o dimorfismo sexual pode influenciar a suscetibilidade e a gravidade da OA, essa pesquisa, justifica-se pela necessidade de caracterizar, a evolução radiológica da OA induzida por MIA em ratos machos e fêmeas, relacionando-a com testes de motricidade para uma avaliação mais abrangente do impacto funcional da doença.

Por isso, este trabalho teve como objetivo geral analisar por exame de imagem a influência dos sexos sobre a progressão da OA e comparar com os testes comportamentais.

A identificação de possíveis diferenças sexuais na progressão da OA podem contribuir para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas mais eficazes e individualizadas. Além disso, ao relacionar parâmetros radiológicos com comprometimento funcional e dor, este estudo poderá fornecer subsídios importantes para a interpretação de exames clínicos em humanos e auxiliar no aprimoramento dos métodos de avaliação da OA em pesquisas pré-clínicas.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Osteoartrite (OA)

A OA é uma doença crônica e degenerativa das articulações. É caracterizada pelo desgaste progressivo da cartilagem, tecido que reveste as extremidades dos ossos e permite o movimento suave e sem atrito. Havendo desgaste, sinais como dor, rigidez, inchaço e perda de função articular podem ser comuns para portadores desta condição Alves-Simões (2022). A OA pode afetar diversas articulações, como joelhos, quadris, mãos, coluna vertebral e pés Mersiha Cerkezovic et al., (2024)

A dor é o principal sintoma e pode variar de leve a intensa, piorando com o movimento e aliviando com o repouso. A osteoartrite tem um impacto significativo na qualidade de vida dos pacientes, limitando suas atividades diárias, como caminhar,

subir escadas, vestir-se e realizar tarefas domésticas. A dor crônica e a perda de função podem levar à depressão, ansiedade e isolamento social Messier et al., (2022).

Os casos de OA vêm aumentando em uma perspectiva global, visto que, a população mundial está envelhecendo e tendo alguns fatores que contribuem para o surgimento desta patologia Abrahão et al., (2023). No estudo de Hunter e Bierma, têm-se o relato de que a idade é um fator determinante em países como Espanha e Reino Unido para risco elevado de OA. Em um estudo conduzido por Abrahão et al., (2023) percebeu-se que no Brasil a faixa etária que está mais suscetível a essa patologia, ocorre entre os 60 e 69 anos, nos anos de 2017 a 2021 foram feitas 74.730 internações decorrentes da OA, tendo um destaque para as mulheres como o maior público-alvo entre os estudos.

2.2 Modelos Experimentais da OA

A OA é uma doença que preocupa muito a medicina. Estudar essa doença em pessoas é difícil por alguns motivos. Primeiro, existem questões éticas complexas. Segundo os testes podem ser invasivos e desconfortáveis para os pacientes. Além disso, muitas vezes só consegue-se estudar a doença quando ela já está em estágio avançado, o que limita a compreensão sobre como ela se desenvolve. Utiliza-se o modelo animal para pesquisa e estudo da OA, por permitir que os pesquisadores consigam acompanhar a progressão da doença. Considerando o modelo em ratos, atualmente bem aceito e estabelecido por toda a comunidade científica Alves-Simões (2022).

Existem diversos modelos experimentais capazes de induzir a osteoartrite em animais, os quais variam em termos da progressão e velocidade do estabelecimento da doença, resultando em uma resposta diferente, conforme sua aplicação. Quando realizadas in vivo, os modelos cirúrgicos, químicos e espontâneos apresentam limitações para o estudo da doença. Porém, os modelos cirúrgicos e espontâneos assemelham-se mais à OA humana. O modelo químico apresenta uma intervenção mais aguda, por isso ele é uma alternativa mais interessante para testar a progressão da doença em um curto espaço de tempo experimental ou para avaliar a eficácia de controle da dor de algum fármaco Silva et al., (2023).

O tempo experimental de 28 dias já é bem estabelecido na literatura para o estudo de controle e avaliação da progressão desta patologia, quando induzida por MIA Kwon et al., (2023) Da Silva et al., (2023).

O modelo experimental de indução através do MIA é amplamente utilizado e validado em diversas espécies, por reproduzir as características da OA humana, incluindo morte celular, perda de condrócitos e alterações histológicas. Este modelo também é capaz de induzir a inflamação, hiperalgesia neurogênica e liberação de substâncias, como citocinas e metaloproteinases, que têm como função degradar a cartilagem. Em conclusão, o modelo de OA induzido por MIA é uma ferramenta prática e segura para auxiliar a elucidar os mecanismos da doença e na descoberta de tratamentos alternativos Da Silva et. al. (2024).

2.3 Radiologia na caracterização da OA experimental

Alguns métodos de imagem podem ser utilizados para a confirmação da indução e se a progressão da doença está ocorrendo da maneira esperada. Como métodos de imagem têm-se a radiografia, a tomografia microcomputadorizada (Micro-CT), ressonância magnética. A Micro-CT exige a análise de um software para confirmar possíveis danos na superfície da cartilagem, podendo capturar pequenas mudanças presentes na cartilagem induzida. Para isso é necessário o uso de biomarcadores de imagem para avaliação e diagnóstico Kauppinen et al., (2024).

Outro método válido para detecção da OA é a ressonância magnética, por ser uma excelente opção para visualizar tecidos moles, como a cartilagem. É também um método que pode detectar lesões da medula óssea que estão correlacionadas tanto com lesões articulares, como a intensificação da dor Murakami et al., (2023)

A avaliação radiográfica consegue acompanhar a progressão da doença, visualizando características como, diminuição do espaço articular, esclerose óssea subcondral, formação de osteófitos, presença de lesões císticas e alterações trabeculares. Tendo como principais fatores da gravidade da OA a diminuição do espaço articular e a formação de osteófitos, que estão relacionados com remodelação óssea devido ao desgaste da cartilagem Roermer et al., (2022).

2.4 Testes de Motricidade na Avaliação Funcional da OA

A avaliação da dor e da incapacidade em modelos animais de OA é um aspecto crucial na pesquisa translacional, fornecendo insights valiosos sobre a progressão da doença e a eficácia de potenciais terapias Palikov et al., (2020). Testes funcionais emergem como ferramentas indispensáveis nesse contexto, oferecendo medidas quantitativas e objetivas das alterações biomecânicas e comportamentais características da OA.

Os testes funcionais permitem quantificar o impacto da dor na mobilidade dos animais, revelando deficiências funcionais que espelham a perda de qualidade de vida observada em pacientes humanos. Através dessas técnicas, é possível não apenas determinar o grau de disfunção articular e muscular, mas também monitorar a resposta dos animais a diferentes intervenções terapêuticas Palikov et al., (2020). Dentre os principais testes de avaliação funcional utilizados em modelos experimentais de OA, destacam-se; Teste de Sustentação (WB), ele mede a distribuição do peso entre os membros traseiros dos animais, sendo fundamental para identificar a assimetria na locomoção, um indicador de dor articular e incapacidade motora. Em modelos de OA, observa-se uma redução significativa no suporte de peso no membro afetado, evidenciando o impacto da dor na mobilidade e equilíbrio do animal Palikov et al., (2020); Teste de Von Frey, este teste avalia a sensibilidade do animal através da aplicação de estímulos mecânicos. Modelos experimentais de OA exibem limiares reduzidos de retirada da pata, indicando hipersensibilidade à dor mecânica, um sintoma proeminente da doença em humanos. Este teste tem sido empregado para correlacionar a progressão da osteoartrite com a intensidade da dor neuropática e inflamatória (Xu et al., 2020). O Rotarod é um método utilizado para analisar como a OA afeta a função motora e o equilíbrio. Ao medir o desempenho dos ratos em um no equipamento, os pesquisadores podem obter informações precisas sobre o impacto da doença nas articulações e na capacidade de movimento. Esses resultados são de extrema importância para a análise da progressão OA e avaliar a eficácia de possíveis tratamentos Morais et al., (2016).

A avaliação da dor e da incapacidade em modelos animais de osteoartrite é um campo de pesquisa em constante evolução. Os testes funcionais desempenham um papel crucial nesse contexto, oferecendo medidas quantitativas e objetivas das alterações biomecânicas e comportamentais associadas à OA. No entanto, é imperativo reconhecer as limitações inerentes aos modelos animais e buscar o aprimoramento contínuo das metodologias, visando aprimorar a relevância translacional dos estudos e garantir que os resultados obtidos possam ser efetivamente aplicados no desenvolvimento de novas terapias para a osteoartrite.

2.5 Influência do Dimorfismo Sexual na OA Experimental

As diferenças hormonais presentes nos sexos podem agir como variáveis que interferem de maneira direta na validação do experimento. O estrogênio em níveis

fisiológicos pode agir como fator protetor contra a OA por exemplo, por agir contra a inflamação da patologia, atuando contra o estresse no retículo endoplasmático. Assim, diminuindo a apoptose de condrócitos e resultando como um fator protetor contra a OA Dreier et al., (2022). Por mais que exista uma disparidade na análise clínica, onde cerca de 9,6% dos homens e 18% das mulheres são acometidos desta patologia, tendo como possíveis causas, fatores hormonais, relacionados a baixa do estrogênio de mulheres na menopausa, a expressão anatômico, pelo fato dos homens terem um volume maior de cartilagem articular, que pode atenuar a progressão da OA. Além disso, os homens possuem, maior área de superfície, espessura e maior densidade mineral óssea, como fatores protetores, quando comparados a mulheres. Porém, na pesquisa experimental, ainda existe uma carência de dados que corrobora com os achados clínicos, o que resulta em dificuldades para o surgimento de novos tratamentos Pucha et al., (2020).

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

- Analisar por exame de imagem a influência do sexo na progressão da OA e relacionar com as análises comportamentais.

3.2 Específicos

- Caracterizar radiologicamente a progressão da osteoartrite induzida por MIA considerando o dimorfismo sexual;
- Relacionar os achados radiológicos com os testes de motricidade;
- Comparar a evolução da osteoartrite entre machos e fêmeas, identificando diferenças radiológicas e funcionais associadas ao dimorfismo sexual;
- Avaliar a associação entre os graus de comprometimento articular observados nos exames radiológicos e os sinais de dor e limitação estratificada por sexo.

4 METODOLOGIA

4.1 Protocolo anestésico e indução da OA

Este estudo foi conduzido utilizando 36 ratos adultos (18 machos e 18 fêmeas) Wistar (*Rattus norvegicus*), com 60 dias de idade, provenientes do Biotério e Centro de Experimentação Animal da Universidade Federal do Maranhão. Os animais foram

mantidos em condições padronizadas de temperatura ($24^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), umidade (<60%) e ciclo claro-escuro de 12 horas, com livre acesso à ração padrão e água. Antes do início do experimento, os animais foram aclimatados por um período de sete dias.

A indução da osteoartrite foi realizada através de uma injeção intra-articular de MIA no joelho direito dos ratos (2 mg/kg). A administração foi realizada no espaço intra-articular, com o joelho flexionado, utilizando-se o ligamento patelar lateral como referência anatômica. É importante destacar que o procedimento foi realizado sob anestesia geral, induzida por administração intraperitoneal de cloridrato de cetamina (50 mg/kg), cloridrato de midazolam (1 mg/kg) e cloridrato de tramadol (5mg/kg), com manutenção anestésica em máscara de isoflurano a 2,5% Da Silva et al., (2023) De Moraes et al., (2016).

Todos os procedimentos experimentais foram conduzidos de acordo com as normas estabelecidas pelo CONCEA – Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal, SBCAL - Sociedade Brasileira de Animais de Laboratório e pela Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA, da Universidade Federal do Maranhão (Processo ° 23115.002825/2023-71).

4.2 Protocolo experimental

Este estudo é um ensaio pré-clínico no qual os animais foram distribuídos aleatoriamente em diferentes grupos experimentais. A divisão dos grupos foi feita da seguinte forma:

- Grupo I - machos saudáveis (n=6) - animais que não foram submetidos ao protocolo experimental;
- Grupo II – fêmeas saudáveis - animais que não foram submetidos ao protocolo experimental (n=6);
- Grupo III - machos submetidos ao protocolo experimental e não tratados (n=6);
- Grupo IV - machos submetidos ao protocolo experimental e tratados com AINE (anti-inflamatório não esteroideal, Meloxicam, 1mg/kg), durante 28 dias, 1x ao dia, por gavagem (n=6);
- Grupo V - fêmeas submetidas ao protocolo experimental e não tratadas (n=6);
- Grupo VI - fêmeas submetidas ao protocolo experimental e tratadas com AINE (Meloxicam, 1mg/kg), durante 28 dias, 1x ao dia, por gavagem (n=6);

4.3 Testes Comportamentais

4.3.1 Weigh Bearing

O teste de sustentação de peso (WB) ou incapacitação estática avalia a distribuição do peso corporal entre os membros pélvicos, sendo amplamente utilizado em modelos de dor articular para identificar desconforto e hiperalgesia primária. Este método permite uma análise quantitativa da carga suportada pelas patas traseiras, refletindo o grau de dor e comprometimento funcional em modelos OA.

Os animais foram colocados em um equipamento composto por duas plataformas independentes conectadas a sensores digitais de alta precisão. Cada plataforma registrou a força exercida pelas patas traseiras separadamente, permitindo a análise da distribuição de peso. Os valores coletados foram exibidos em um display digital, e cada animal foi submetido a três aferições consecutivas para assegurar a consistência das medições. A fórmula empregada para calcular a distribuição do peso foi:

Distribuição do peso % = $\frac{PPA}{PPA + PPC} \times 100$, onde PPA representou o peso na pata afetada, e PPC o peso na pata contralateral. Este cálculo permitiu quantificar a assimetria na distribuição do peso, um indicador direto de dor ou desconforto. Para minimizar vieses, o experimento foi conduzido em regime cego, com três avaliadores treinados que não possuíam informações sobre os grupos experimentais. Os resultados foram expressos como a média dos scores registrados pelos avaliadores, garantindo maior confiabilidade nos dados obtidos. Adicionalmente, todos os testes foram realizados em um ambiente controlado, com temperatura constante e iluminação suave, para reduzir o estresse dos animais Kwon et al., (2023).

4.3.2 Von Frey

O teste de Von Frey é um dos métodos mais sensíveis para avaliar a alodinia mecânica em modelos animais, sendo amplamente utilizado para mensurar a sensibilidade ao toque e o limiar nociceptivo. Neste estudo, os animais foram colocados em caixas individuais de acrílico transparente posicionadas sobre uma grade de arame que permitia o acesso à face plantar das patas traseiras.

Após um período de ambientação de 30 minutos, aplicaram-se filamentos calibrados de Von Frey (4g, 10g e 300g) na sequência de força ascendente ou descendente, conforme a resposta do animal. Uma resposta positiva foi considerada quando o animal retirava a pata, lambia e mordia o local do estímulo, enquanto a ausência de reação foi registrada como uma resposta negativa. Para evitar efeitos de

sensibilização, houve um intervalo mínimo de 30 segundos entre cada aplicação.

O cálculo do limiar nociceptivo de retirada da pata (LNRP) foi realizado utilizando a fórmula: $LNRP (\%) = LNRPA / LNRPA + LNRPC \times 100$, onde LNRPA foi o limiar da pata afetada, e LNRPC o limiar da pata contralateral. Todas as medições foram realizadas por avaliadores cegos em relação aos grupos experimentais, reduzindo possíveis vieses interpretativos. O teste foi finalizado após três respostas consecutivas idênticas (positivas ou negativas) Kwon et al., (2023) De Moraes et al., (2016).

4.3.3 Rota Rod

O teste Rota Rod é um método amplamente empregado para avaliar a coordenação motora e a capacidade funcional em roedores. O equipamento utilizado consistiu em um cilindro giratório de 30 cm de diâmetro, revestido por uma malha de aço inox para facilitar a aderência dos animais. Os ratos foram colocados sobre o cilindro, que girava a uma velocidade progressiva de 4 a 40 rpm, durante um período de 300 segundos. A capacidade dos animais de permanecerem no cilindro foi avaliada utilizando uma escala de 1 a 5, sendo: 1: Uso normal; 2: Claudicação leve; 3: Claudicação grave; 4: Desuso intermitente; 5: Desuso completo. Os testes foram realizados em triplicata, e os resultados foram expressos como a média das pontuações atribuídas por três avaliadores cegos De Moraes et al., (2016).

4.4 Avaliação radiográfica

As radiografias dos joelhos dos animais foram obtidas através do aparelho de raio-x Micro imagem Diox-602, com tensão de 60 Kv (fixo) e corrente do tubo de 4mA (fixo), por meio de um sistema de imagem computadorizada com sensor eletrônico para radiografia digital (digitalizador de imagens radiográficas microimagem). Os animais anestesiados foram posicionados em decúbito lateral direito, e as imagens foram realizadas em projeção latero-lateral e craniocaudal com os joelhos em extensão. Os exames radiológicos foram realizados nos tempos 0 e 28 dias em todos os grupos experimentais propostos. As imagens foram analisadas por “estudo cego”, por profissional, médico veterinário, especializado em imagiologia. Os achados radiológicos encontrados foram analisados e comparados com os achados dos testes comportamentais para machos e fêmeas.

4.5 Análise estatística

A comparação das médias dos diferentes grupos experimentais foi realizada pela análise de variância univariada (one-way ANOVA), para determinar se existem diferenças estatisticamente significativas entre os grupos propostos, seguida pelo teste de TUKEY, que realiza comparações múltiplas entre as médias dos grupos, determinando assim são os pares com diferenças significantes. 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® 7.0 (GraphPad software, San Diego, CA).

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

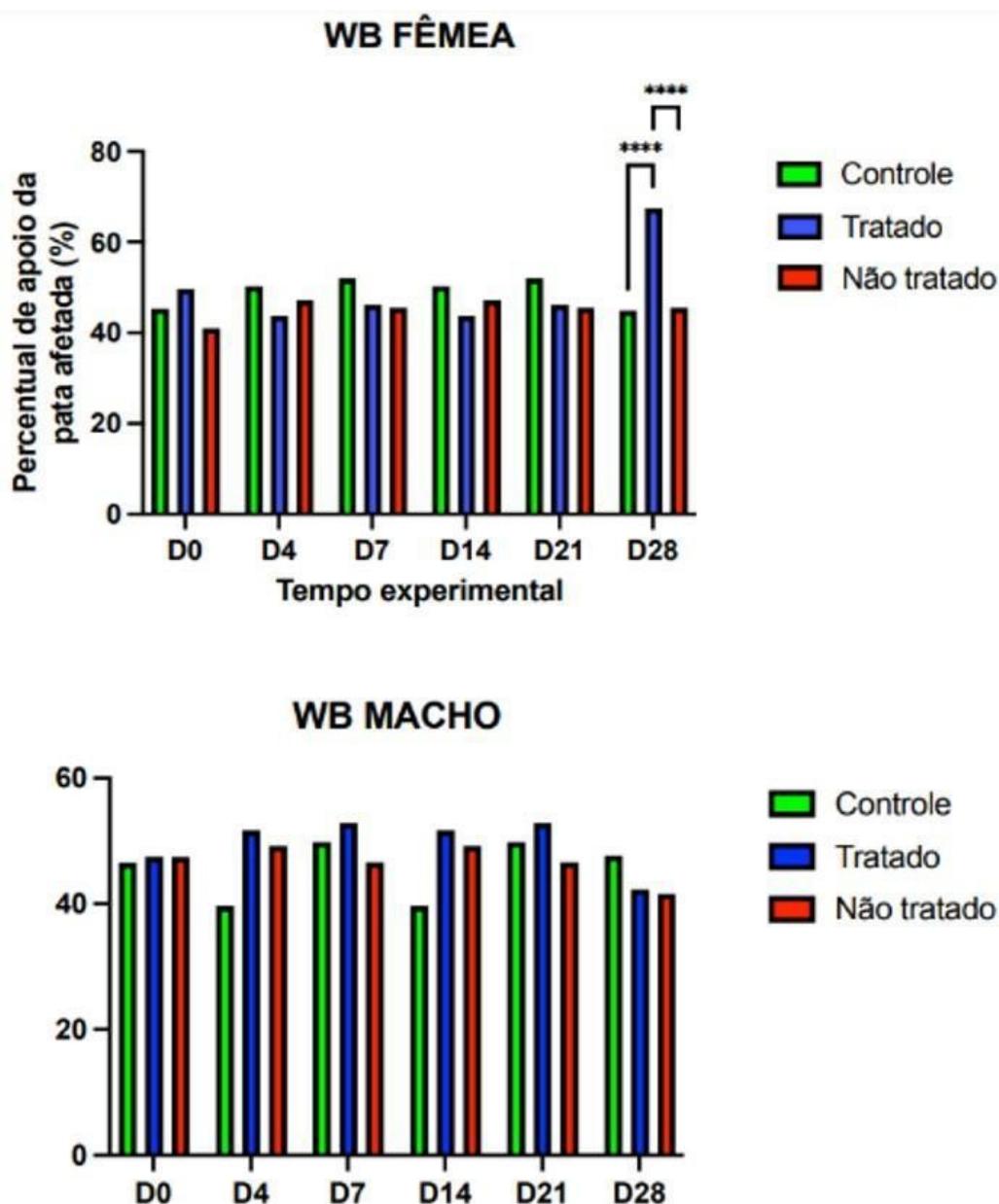
Em nossa pesquisa, como modelo (técnica) de indução da OA experimental, utilizamos a injeção local de MIA que, segundo Abdel Jaleel et al., (2020) interrompe o metabolismo dos condrócitos inibindo a glicólise, deteriorando a cartilagem do joelho. Assim, as superfícies articulares do fêmur e tíbia expostos, são danificadas, resultando em estresse e dor.

A osteoartrite é uma doença inflamatória que apresenta uma resposta caracterizada como expansão da membrana sinovial por líquido edematoso. A injeção intra-articular de MIA libera citocinas como IL-6, TNF- α e IL- β de condrócitos deteriorados aumentando o desenvolvimento do processo inflamatório na cartilagem. Além disso, essas citocinas aumentam a degradação da cartilagem. Existe uma relação que o TNF- α ativa os neurônios sensoriais, iniciando assim uma cascata de respostas inflamatórias, aumentando a produção de interleucinas, IL-6 e IL-1 β Oliveira et al., (2011). Para analisar a evolução da doença e comparar os achados comportamentais com os achados radiográficos utilizamos três testes comportamentais clássicos dentro da literatura especializada, a saber: o rotarod, o Von Frey, e o Weight Bearing. Segundo Silva et al., (2024), a OA atinge aspectos motores e sensoriais, sendo necessário que sejam realizados testes distintos para poder avaliar de forma isolada cada fator a ser estudado.

5.1 Testes comportamentais

Considerando a avaliação da distribuição de pesos sobre os membros pélvicos foi feita pelo teste de Weight Bearing (Figura 1). Após o período experimental, foi possível observar diferença estatisticamente significativa entre os grupos tratados e não tratados somente no tempo experimental D28 das fêmeas. Quando realizamos a comparação entre os sexos pode-se observar o mesmo padrão de resposta ao teste, como ilustrado na figura 1.

Figura 1 – Avaliação de distribuição de pesos sobre as patas traseiras em fêmeas e machos – WEIGHT BEARING.



Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão. * ($p < 0,05$); ** ($p < 0,01$); *** ($p < 0,001$).

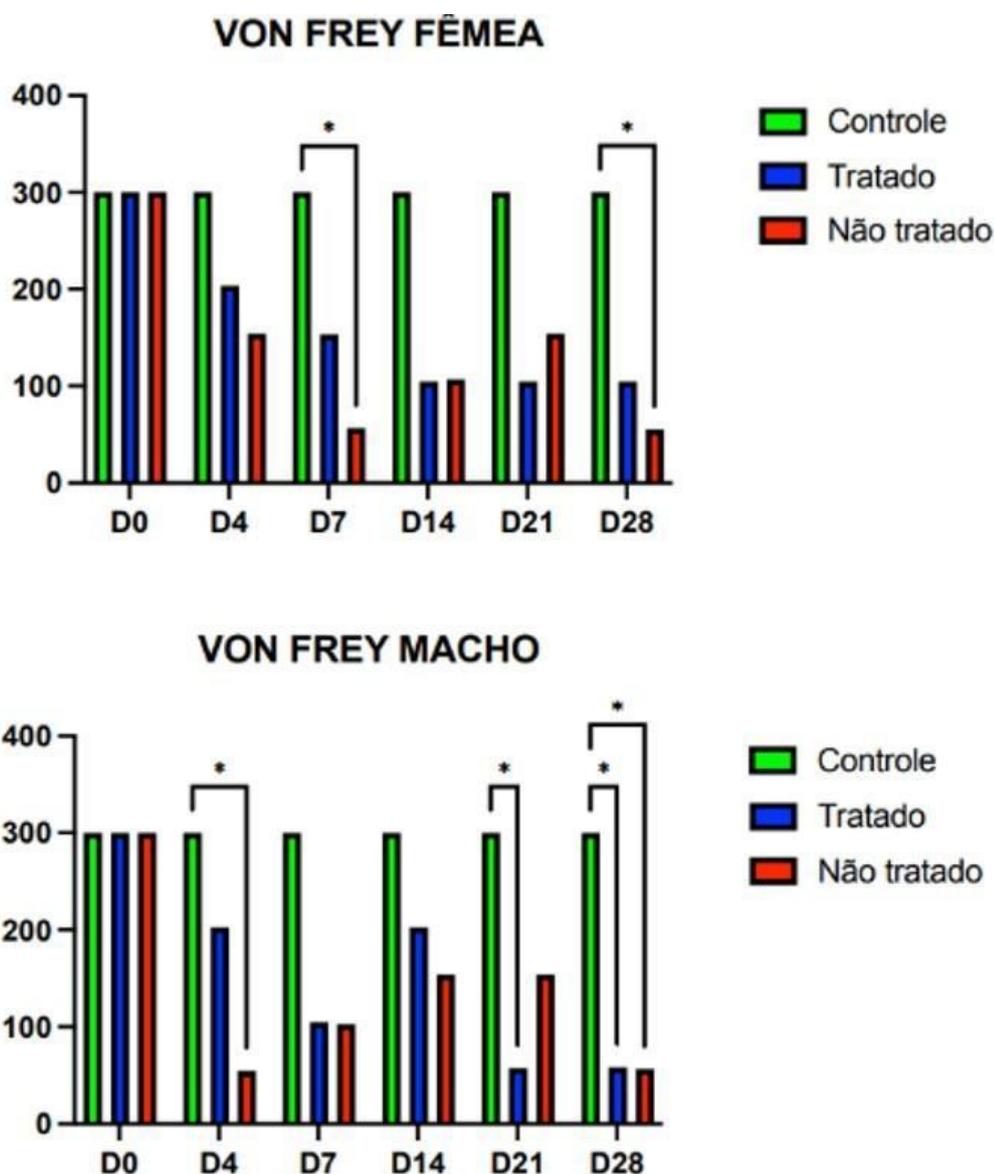
Para a avaliação da dor foi utilizado o WB. Os achados deste teste demonstraram que a indução por MIA resultou em desgaste gradual da cartilagem articular, uma vez que ocorreu a diminuição da sustentação do peso no membro com o joelho afetado. Pomonis et al. (2005) em sua pesquisa utilizaram ratos machos para testar o uso do MIA e da morfina para indução da osteoartrite e avaliação do comportamento da dor, respectivamente, demonstrando que o uso da morfina reverteu as alterações na sustentação do peso nas patas, gerando um alívio decorrente da dor causada pela indução. No estudo de Palikov et al. (2020) foram

encontradas diferenças estatisticamente significativas após o 3° e 7° dos tempos experimentais, demonstrando redução na força no membro induzido, com o mesmo protocolo de indução com MIA, gerando assimetria de sustentação de peso nos membros posteriores, resultando em desequilíbrio e comprometimento dos membros pélvicos.

Para avaliação do limiar nociceptivo foi utilizado o teste Von Frey, que consiste em alocar o animal em uma gaiola com fundo de arame, com espelho embaixo para facilitar a visualização da retirada da pata, e são utilizados filamentos de 4 G, 10 G e 300 G Allen et al., (2012). Os filamentos foram aplicados sempre na pata direita, que correspondeu ao membro com o joelho lesionado, e o mesmo valeu para os grupos não induzidos. Se o animal sentisse algum tipo de desconforto com o filamento presente, este filamento era testado mais duas vezes para confirmar o desconforto do animal.

Estes autores, Alsalem et al. (2020), relataram que ratos machos que tiveram a OA induzida com MIA, apresentaram menor uso da pata quando comparados com os animais não induzidos, tendo o limiar de retirada da pata diminuído, mostrando assim mais sensibilidade relacionada a dor, quando comparado com o grupo controle. Em nossa pesquisa, pelo método de Von Frey, observou-se que após os 28 dias experimentais o limiar nociceptivo nos grupos tratados e não tratados passaram por oscilações (Figura 2). No entanto, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos submetidos ao protocolo experimental de OA. Quando realizamos a comparação entre os sexos pode-se observar o mesmo padrão de resposta ao teste, conforme demonstrado na figura 2.

Figura 2 – Avaliação do limiar nociceptivo da dor em fêmeas e machos – Von Frey.

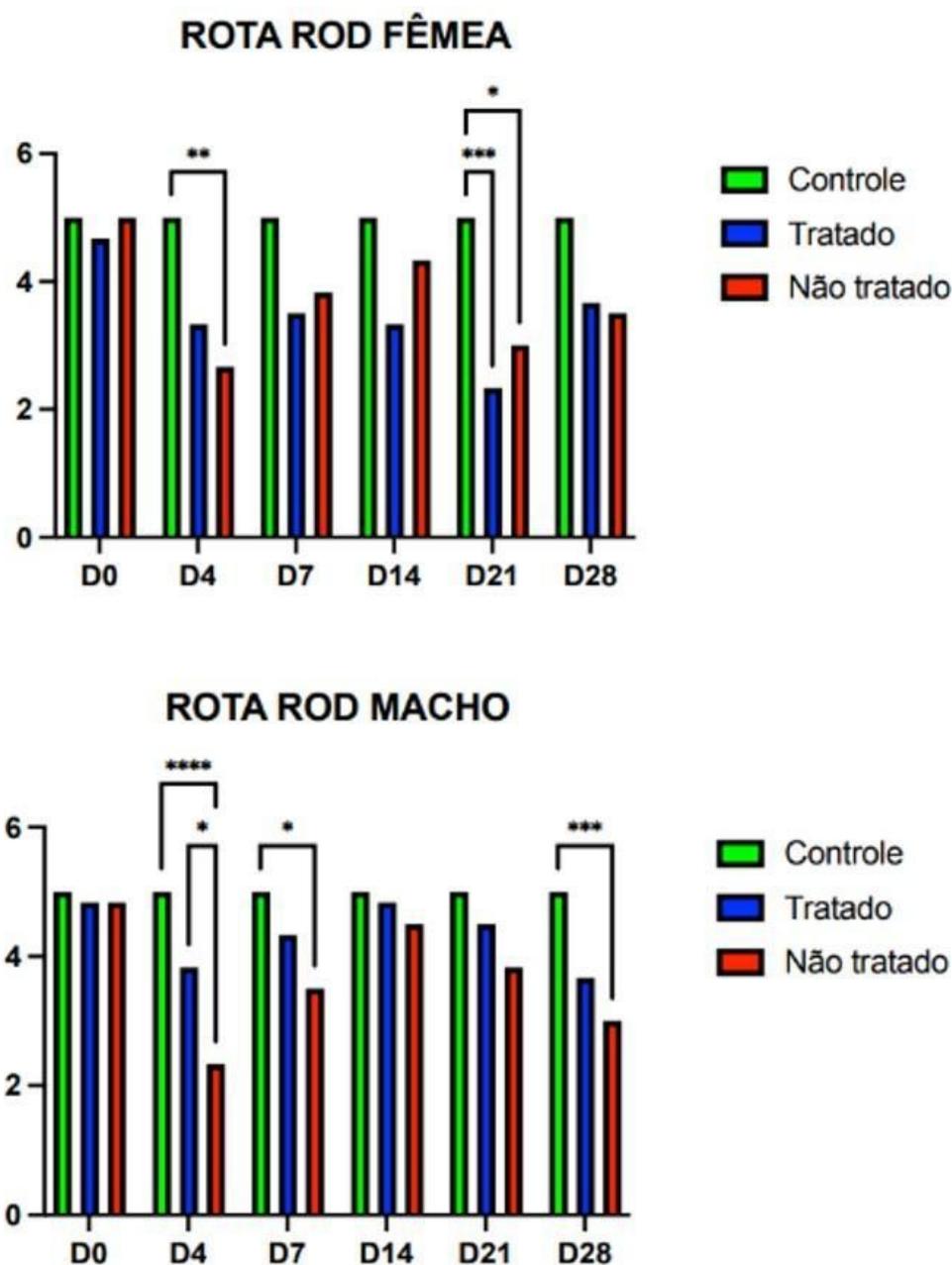


Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão.* (p<0,05); **(p<0,01); ***(p<0,001).

O teste de deambulação forçada, o rotarod, foi utilizado. Como os animais induzidos possuem lesão articular, espera-se que eles apresentem alguma dificuldade motora, por não terem uma boa estabilidade do joelho. Arakawa et al. (2022) relataram que animais submetidos ao protocolo experimental e que não receberam nenhum tratamento podem ter um aumento da degeneração articular e da expressão de citocinas inflamatórias, o que nos leva a inferir que ocorreu em nossa pesquisa.

Após a indução da OA em nosso estudo, foi possível observar melhora da capacidade de deambulação (Figura 3) entre os grupos tratados e não tratados somente no dia 4 nos animais machos. Após esse tempo experimental não foram mais achadas diferenças estatisticamente significantes entre tratados e não tratados dentro do grupo dos machos, somente quando o grupo controle era comparados com o grupo não tratado no D4 e no D28, que foram achadas novas diferenças estatisticamente significantes. Nas fêmeas só houve resultado estatisticamente significativo quando os grupos tratados e não tratados foram comparados com o grupo controle no D7 e no D28. É importante ressaltar que a ausência de resultados estatisticamente significantes pode ter ocorrido em virtude do tamanho amostral, que pode diminuir e comprometer a precisão das conclusões, assim como, pode tornar difícil detectar diferenças reais ou relações entre variáveis (Cochran, 1977).

Figura 3 – Avaliação da dor espontânea pela deambulação forçada em fêmeas e machos – ROTAROD.



Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão. * ($p < 0,05$); ** ($p < 0,01$); *** ($p < 0,001$).

No estudo de (Allen et al., 2012) foram encontrados resultados para ratos machos em teste de deambulação, mas foram utilizados equipamentos de alta precisão, que levaram em consideração a assimetria da marcha, o equilíbrio do animal e o equilíbrio da postura. Foram achadas diferenças significativas entre o grupo

induzido e não induzido. Estes autores afirmaram que esses resultados não podem ser encontrados a olho nu, o que pode ter ocorrido em nossa pesquisa, tornando-se uma limitação do nosso estudo. Segundo Alsalem et al. (2020) há uma diminuição da locomoção em animais induzidos por MIA.

5.2 Análise Radiográfica

Foram realizadas análises radiográficas nos tempos D0, D7, D14, D21 e D28, com animais saudáveis, e animais submetidos ao protocolo experimental de OA, tratados com AINE e não tratados, buscando obter o comparativo dos dois sexos dentro do mesmo tempo. Nas figuras 4 e 5, pode-se observar os exames radiográficos realizados em projeção crânio-caudal e látero-lateral nos diferentes grupos experimentais. Os achados mais comuns encontrados foram a redução do espaço articular, esclerose óssea, osteófitos marginais e cisto ósseo. Embora tratados, os animais ao final do período experimental demonstraram características peculiares da osteoartrite. Ademais, pode-se observar que a progressão da doença foi mais acentuada nos animais que não foram submetidos a nenhum tipo de tratamento.

De acordo com Garrido; Sampaio; Ferreira (2011) os achados radiológicos podem ter pouca relação com os sintomas apresentados pelos portadores da OA. Além disso, as alterações na dimensão do espaço articular, osteófitos e degenerações subcondrais podem ocorrer independentemente da presença da OA. Embora em nosso estudo os resultados dos exames radiológicos não reflitam os sintomas apresentados nos testes comportamentais, esses autores destacam que a radiografia é provavelmente a melhor ferramenta para mensurar a progressão da OA.

Figura 4 - Radiologia da articulação do joelho de ratas fêmeas – Grupos II, V e VII.



Em A e B – animais saudáveis, sem nenhuma alteração radiológica. Em C e D, animais tratados. Notar a presença de osteófito marginal na face lateral da tíbia (asterisco) amarelo e esclerose do osso subcondral (círculos brancos), com redução do espaço articular. Em E e F – animais não tratados. Observar os osteófitos marginais na face lateral e média do epicôndilo lateral da tíbia (asteriscos amarelos), repercutindo em perda do formato anatômico habitual (seta amarela), com redução do espaço intra-articular. Notar alterações na superfície articular da patela (asterisco) branco), caracterizando maior severidade da doença. À esquerda, projeção latero-lateral. À direita, projeção crânio-caudal.

Figura 5 – Radiologia da articulação do joelho de ratos machos – Grupos I, III e IV.



Em A e B – animais saudáveis, sem nenhuma alteração radiológica. Em C e D, animais tratados. Notar esclerose do osso subcondral (círculo amarelos), com redução do espaço intra-articular. Em E e F – animais não tratados. Observar os osteófitos marginais na face lateral e medial do epicôndilo lateral e na face medial do epicôndilo medial da tíbia (asteriscos amarelos). À esquerda, projeção latero-lateral. À direita, projeção crânio-caudal.

Os resultados da nossa pesquisa demonstraram que, após a indução da OA foram encontradas esclerose subcondral, osteófitos marginais e diminuição do espaço

articular nos joelhos avaliados, demonstrando graus de severidade da doença semelhantes entre os grupos tratados e não tratados. Esse resultado pode parecer contraditório em alguns momentos e isso ocorre devido às fases que a doença apresenta, que são diversas e algumas dessas alterações não seguem a mesma sequência de desenvolvimento, e parte delas são observadas somente em estágios finais da OA Pucha et al., (2020); Garrido; Sampaio; Ferreira (2011).

6 CONCLUSÃO

As análises radiológicas demonstraram que o tratamento diminuiu o avanço da degeneração da cartilagem, sem que exista uma relação entre os sexos dos animais. Visto que, não há diferenças entre as análises das radiografias nos tempos experimentais propostos. Tanto os machos quanto as fêmeas tiveram o mesmo padrão de progressão da doença de osteoartrite para osteoartrose até o D28, não havendo diferenças morfológicas entre os grupos.

Os achados dos testes comportamentais não trouxeram respostas que demonstrem a progressão da doença de fato como a progressão analisada nas imagens radiológicas. Além disso, não foi observado, comportamento e resposta diferentes no modelo experimental quando a variável analisada é o sexo dos animais.

Referências

ABDEL JALEEL, G. A.; SALEH, D. O.; AL-AWDAN, S. W.; HASSAN, A.; ASAAD, G. F. Impact of type III collagen on monosodium iodoacetate-induced osteoarthritis in rats. **Heliyon**, v. 6, n. 6, p. e04083, 7 jun. 2020. doi: 10.1016/j.heliyon.2020.e04083.

ABRAHÃO, G.; SILVA, G.; LEONARA DIAS DA SILVA, E.; PAIVA LUCIANO, A. ANÁLISE DO PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DAS INTERNAÇÕES POR OSTEOARTRITE NO BRASIL DE 2017 A 2021. **Revista de Epidemiologia e Saúde Pública - RESP**, [S. l.], v. 1, n. 2, 2023. DOI: 10.59788/resp.v1i2.15. Disponível em: <https://respcientifica.com.br/index.php/resp/article/view/15>. Acesso em: 22 fev. 2025.

ALLEN, K. D.; MATA, B. A.; GABR, A. M.; HUEBNER, L. J.; ADMS, S. B. J.; KRAUS, V. B.; SCHMITT, D. O.; SETTON, L. A. Kinematic and dynamic gait compensations resulting from knee instability in a rat model of osteoarthritis. **Arthritis Research & Therapy**, v. 14, n. 2, p. R 78, 17 abr. 2012. doi:10.1186/ar3801. ISSN: 1478-6354.

ALSALEM, M.; HADDA, M.; ALTARIFI, A.; ALDOSSARY, S. A.; KALBOUNEH, H.; ABOKARADEH, A. M.; EL-SALEM, K. Impairment in locomotor activity as an objective measure of pain and analgesia in a rat model of osteoarthritis. **Experimental and Therapeutic Medicine**, v. 20, n. 6, p. 1–1, 9 out. 2020. doi: 10.3892/etm.2020.9294. ISSN: 1792-0981.

ALVES-SIMÕES, M. Rodent models of knee osteoarthritis for pain research. **Osteoarthritis and Cartilage**, v. 30, n. 6, p. 802–814, jun. 2022. DOI: 10.1016/j.joca.2022.01.010.

ARAKAWA K.; TAKAHATA K.; ENOMOTO S.; OKA Y.; OZONE K.; MOROSAWA K.; MURATA K.; KANEMURA N.; KOKUBUN T. Effect of Suppression of Rotational Joint Instability on Cartilage and Meniscus Degeneration in Mouse Osteoarthritis Model. **Cartilage**. 2022 Jan-Mar; 13(1): 19476035211069239. doi: 10.1177/19476035211069239. PMID: 35110692. PMCID: PMC9137321.

CHAPLAN S.R.; BACH F.W.; POGREL J. W.; CHUNG J. M.; YAKSH T. L. Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw. **J Neurosci Methods**. 1994 Jul;53(1):55-63. doi: 10.1016/0165-0270(94)90144-9. PMID: 7990513.

COLLINS K. H.; REIMER R. A.; SEERATTAN R. A.; LEONARD T. R.; HERZOG W. Using diet-induced obesity to understand a metabolic subtype of osteoarthritis in rats. **Osteoarthritis Cartilage**. 2015 Jun;23(6):957-65. doi: 10.1016/j.joca.2015.01.015. Epub 2015 Feb 3. PMID: 25659656.

DA SILVA NASCIMENTO, F. G.; MARQUES, G. F. O.; CAVALCANTE, A. S.; HOLANDA, B. F.; LIMA MOTA, M. R.; DE FREITAS PIRES, A.; CASTRO, R. R.

Osteoarthritis induced by monosodium iodoacetate model: evolution of inflammatory, nociceptive and histopathological markers. **Journal of Health & Biological Sciences**, [S. l.], v. 12, n. 1, p. 1–11, 2024. DOI: 10.12662/2317-3076jhbs.v12i1.5191.p1-11.2024.

DE OLIVEIRA, C. M.B.; SAKATA, R. K.; ISSY, A. M.; GEROLA, L. R.; SALOMÃO, R. Cytokines and Pain. **Brazilian Journal of Anesthesiology**, v. 61, n. 2, p. 255–265, mar. 2011.

DREIER R.; ISING T.; RAMROTH M.; RELLMANN Y. Estradiol Inhibits ER Stress-Induced Apoptosis in Chondrocytes and Contributes to a Reduced Osteoarthritic Cartilage Degeneration in Female Mice. **Front Cell Dev Biol**. 2022 May 20;10:913118. doi: 10.3389/fcell.2022.913118. PMID: 35669511; PMCID: PMC9163336.

DVIR-GINZBERG M.; MAATUF Y. H.; MOBASHERI A. Do we understand sex-related differences governing dimorphic disease mechanisms in preclinical animal models of osteoarthritis? **Osteoarthritis Cartilage**. 2024 Sep;32(9):1054-1057. doi: 10.1016/j.joca.2024.03.113. Epub 2024 Mar 24. PMID: 38531464.

GARRIDO, C. A.; SAMPAIO, T. C. F. V. S.; FERREIRA, F. S. Estudo comparativo entre a classificação radiológica e análise macro e microscópica das lesões na osteoartrose do joelho. **Revista Brasileira de Ortopedia**, v. 46, n. 2, p. 155–159, abr. 2011.

HUNTER, D. J.; BIERMA-ZEINSTRAS, S. Osteoarthritis. **The Lancet**, v. 393, n. 10182, p. 1745–1759, abr. 2019.

KAUPPINEN S.; FERCHER D.; BARRETO G., KARJALAINEN VP, VIRTANEN V, BAIXAULI-MARIN L, FONTI M, ZHANG S, FRONDELIUS T, WEBER P, SAARAKKALA S, ZENOBI-WONG M, FINNILÄ MAJ. Assessment of whole cartilage surface damage in an osteoarthritis rat model: The Cartilage Roughness Score (CRS) utilizing microcomputed tomography. **Osteoarthritis Cartilage**. 2025 Jan;33(1):134-145. doi: 10.1016/j.joca.2024.09.008. Epub 2024 Sep 30. PMID: 39357597.

KELLGREN J. H.; LAWRENCE J. S. Radiological assessment of osteo-arthrosis. **Ann Rheum Dis**. 1957 Dec;16(4):494-502. doi: 10.1136/ard.16.4.494. PMID: 13498604; PMCID: PMC1006995.

KWON, M.; NOME, D.; KIM, J. Pathological Characteristics of Monosodium Iodoacetate-Induced Osteoarthritis in Rats. **Tissue Engineering and Regenerative Medicine**, v. 20, n. 3, p. 435–446, 21 jun. 2023. doi: 10.1007/s13770-023-00520-5. PMCID: PMC10219909 PMID: 36809635

CERKEZOVIC, M.; TULUMOVIĆ, D.; BRKIĆ, S.; OSMANOVIC, E. The association of osteoarthritis with metabolic disorders. **Magna Scientia Advanced Research and Reviews**, v. 12, n. 1, p. 110–121, 30 out. 2024.

MESSIER, S. P.; BEAVERS, D. P.; QUEEN, K.; MIHALKO, S. L.; MILLER, G. D.; LOSINA, E.; KATZ, J. N.; LOESER, R. F.; DEVITA, P.; HUNTER, D. J.; NEWMAN, J. J.; QUANDT, S. A.; LYLES, M. F.; JORDAN, J. M.; CALLAHAN, L. F. Effect of Diet and Exercise on Knee Pain in Patients With Osteoarthritis and Overweight or Obesity: A Randomized Clinical Trial. **JAMA**. 2022 Dec 13;328(22):2242-2251. doi: 10.1001/jama.2022.21893. PMID: 36511925; PMCID: PMC9856237.

OKUNOGBE, A.; NUGENT, R.; SPENCER, G.; POWIS, J.; RALSTON, J.; WILDING, J. Economic impacts of overweight and obesity: current and future estimates for 161 countries. **BMJ Glob Health**. 2022 Sep;7(9):e009773. doi: 10.1136/bmjgh-2022-009773. PMID: 36130777; PMCID: PMC9494015.

PACCA, D. M.; CAMPOS, G. C.; ZORZI, A. R.; CHAIM, E. A.; MIRANDA, J. B. Prevalence of joint pain and osteoarthritis in obese brazilian population. **Arq Bras Cir Dig**. 2018 Mar 1;31(1):e1344. doi: 10.1590/0102-672020180001e1344. PMID: 29513805; PMCID: PMC5863990.

PALIKOV, V. A.; PALIKOVA, Y. A.; BOROZDINA, N. A.; NESMEYANOVA, E. N.; RUDENKO, P. A.; KAZAKOV, V. A.; KALABINA, E. A.; BUKATIN, M. V.; ZHARMUKHAMEDOVA TY, KHOKHLOVA ON, DYACHENKO IA (2020) A novel view of the problem of Osteoarthritis in experimental rat model. **Research Results in Pharmacology** 6(2): 19–25. <https://doi.org/10.3897/rrpharmacology.6.51772>

POMONIS, J. D.; BOULET, J. M.; GOTTSALL, S. L.; PHILLIPS, S.; SELLERS, R.; BUNTON, T.; WALKER K. Development and pharmacological characterization of a rat model of osteoarthritis pain. **Pain**. 2005 Apr;114(3):339-346. doi: 10.1016/j.pain.2004.11.008. Epub 2004 Dec 19. PMID: 15777859.

PUCHA, K. A.; MCKINNEY, J. M.; FULLER, J. M.; WILLETT, N. J. Characterization of OA development between sexes in the rat medial meniscal transection model. **Osteoarthr Cartil Open**. 2020 Apr 18;2(3):100066. doi: 10.1016/j.ocarto.2020.100066. PMID: 36474679; PMCID: PMC9718073.

ROEMER, F. W.; GUERMAZI, A.; DEMEHRI, S.; WIRTH, W.; KIJOWSKI, R. Imaging in Osteoarthritis. **Osteoarthritis Cartilage**. 2022 Jul;30(7):913-934. doi: 10.1016/j.joca.2021.04.018. Epub 2021 Sep 22. PMID: 34560261.

SILVA, E. R.; GARCÊS, J. R. C.; SILVA, A. R. M.; MARTINS, N. S.; CARTAGENES, M. S.; SOUSA, E. M.; CARVALHO, R. C. Qualidade dos testes comportamentais realizados em modelo experimental de osteoartrite em ratos: uma análise baseada na literatura. In: ANAIS DO I SIMPÓSIO NACIONAL EM CIÊNCIAS DA SAÚDE, 2023, São Luís, Maranhão. **Anais eletrônicos...**, Galoá, 2023. Disponível em:

<<https://proceedings.science/sncs-2023/trabalhos/qualidade-dos-testes-comportamentais-realizados-em-modelo-experimental-de-osteoartrite?lang=pt-br>>. Acesso em: 22 Fev. 2025.