

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

**JOSÉ RENZO CASTRO GARCÊS**

**AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS HISTOLÓGICOS ASSOCIADOS AOS TESTES  
DE MOTRICIDADE PARA CARACTERIZAÇÃO DA EVOLUÇÃO DA  
OSTEOARTRITE INDUZIDA POR MIA EM RATOS**

São Luís – MA  
2025

**JOSÉ RENZO CASTRO GARCÊS**

**AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS HISTOLÓGICOS ASSOCIADOS AOS TESTES  
DE MOTRICIDADE PARA 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

Garcês, José.

AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS HISTOLÓGICOS ASSOCIADOS AOS  
TESTES DE MOTRICIDADE PARA CARACTERIZAÇÃO DA EVOLUÇÃO DA  
OSTEOARTRITE INDUZIDA POR MIA EM RATOS / José Garcês. -  
2025.

53 p.

Orientador(a): Rafael Carvalho.

Curso de Nutrição, Universidade Federal do Maranhão,  
Universidade Federal do Maranhão, 2025.

1. Osteoartrite Experimental. 2. Histologia. 3.  
Comportamento. I. Carvalho, Rafael. II. Título.

JOSÉ RENZO CASTRO GARCÊS

**AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS HISTOLÓGICOS ASSOCIADOS AOS TESTES DE MOTRICIDADE PARA 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 \_\_\_\_/\_\_\_\_/ 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**

A realização deste trabalho só foi possível graças ao apoio e dedicação de muitas pessoas e instituições, às quais expresso minha mais profunda gratidão.

Agradeço primeiramente à Deus pela benção de ter conhecido esse mundo e por ter colocado as pessoas certas na minha vida para realizar esse sonho.

À minha família que foi e é a base de tudo. Obrigado ao meu pai, Josemberg de Sousa Garcês, à minha mãe, Maria de Nazareth Dias Castro, à minha avó materna, Sarafina Maria Dias e à minha avó paterna, Isabel Pereira de Sousa.

Ao meu orientador, Rafael Cardoso Carvalho, que além de orientador é pai, é amigo, é tudo e mais um pouco. Sou bem suspeito para falar dele, mas és minha inspiração em muitas áreas e só tenho a agradecer por tudo que fez e que tem feito por mim. Lembro-me quando tivemos o primeiro contato e foi numa conversa justamente sobre ser professor de Universidade num sábado pela manhã no laboratório e desde então a minha admiração só tem aumentado. Graças a ele pude experimentar quase tudo que sei sobre carreira acadêmica dentro e fora da UFMA.

Ao meu parceiro para todas as obras e horas, Eduardo Rodrigues Silva, que foi fundamental para a realização desse trabalho e para a minha formação. Dentro desses 4 anos de curso, a parceria foi e é tão grande que as pessoas não conseguiam dissociar um do outro ao ponto de sempre sermos chamados juntos independente se estávamos juntos ou não por “eles”, “os meninos”, “os estagiários”, dentre outros. Essa relação foi construída à base de muitas divergências de opiniões, mas sempre com respeito, fazendo com que gerassem muitas ideias brilhantes para atividades do curso, trabalhos de iniciação científica, apresentações de pôster, relatórios e até organizações de eventos.

À Profa. Dra. Maria do Socorro de Sousa Cartagenes, que foi a pioneira no quesito abrir portas e oportunidades. Depois de uma disciplina de férias de Farmacologia, fui convidado a conhecer o laboratório e logo de cara, aceitei. Posso afirmar que foi uma das melhores decisões da minha vida e agradeço imensamente por todo esse acolhimento e confiança.

À Profa. Dra. Joelma Ximenes Prado Teixeira, que é conhecida por muitos como mãe Joelma. Desde o primeiro contato, a senhora já demonstrava ser diferente

em vários aspectos, mas um que chama muita atenção é sua empatia com o aluno. Obrigado por todos os conselhos, pelos puxões de orelha, pelas conversas nos corredores, pelas discussões sobre trabalhos, pelo período de monitoria, pois tenho a plena certeza de que esses momentos foram especiais e ajudaram a moldar minha graduação.

Ao Prof. Dr. Eduardo Martins de Sousa, dono das ideias mais mirabolantes e ao mesmo tempo simples que conheço. Uma das pessoas mais inteligentes que pude conviver e dono de um raciocínio científico ímpar. Obrigado por todos os ensinamentos, tempo de bancada e experimentos realizados.

À Profa. Dra. Rachel Melo Ribeiro, que sempre diz que vai dar tudo certo e dá. Inicialmente, só conhecia por nome e por doar compostos para utilizarmos nas pesquisas, até que finalmente pude conhecer a Rachel. A senhora é dona de um coração enorme e fico muito grato por ter convivido e adquirido uma amiga ao longo da minha graduação.

À Profa. Dra. Joicy Cortez de Sá Sousa, que facilmente é a pessoa mais alegre que eu já conheci na minha vida. Todo o pouco de histologia que sei sobre histologia, devo à senhora e, obrigado por toda paciência e disponibilidade para ensinar sobre essa área que me apaixonei dentro desse período da graduação.

À Profa. Dra. Isabela Leal Calado, que foi a professora que eu mantive mais contato dentro da Nutrição. Dentro do meu período de graduação fui convidado por ela a fazer parte do projeto onde eu mais consegui simular a profissão de nutricionista. Além disso, depois de 2 anos de projeto tive o privilégio de me tornar amigo dessa pessoa incrível. Obrigado pelos ensinamentos e oportunidades.

Aos animais que foram utilizados ao longo de 100 dias de experimentação.

Aos professores envolvidos na minha formação, pelo compartilhamento de conhecimento, incentivo e orientação ao longo de toda a pesquisa e curso, contribuindo significativamente para meu crescimento acadêmico e científico. Logo, agradeço especialmente aos professores, como: Profa. Dra. Silvia Tereza de Jesus Rodrigues Moreira Lima, Profa. Dra. Adriana Oliveira Dias de Sousa Morais, Prof. Dr. Rui Miguel Gil da Costa Oliveira, 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 França, Profa. Dra. Elane Viana Hortegal Furtado, Profa. Dra. Maylla Luanna Barbosa Martins Bragança, Profa. Dra. Maria Tereza Borges Araujo Frota, Profa. Dra. Aline Guimarães Amorim, Profa. Dra. Priscila Sousa Barcellos, Profa. Ma. Yuko Ono, Prof. Dr. Tonicley Alexandre Da Silva, Profa. Dra. Sueli Ismael Oliveira Da Conceição, Profa. Dra. Daniele Gomes Cassias Rodrigues, Prof. Dr. Mário Norberto Sevílio de Oliveira Júnior, Prof. Dr. Herikson Araújo Costa, Prof. Dr. Cristiano Teixeira Mostarda, Prof. Dr. Christian Emmanuel Torres Cabido, Prof. Dr. Carlos José Moraes Dias, Prof. Dr. Flávio de Oliveira Pires, Prof. Dr. Éder Rodrigo Mariano e Profa. Dra. Kátia de Angelis Lobo D'Avila.

Às instituições envolvidas neste processo, como UEMA, CEUMA E UNIFESP, pelo suporte técnico e estrutural, que permitiu a realização deste estudo e na minha formação.

Ao laboratório LEED, onde foi muitas vezes minha primeira casa. Falar sobre o LEED é muito difícil porque é como se eu tivesse que falar um pouco sobre mim. Assim que cheguei, me identifiquei muito com o ambiente, com o tipo de experimentação e com as pessoas que fazem parte. Com isso, era questão de tempo até pegar o ritmo e “tocar” um experimento do início ao fim. Durante esses 4 anos de laboratório, pude experimentar quase tudo sobre experimentação animal e dor e agradeço a todos os professores, pós-graduandos, IC's que compartilham desse sentimento e vivem diariamente a pesquisa.

À equipe executora do projeto, formada por Armando Reinaldo Marques, Raysa, Lilah Karen Ribeiro Ferreira, Davi de Sousa Pinheiro, pelo empenho, trabalho conjunto e pelas experiências compartilhadas, que tornaram cada etapa do estudo mais enriquecedora.

Ao Biotério, em especial a Hildecy da Silva Luz, Vêronica Saraiva César, Nádia Selene Guimarães Costa e Giulliano Lima Alves, pelo suporte no manejo dos animais, garantindo que os experimentos fossem conduzidos com responsabilidade e dentro dos padrões éticos e científicos, além de ter se tornado uma segunda casa por

muito tempo.

Aos meus amigos da vida, da Universidade, do esporte e do trabalho, que estiveram ao meu lado em diferentes momentos dessa trajetória. Agradeço especialmente à: Marcelle Maria de Lima Xavier Carnib, Felipe Campos Assis, Fernando Naves Adriano Filho, João Vitor Dias de Miranda, Fabrício Éverton Miranda, Paula Rafaela Costa Pinheiro, Bryan Lucas Cardoso da Silva, João Paulo Pereira Alves, Adrielly Mendes Silva, Francisca Thaynara Alencar Lima, Mônica Cristina Sampaio, Gabrielly Santos Ferreira, Dyonara Maria Linhares Sousa, Rebeca Lopes Alves, Gabriel Moreira Pereira, Guthemberg Dias Vidal, Nelci da Conceição de Lima Argivaes, Antônio Viana do Nascimento Filho, Artur Francisco da Silva Neto, Beatriz Ribeiro Ferreira, Aline de Oliveira Rezende, Marta Regina de Castro Belfort, Mayra da Silva Oliveira, Andreyana Silva Corrêa e Juliana da Silva Vieira.

*“É um erro capital teorizar antes de se ter dados. Insensivelmente, começa-se a distorcer os fatos para se adequarem às teorias, em vez de moldar as teorias aos fatos.”*  
(Arthur Conan Doyle: **Sherlock Holmes**, 1891)

## **LISTA DE FIGURAS**

**Figura 1** - Avaliação da dor espontânea pela deambulação forçada - ROTARORD (página 35).

**Figura 2** - Avaliação do limiar nociceptivo da retirada de pata pelo método de VON FREY (página 38).

**Figura 3** - Avaliação da distribuição de pesos sobre as patas traseiras – WEIGHT BEARING (página 41).

**Figura 4** – Histologia da articulação do joelho de ratas dosmGrupos II, V e VI (página 44).

**Figura 5** – Histologia da articulação do joelho de ratos dos Grupos I, IV e V (página 45).

## LISTA DE ABREVIÇÕES

**ACL** – Ligamento Cruzado Anterior

**AINEs** – Anti-inflamatórios Não Esteroidais

**BDNF** – Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro

**BM-MSCs** – Células-tronco mesenquimais derivadas da medula óssea

**CD-MSCs** – Células-tronco mesenquimais diferenciadas condrogênicas

**CEUA** – Comissão de Ética no Uso de Animais

**CONCEA** – Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal

**DMM** – Modelo de Desestabilização do Menisco Medial

**EDTA** – Ácido etilenodiaminotetracético

**fMRI** – Ressonância Magnética Funcional

**IL-1 $\beta$**  – Interleucina-1 beta

**LNRP** – Limiar nociceptivo de retirada da pata

**MIA** – Monoiodoacetato de Sódio

**MMPs** – Metaloproteinases da Matriz

**OA** – Osteoartrite

**PBS** – Solução de Fosfato de Sódio

**PET** – Tomografia por Emissão de Pósitrons

**PGE2** – Prostaglandina E2

**SBCAL** – Sociedade Brasileira de Animais de Laboratório

**TNF- $\alpha$**  – Fator de Necrose Tumoral-alfa

**TrkB** – Receptor do Fator Neurotrófico

**WB** – Weight Bearing

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	14
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO</b>	16
2.1 Osteoartrite (OA)	16
2.2 Modelos Experimentais da OA	17
2.3 Testes de Motricidade para Avaliação da OA	21
2.4 Dimorfismo Sexual na OA Experimental	23
<b>3 OBJETIVOS</b>	27
3.1 Geral	27
3.2 Objetivos Específicos	27
<b>4 METODOLOGIA</b>	28
4.1 Protocolo anestésico e indução da OA	28
4.2 Protocolo experimental	29
4.3 Testes Comportamentais	29
4.3.1 Weigh Bearing	29
4.3.2 Von Frey	30
4.3.3 Rota Rod	31
4.4 Coleta, descalcificação e processamento histológico	31
4.5 Análise estatística	32
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÕES</b>	32
5.1 Testes comportamentais	32
5.2 Análises histológicas	42
<b>5 CONCLUSÃO</b>	47
Referências	48

## RESUMO

A osteoartrite (OA) é uma doença osteoarticular degenerativa crônica e progressiva, caracterizada por dor articular, rigidez, limitação funcional e degradação da cartilagem. Este estudo teve como objetivo caracterizar histologicamente a OA induzida por monoiodoacetato de sódio (MIA) em um modelo murino, relacionando os achados morfológicos com parâmetros funcionais obtidos por testes de motricidade e incapacitação motora. Estudo experimental com a utilização de 36 ratos Wistar, divididos em seis grupos: machos e fêmeas saudáveis, machos e fêmeas submetidos à indução da OA sem tratamento e machos e fêmeas tratados com anti-inflamatório não esteroidal (AINEs). Os testes comportamentais Weight-Bearing, Rotarod e Von Frey foram aplicados nos dias 0 e 28, seguidos por análises histológicas das articulações do joelho. Os testes comportamentais evidenciaram comprometimento motor e hipersensibilidade mecânica devido à OA, com melhoria dos padrões de motricidade nos grupos tratados. No Rota Rod, as fêmeas apresentaram piora nos dias 4 e 21, enquanto os machos mostraram diferenças nos dias 4, 7 e 28. No Von Frey, as fêmeas exibiram maior sensibilidade nos dias 7 e 28, enquanto os machos tratados apresentaram melhora no dia 21. No Weight-Bearing, apenas as fêmeas tratadas melhoraram no dia 28, sem efeito significativo nos machos. Os achados histológicos revelaram maior degradação cartilaginosa em fêmeas não tratadas, sugerindo progressão mais severa da doença. Portanto, conclui-se que apesar da eficácia dos AINEs na redução da dor, essa melhora nem sempre se refletiu na preservação estrutural da cartilagem. As diferenças comportamentais entre machos e fêmeas indicam um possível papel dos fatores hormonais na modulação da OA e da resposta ao tratamento, o que morfológicamente não foi possível afirmar.

**Palavras-chave:** osteoartrite experimental; histologia; comportamento.

## ABSTRACT

Osteoarthritis (OA) is a chronic and progressive degenerative osteoarticular disease characterized by joint pain, stiffness, functional limitation, and cartilage degradation. This study aimed to histologically characterize OA induced by sodium monoiodoacetate (MIA) in a murine model, correlating the morphological findings with functional parameters obtained through motor function and incapacitation tests.

Experimental study using 36 Wistar rats were used, divided into six groups: healthy males and females, males and females subjected to OA induction without treatment, and males and females treated with nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs). The behavioral tests Weight-Bearing, Rotarod, and Von Frey were applied on days 0 and 28, followed by histological analyses of knee joints. The behavioral tests demonstrated motor impairment and mechanical hypersensitivity due to OA, with improved motor function patterns in the treated groups. In the Rotarod test, females showed worsening on days 4 and 21, while males exhibited differences on days 4, 7, and 28. In the Von Frey test, females displayed increased sensitivity on days 7 and 28, whereas treated males showed improvement on day 21. In the Weight-Bearing test, only treated females improved on day 28, with no significant effect observed in males. Histological findings revealed greater cartilage degradation in untreated females, suggesting a more severe disease progression. Therefore, it is concluded that although NSAIDs effectively reduced pain, this improvement did not always reflect structural cartilage preservation. Behavioral differences between males and females suggest a potential role of hormonal factors in OA modulation and treatment response, though this could not be morphologically confirmed.

**Keywords:** experimental osteoarthritis; histology; behavior.

## 1 INTRODUÇÃO

A osteoartrite (OA) é uma doença articular crônica, degenerativa e progressiva, que afeta milhões de pessoas globalmente, sendo a principal causa de dor e incapacidade motora. Caracteriza-se por um conjunto de processos degenerativos e inflamatórios que acometem a cartilagem articular, a membrana sinovial, o osso subcondral e os tecidos periarticulares, como músculos e ligamentos. Essas alterações estruturais resultam em dor, rigidez articular e perda funcional, comprometendo significativamente a qualidade de vida dos pacientes (Hunter; Bierma-Zeinstra, 2019; Katz; Arant; Loeser, 2021; Geng et al., 2023).

A OA do joelho é a forma mais prevalente da doença e afeta globalmente mais de 364 milhões de pessoas, com um aumento expressivo de sua incidência devido ao envelhecimento populacional, ao crescimento dos índices de obesidade e ao aumento de traumas articulares (Yang et al., 2023). Segundo Vorasilp & Turajane (2022), a incidência global da OA do joelho é de aproximadamente 203 casos por 10.000 pessoas-ano, sendo mais frequente em mulheres e em indivíduos acima dos 50 anos. Esses dados ressaltam o impacto substancial da OA não apenas na saúde individual, mas também nos sistemas de saúde, devido à alta taxa de incapacidade e aos custos associados ao seu tratamento (Hunter; Bierma-Zeinstra, 2019).

A patogênese da OA é complexa e multifatorial, envolvendo interações entre fatores mecânicos, bioquímicos, genéticos e ambientais. A degradação da matriz extracelular da cartilagem articular é mediada por enzimas proteolíticas, como as metaloproteinases da matriz (MMPs), cuja expressão é regulada por citocinas inflamatórias, como a interleucina-1 beta (IL-1 $\beta$ ) e o fator de necrose tumoral-alfa (TNF- $\alpha$ ) (Felson et al., 2023). Esse processo também resulta em alterações estruturais no osso subcondral, incluindo esclerose óssea e formação de osteófitos, que contribuem para a progressão da doença e agravamento da dor (Zheng et al., 2022). Ademais, alterações na membrana sinovial, como hiperplasia e infiltração de células inflamatórias, intensificam o ciclo degenerativo.

A OA também possui implicações psicológicas e emocionais significativas. Pacientes frequentemente relatam sintomas de depressão e ansiedade, exacerbados pela dor crônica e pela perda de independência funcional. Esse impacto biopsicossocial contribui para o isolamento social e reduz a qualidade de vida, aumentando a carga global da doença (Messier et al., 2022). O manejo da OA ainda

enfrenta desafios consideráveis, pois os tratamentos atuais são predominantemente paliativos, incluindo o uso de analgésicos, anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) e opioides, além de abordagens não farmacológicas, como fisioterapia e intervenções dietéticas (Meera, 2022).

No entanto, essas estratégias não são capazes de interromper ou reverter a progressão da doença. Avanços terapêuticos emergentes incluem o uso de células-tronco mesenquimais, engenharia de tecidos e biomateriais bioativos, visando a regeneração da cartilagem articular e a restauração funcional da articulação (Thoene; Bejer-Oleńska; Wojtkiewicz, 2023; Remírez De Ganuza et al., 2024).

Os modelos experimentais desempenham um papel essencial na compreensão da patogênese da OA e no desenvolvimento de novas terapias. O modelo de indução por iodoacetato monossódico (MIA) é amplamente utilizado por sua capacidade de reproduzir as principais características histopatológicas e funcionais da OA humana, incluindo a degradação da cartilagem articular, a inflamação sinovial e a dor articular (Rios et al., 2022). Esse modelo também permite a avaliação de diferentes abordagens terapêuticas, auxiliando na identificação de tratamentos mais eficazes para a OA (Wang et al., 2022). No entanto, suas limitações incluem a incapacidade de simular plenamente os aspectos mecânicos da doença humana, justificando a necessidade de estudos complementares com outros modelos experimentais (Felson et al., 2023).

Neste contexto, o presente estudo tem como objetivo caracterizar histologicamente a evolução da OA induzida por MIA em ratos, relacionando os achados morfológicos com os testes de motricidade, comparando os resultados entre machos e fêmeas. A análise inclui a avaliação qualitativa da cartilagem articular e tecidos adjacentes, a identificação de padrões histológicos de inflamação e remodelação tecidual, e a relação qualitativa entre alterações histopatológicas e os testes comportamentais em ambos os sexos. Acredita-se que os resultados deste estudo contribuirão para a melhor compreensão da progressão da OA experimental e para o desenvolvimento de parâmetros mais refinados para sua classificação, promovendo avanços na investigação da patogênese da doença.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Osteoartrite (OA)

A osteoartrite do joelho (OAJ) é uma doença articular degenerativa crônica que afeta principalmente o joelho, a articulação mais complexa e portadora do corpo humano. Caracteriza-se pela degeneração progressiva da cartilagem articular e do osso subjacente, resultando em dor, rigidez, inchaço e redução da mobilidade articular. Além da cartilagem, outras estruturas como a sinóvia, a cápsula articular e os músculos periarticulares também são comprometidos, levando a danos articulares irreversíveis (Geng et al., 2023). Patogeneticamente, a OAJ envolve uma combinação de fatores, incluindo sobrecarga mecânica, inflamação, alterações metabólicas e hormonais, além do envelhecimento, que juntos aceleram a progressão da doença (Geng et al., 2023).

A osteoartrite do joelho é a forma mais comum de osteoartrite, representando mais de 56% de todos os casos globalmente (Qiao et al., 2024). Estudos indicam que a prevalência de OAJ tem aumentado nas últimas décadas, influenciada por fatores como o envelhecimento populacional e o aumento das taxas de obesidade. Em 2021, estimou-se que havia aproximadamente 606,9 milhões de casos de osteoartrite em todo o mundo, com a forma de joelho sendo a mais prevalente (Liang et al., 2024). A taxa de incidência padronizada por idade foi de 535 casos por 100.000 habitantes, com maior prevalência observada em mulheres e em regiões com Índice Sociodemográfico (SDI) mais elevado (Liang et al., 2024). Nos Estados Unidos, cerca de 32,5 milhões de adultos apresentam osteoartrite clínica, sendo o joelho e o quadril as articulações mais frequentemente afetadas (Callahan et al., 2021). A prevalência de KOA aumenta com a idade, atingindo entre 19,2% e 27,8% em indivíduos acima de 45 anos e aproximadamente 37% em pessoas com mais de 60 anos (Choi, 2020). Na Índia, um estudo utilizando a escala de Kellgren e Lawrence identificou uma prevalência de 28,7% de OAJ em indivíduos com mais de 40 anos, com taxas mais elevadas em mulheres e indivíduos obesos (Kumar et al., 2020). Esses dados sugerem que a carga global da OAJ tende a aumentar, acompanhando o crescimento da expectativa de vida e das taxas de obesidade, com projeções indicando um aumento contínuo nos próximos 30 anos (Qiao et al., 2024).

Diversos fatores de risco estão associados ao desenvolvimento da osteoartrite do joelho. A idade avançada é um dos principais, uma vez que o envelhecimento

natural provoca alterações na cartilagem articular, tornando-a mais suscetível ao desgaste (Li, 2023). A obesidade também desempenha um papel significativo, pois o excesso de peso aumenta a carga mecânica sobre as articulações do joelho, além de estar associada a processos inflamatórios que podem acelerar a degeneração articular (Jasłowski et al., 2023). Lesões prévias no joelho, como traumas ou cirurgias, podem predispor ao desenvolvimento de OAJ devido a danos estruturais e alterações biomecânicas (Li, 2023). A predisposição genética é outro fator relevante, com estudos indicando que indivíduos com histórico familiar de osteoartrite têm maior probabilidade de desenvolver a doença (Jasłowski et al., 2023). Além disso, a OAJ é mais prevalente em mulheres, especialmente após a menopausa, possivelmente devido a alterações hormonais e maior incidência de obesidade nesse grupo (Qiao et al., 2024). Fatores socioeconômicos, raça/etnia e localização geográfica também influenciam a prevalência e os desfechos clínicos da OAJ, refletindo diferenças no acesso aos cuidados de saúde e nas práticas culturais relacionadas à atividade física e dieta (Callahan et al., 2021).

Embora a osteoartrite do joelho seja tradicionalmente associada a adultos mais velhos, há uma tendência crescente de incidência em populações mais jovens. Fatores como obesidade infantil, sedentarismo e lesões esportivas contribuem para o aparecimento precoce da doença, resultando em impactos socioeconômicos significativos, incluindo perda de produtividade laboral e aumento dos custos com saúde (Li, 2023). Essa mudança epidemiológica destaca a necessidade de estratégias preventivas e de manejo direcionadas para diferentes faixas etárias e grupos demográficos. Além disso, as disparidades na prevalência e nos resultados da OAJ, baseadas em fatores socioeconômicos e geográficos, reforçam a importância de garantir acesso equitativo aos serviços de saúde e de desenvolver intervenções personalizadas que considerem as especificidades de cada população (Callahan et al., 2021).

## **2.2 Modelos Experimentais da OA**

Os modelos animais desempenham um papel essencial no estudo da OA, permitindo uma compreensão aprofundada dos mecanismos fisiopatológicos da doença, a avaliação de intervenções terapêuticas e a simulação de sua progressão em humanos. A utilização desses modelos tem sido fundamental para o

desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas, uma vez que possibilita a análise dos processos inflamatórios e degenerativos da cartilagem e do osso subcondral em um ambiente controlado. Por meio de diferentes estratégias experimentais, pesquisadores podem explorar tanto os aspectos moleculares e celulares da doença quanto testar a eficácia de novos tratamentos antes da aplicação clínica (Dalevich & Dyachenko, 2024).

Diversos modelos experimentais são utilizados para a reprodução das características da osteoartrite, podendo ser classificados em modelos induzidos quimicamente, cirurgicamente e geneticamente modificados. Dentre os modelos químicos, destaca-se a injeção intra-articular de monoiodoacetato (MIA), amplamente empregada para simular a OA. Esse modelo reproduz de forma eficaz a degeneração da cartilagem e os processos inflamatórios associados à doença, além de permitir a avaliação da dor osteoartrítica, um dos principais desafios no manejo clínico da condição. A degradação da matriz extracelular e a inflamação sinovial observadas nesses modelos são semelhantes às alterações encontradas em pacientes com OA, tornando o MIA um modelo amplamente aceito na pesquisa pré-clínica (Nascimento et al., 2024).

Outro modelo amplamente utilizado na pesquisa da osteoartrite é o modelo induzido cirurgicamente, sendo o mais comum a transecção do menisco medial (MMT). Esse modelo permite estudar a progressão da OA ao longo do tempo e avaliar a eficácia de terapias modificadoras da doença, uma vez que promove a instabilidade articular e a degradação gradual da cartilagem, reproduzindo a osteoartrite secundária a traumas articulares. Além disso, a progressão da OA nesse modelo permite a análise de alterações na estrutura óssea subjacente, auxiliando no estudo das interações entre a cartilagem, a sinóvia e o osso subcondral durante a evolução da doença (McKinney et al., 2024).

Os avanços na biotecnologia também possibilitaram o desenvolvimento de modelos geneticamente modificados, que permitem a investigação de fatores genéticos e moleculares que contribuem para a OA. Esses modelos são fundamentais para a compreensão das vias de sinalização envolvidas na degradação da cartilagem, nas respostas imunes e nos processos inflamatórios crônicos que caracterizam a doença. Além disso, a manipulação genética desses modelos possibilita o estudo do impacto da expressão de determinadas proteínas e citocinas na progressão da OA,

contribuindo para a identificação de alvos terapêuticos específicos (Chenchula et al., 2024).

Os modelos animais também são fundamentais para a investigação dos mecanismos patogênicos da osteoartrite, permitindo a análise dos processos inflamatórios e mecânicos envolvidos na doença. A liberação de citocinas pró-inflamatórias, como IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$ , tem sido amplamente estudada nesses modelos, uma vez que desempenham um papel central na degradação da cartilagem e na modulação da resposta imune da sinóvia (Xu et al., 2024). Além disso, a remodelação óssea e a degradação da matriz extracelular, impulsionadas pela atividade de metaloproteinases (MMPs), são aspectos essenciais investigados por meio de modelos experimentais, contribuindo para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas que visam a inibição dessas vias (Nascimento et al., 2024).

A avaliação dos mecanismos da dor osteoartítica é outro aspecto relevante estudado por meio de modelos animais, sendo essencial para o desenvolvimento de novos fármacos analgésicos. A modulação das vias de sinalização nociceptiva, como a prostaglandina E2 (PGE2) e os receptores de neuropeptídeos, tem sido amplamente estudada, visando a identificação de novas abordagens para o tratamento da dor crônica associada à OA (Dalevich & Dyachenko, 2024).

Embora os modelos animais tenham um papel inestimável na pesquisa da osteoartrite, é fundamental considerar suas limitações e desafios éticos. A translação dos achados obtidos em modelos animais para a prática clínica humana ainda apresenta barreiras, uma vez que diferenças anatômicas e fisiológicas entre as espécies podem influenciar a resposta às terapias testadas. Além disso, questões éticas relacionadas ao uso de animais em pesquisa exigem esforços contínuos para o refinamento dos modelos experimentais, visando reduzir o número de animais utilizados e garantir que os protocolos sigam diretrizes rigorosas de bem-estar animal. Estratégias como o desenvolvimento de modelos tridimensionais baseados em cultura de células e bioengenharia de tecidos estão sendo exploradas como alternativas para complementar os estudos in vivo e melhorar a aplicabilidade dos achados em humanos (Chenchula et al., 2024).

Com isso, os modelos animais continuam sendo ferramentas essenciais para o avanço da pesquisa na osteoartrite, permitindo a compreensão dos mecanismos da doença e o desenvolvimento de novas terapias. Apesar das limitações, a contínua

evolução desses modelos, aliada ao progresso da biotecnologia e da modelagem computacional, pode contribuir para o aprimoramento das abordagens terapêuticas e para uma melhor qualidade de vida dos pacientes afetados pela osteoartrite.

A indução da osteoartrite (OA) por meio do iodoacetato monossódico (MIA) tem sido amplamente utilizada na pesquisa experimental devido à sua capacidade de replicar diversas características da OA humana. Esse modelo apresenta vantagens significativas, tornando-se uma ferramenta valiosa para a investigação dos mecanismos da doença e a testagem de novas terapias. No entanto, assim como outros modelos experimentais, ele possui limitações que devem ser consideradas pelos pesquisadores ao interpretar os resultados e transpor os achados para a prática clínica (Nascimento et al., 2024).

Dentre as principais vantagens do modelo MIA, destaca-se sua relevância fisiopatológica, pois a injeção intra-articular dessa substância induz a morte celular e a perda de condrócitos, desencadeando um processo degenerativo que imita a progressão da OA humana. Além da degradação da cartilagem, esse modelo reproduz sintomas clínicos típicos da doença, como inflamação e dor articular, tornando-se útil para a avaliação de mecanismos fisiopatológicos subjacentes à OA (Nascimento et al., 2024). Outra vantagem importante é a indução controlada da doença, uma vez que a concentração de MIA pode ser ajustada para regular a gravidade e a progressão da osteoartrite. Essa característica permite que os pesquisadores elaborem projetos experimentais personalizados, ajustando o protocolo conforme o objetivo do estudo, seja para avaliar a fase inicial da doença ou para investigar processos degenerativos mais avançados (Merkuleva, 2023). Além disso, o modelo MIA facilita a avaliação comportamental, sendo amplamente utilizado para testar a eficácia de fármacos analgésicos e anti-inflamatórios. Estudos demonstram que esse modelo permite a análise do efeito de diversas intervenções farmacológicas, como o ibuprofeno e o clodronato, sobre a dor e a inflamação articulares, contribuindo para a validação de novos compostos terapêuticos antes da realização de ensaios clínicos (Dalevich & Dyachenko, 2024; Sasaki et al., 2024).

Apesar das vantagens, o modelo de osteoartrite induzida por MIA também apresenta desafios e limitações que devem ser levados em consideração. Um dos principais desafios é a complexidade da patologia induzida, pois o modelo desenvolve mudanças patológicas ao longo do tempo que podem dificultar a interpretação dos

resultados. A degeneração articular provocada pelo MIA envolve não apenas a destruição da cartilagem, mas também respostas inflamatórias sistêmicas e locais, que podem variar conforme a dose utilizada e a espécie animal estudada (Sasaki et al., 2024).

Além disso, as respostas específicas da espécie representam um fator crítico a ser considerado, pois as descobertas obtidas em modelos animais podem não se traduzir totalmente para as condições humanas devido a diferenças na biomecânica articular, na fisiologia e no metabolismo da cartilagem entre espécies (Sasaki et al., 2024). Outro fator limitante do modelo MIA é a sensibilidade da técnica de injeção, uma vez que a indução consistente da OA depende da aplicação precisa do iodoacetato monossódico na articulação. Pequenas variações anatômicas entre os animais podem interferir na distribuição da substância e, conseqüentemente, na gravidade da doença induzida, o que pode impactar a reprodutibilidade dos experimentos (Merkuleva, 2023).

Embora o modelo de OA induzido por MIA seja fundamental para a pesquisa da osteoartrite, suas limitações reforçam a necessidade de abordagens complementares para garantir uma compreensão abrangente da doença e otimizar o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas. A combinação desse modelo com outros, como os modelos cirúrgicos ou geneticamente modificados, pode fornecer uma visão mais completa dos mecanismos da OA e contribuir para a identificação de alvos terapêuticos mais eficazes. Além disso, a integração de métodos avançados, como a modelagem computacional e a bioengenharia de tecidos, pode auxiliar na transposição dos achados experimentais para a prática clínica, garantindo maior precisão na validação de novos tratamentos para a osteoartrite.

### **2.3 Testes de Motricidade para Avaliação da OA**

A avaliação da dor e da incapacidade em modelos animais de osteoartrite (OA) é essencial para compreender a progressão da doença e testar a eficácia de tratamentos terapêuticos. Os testes funcionais desempenham um papel crucial nesse contexto, pois fornecem medidas quantitativas e objetivas das alterações biomecânicas e comportamentais associadas à OA. Esses testes permitem avaliar o impacto da dor na mobilidade dos animais e analisar deficiências funcionais que refletem a perda de qualidade de vida observada em pacientes humanos. Por meio

dessas técnicas, pesquisadores podem não apenas quantificar o grau de disfunção articular e muscular, mas também verificar a resposta dos animais a diferentes intervenções terapêuticas (Palikov et al., 2020).

Dentre os principais testes de avaliação funcional empregados nos modelos experimentais de OA, destaca-se o teste de sustentação de peso, que mede a distribuição do peso entre os membros traseiros dos animais. Esse teste é fundamental para detectar a assimetria na locomoção, um indicativo de dor articular e de incapacidade motora. Em modelos de OA, observa-se uma redução significativa no suporte de peso no membro afetado, refletindo o impacto da dor sobre a mobilidade e o equilíbrio do animal (Palikov et al., 2020). Outro teste amplamente utilizado é o de alodinia mecânica, avaliado por meio do teste de von Frey, que consiste na aplicação de estímulos mecânicos para medir a sensibilidade do animal. Modelos experimentais de OA apresentam limiares reduzidos de retirada da pata, indicando hipersensibilidade à dor mecânica, um dos sintomas mais relevantes da doença em humanos. Esse teste tem sido utilizado para correlacionar a progressão da osteoartrite com a intensidade da dor neuropática e inflamatória (Xu et al., 2020; Palikov et al., 2020).

Além da avaliação da sensibilidade dolorosa, a medição da força de preensão é outro parâmetro relevante na avaliação da função muscular e da incapacidade motora associada à OA. Esse teste permite quantificar a força exercida pelos membros do animal ao segurar uma barra ou plataforma específica, sendo utilizado para avaliar a perda de força muscular decorrente da degeneração articular. Estudos demonstram que animais com OA apresentam reduções significativas na força de preensão, refletindo não apenas a disfunção articular, mas também o impacto da doença sobre a musculatura adjacente à articulação afetada (Palikov et al., 2020; Gervais et al., 2019).

A relevância translacional dos testes funcionais em modelos de OA é um aspecto crítico para a validação das abordagens experimentais e para sua aplicabilidade na pesquisa clínica. Modelos baseados em animais de grande porte, como ovelhas, têm fornecido informações valiosas sobre os mecanismos da dor articular, pois apresentam características biomecânicas e respostas neurofisiológicas mais semelhantes às dos humanos do que os modelos de roedores. Estudos demonstram que a excitabilidade neuronal nos gânglios da raiz dorsal é aumentada

nesses modelos, o que reforça sua utilidade para a compreensão dos mecanismos centrais e periféricos da dor osteoartrítica (Chakrabarti et al., 2021). Além disso, análises comparativas entre diferentes modelos murinos, como o modelo de desestabilização do menisco medial (DMM) e o de transecção do ligamento cruzado anterior (ACL), mostram variações nos marcadores de dor e nos desfechos funcionais. Esses achados indicam que nenhum modelo isolado pode capturar toda a complexidade da OA, sendo necessária a utilização de múltiplos modelos para obter uma visão mais abrangente da doença e de seus impactos na função motora (Croen et al., 2023).

Embora os testes funcionais sejam ferramentas indispensáveis para o estudo da dor e da incapacidade na OA, algumas limitações ainda precisam ser abordadas para aumentar sua aplicabilidade clínica. Pesquisadores argumentam que, apesar de fornecerem medidas objetivas da disfunção articular, esses modelos podem não replicar completamente as condições humanas da OA, devido a diferenças anatômicas e fisiológicas entre espécies. Além disso, fatores como a variação no comportamento dos animais e a subjetividade na interpretação dos resultados podem influenciar a reprodutibilidade dos achados experimentais. Por esse motivo, há uma necessidade contínua de refinamento e validação desses modelos, de modo a aprimorar sua relevância translacional e garantir que os resultados obtidos possam ser efetivamente aplicados no desenvolvimento de novas terapias para a osteoartrite.

#### **2.4 Dimorfismo Sexual na OA Experimental**

As diferenças sexuais na suscetibilidade e progressão da osteoartrite (OA) são evidentes em diversos aspectos, incluindo prevalência, percepção da dor e mecanismos biológicos. As mulheres apresentam uma maior prevalência de OA, particularmente no joelho, e relatam sentir dor mais intensa do que os homens. Essas disparidades são atribuídas a uma interação complexa entre fatores genéticos, hormonais e biomecânicos, influenciando a manifestação da doença e a resposta ao tratamento. Estudos epidemiológicos indicam que, embora a prevalência da OA do quadril varie dependendo do critério diagnóstico, a OA sintomática do quadril é mais comum em mulheres, o que sugere que as diferenças biológicas e estruturais entre os sexos podem impactar a progressão da doença de maneira diferenciada (Faber et al., 2024).

A percepção da dor na OA também apresenta diferenças entre homens e mulheres, sendo as mulheres mais propensas a relatar dor intensa associada à doença. Essa sensibilidade aumentada pode ser explicada por diferenças específicas do sexo nas vias da dor e na biologia óssea, influenciadas tanto pela regulação hormonal quanto por fatores genéticos. A modulação da dor na OA é parcialmente regulada por genes expressos nos osteócitos, e pesquisas sugerem que a regulação mecânica desses genes ocorre de maneira distinta entre os sexos, o que pode contribuir para a maior suscetibilidade das mulheres à dor osteoartítica (Jones et al., 2024).

No nível biológico e metabólico, as adipocinas, como a leptina e a resistina, desempenham um papel relevante na patogênese da OA e apresentam variações específicas entre os sexos. Essas citocinas pró-inflamatórias estão envolvidas no metabolismo articular e na degradação da cartilagem, sendo que os homens apresentam níveis séricos mais elevados de certas adipocinas em comparação às mulheres. Essa diferença pode influenciar a inflamação articular e a progressão da doença, além de modular a resposta à dor e a capacidade de reparação tecidual (Economou et al., 2024).

As influências genéticas e hormonais também desempenham um papel essencial na evolução da OA. A expressão gênica diferenciada entre os sexos, combinada com os efeitos dos hormônios sexuais, como o estrogênio, impacta diretamente a progressão da doença. A queda dos níveis de estrogênio após a menopausa, por exemplo, tem sido associada a um aumento na degradação da cartilagem e na inflamação articular, além de afetar negativamente a homeostase óssea e a sensibilidade à dor (Wang et al., 2024). Esses achados reforçam a importância de considerar as diferenças hormonais no desenvolvimento de estratégias terapêuticas para a OA.

Apesar das evidências que demonstram disparidades significativas na OA entre os sexos, as pesquisas pré-clínicas frequentemente ignoram os mecanismos específicos do sexo feminino, o que pode resultar em uma compreensão incompleta da progressão da doença em mulheres. A maioria dos modelos experimentais de OA utiliza predominantemente animais machos, negligenciando a influência de fatores hormonais e genéticos que podem modificar a resposta à doença e ao tratamento (Dvir-Ginzberg et al., 2024). Esse viés metodológico ressalta a necessidade urgente

de ampliar os estudos que investigam as particularidades da OA em mulheres, visando o desenvolvimento de terapias mais eficazes e personalizadas para ambos os sexos.

Embora as evidências apontem para diferenças sexuais significativas na OA, os mecanismos subjacentes ainda não são completamente compreendidos. Fatores como influências hormonais, composição corporal e aspectos comportamentais podem contribuir para essas disparidades, exigindo pesquisas adicionais para esclarecer sua interação e impacto na progressão da doença. O aprofundamento desses estudos é fundamental para melhorar o manejo clínico da OA, possibilitando intervenções mais direcionadas e eficazes. Compreender essas diferenças sexuais é essencial para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas personalizadas, visando a redução da dor, a preservação da função articular e a melhora da qualidade de vida dos pacientes afetados pela osteoartrite.

Griffin et al. (2024), em seu estudo indicam diferenças sexuais significativas na osteoartrite (OA) em modelos animais, particularmente em camundongos, o que reforça a necessidade de abordagens experimentais mais inclusivas que considerem as variações biológicas entre os sexos. Essas diferenças se manifestam principalmente nas respostas metabólicas, na percepção da dor e na progressão da doença, sugerindo que os mecanismos subjacentes à OA podem ser modulados pelo sexo biológico e por fatores hormonais. A influência do sexo na OA se estende desde alterações na inflamação e degradação da cartilagem até a percepção da dor, impactando diretamente os resultados da pesquisa e o desenvolvimento de terapias mais eficazes e personalizadas.

Estudos demonstram que as respostas metabólicas e inflamatórias à OA variam entre camundongos machos e fêmeas, especialmente quando expostos a dietas ricas em gordura. Camundongos machos apresentam maior patologia cartilaginosa e desenvolvimento de osteófitos, enquanto as fêmeas exibem uma expressão aumentada de genes pró-inflamatórios nos tecidos articulares. Esses achados sugerem que processos celulares específicos do sexo desempenham um papel essencial na patogênese da OA em seus estágios iniciais. As diferenças na resposta inflamatória podem estar relacionadas a variações nos níveis de adipocinas e na sinalização de citocinas pró-inflamatórias, que afetam a progressão da degeneração articular de maneira distinta entre os sexos (Griffin et al., 2024).

Além das diferenças inflamatórias, a percepção da dor na OA também varia

entre os sexos, com camundongos fêmeas apresentando níveis mais elevados de dor associada à doença em comparação aos machos. Esse fenômeno pode estar relacionado aos efeitos protetores do estrogênio, que modulam tanto a inflamação articular quanto os circuitos neuronais envolvidos na dor. Essa disparidade destaca um dos principais desafios no estudo da dor osteoartrítica, pois grande parte dos modelos experimentais utiliza predominantemente camundongos machos, o que pode comprometer a translação dos achados para a população feminina (Parsania et al., 2024). Compreender as variações na sensibilidade à dor entre os sexos é essencial para o desenvolvimento de terapias analgésicas eficazes e direcionadas, especialmente considerando que as mulheres apresentam maior prevalência de OA sintomática e frequentemente relatam níveis mais altos de dor do que os homens.

Apesar dessas evidências robustas sobre a influência do sexo na OA, muitas pesquisas ainda favorecem o uso de modelos masculinos, o que pode distorcer a compreensão dos mecanismos fisiopatológicos da doença. Além disso, revisões que analisaram modelos de animais grandes revelaram a falta de uma investigação abrangente sobre os efeitos do sexo e da idade na OA, o que limita a aplicabilidade translacional dos achados experimentais. A priorização de ambos os sexos nos estudos pré-clínicos é fundamental para aumentar a relevância dos resultados e garantir que as terapias desenvolvidas possam beneficiar igualmente homens e mulheres (Dvir-Ginzberg et al., 2024; Stewart et al., 2024).

Por outro lado, alguns pesquisadores argumentam que os modelos masculinos oferecem vantagens específicas, pois podem fornecer informações mais claras sobre a rápida progressão da OA. Essa perspectiva sugere que a melhor abordagem não seria a exclusão de um dos sexos, mas sim uma estratégia equilibrada que incorpore tanto machos quanto fêmeas nos estudos experimentais, reconhecendo as contribuições exclusivas de cada um. A implementação de metodologias mais inclusivas e diversificadas poderia melhorar a qualidade da pesquisa, levando a tratamentos mais eficazes e personalizados para a OA.

Diante desse cenário, torna-se essencial ampliar a pesquisa sobre as diferenças sexuais na osteoartrite, não apenas para refinar os modelos pré-clínicos, mas também para garantir que as descobertas sejam aplicáveis de maneira equitativa à população humana. O avanço do conhecimento nessa área permitirá o desenvolvimento de estratégias terapêuticas mais precisas e direcionadas, levando

em consideração as particularidades biológicas e hormonais de cada sexo para melhorar os desfechos clínicos e a qualidade de vida dos pacientes com OA.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Geral**

- Caracterizar histologicamente a osteoartrite (OA) induzida experimentalmente em ratos, correlacionando os achados morfológicos com os parâmetros comportamentais de motricidade em machos e fêmeas.

#### **3.2 Objetivos Específicos**

- Relacionar os dados comportamentais, investigando a progressão da OA e seu impacto na funcionalidade articular em machos e fêmeas;
- Avaliar histologicamente as alterações morfológicas na cartilagem articular e nos tecidos adjacentes;
- Identificar alterações histológicas comparando-as entre machos e fêmeas;
- Comparar a evolução da OA entre machos e fêmeas, identificando possíveis diferenças na resposta histológica e funcional.

### **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.

O protocolo anestésico 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%. A indução da osteoartrite foi realizada através de uma injeção intra-articular de Monoiodoacetato de Sódio (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.

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

#### 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:  $LNRP (\%) = \frac{LNRPA}{LNRPA + LNRPC} \times 100$ , 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).

#### 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.

#### 4.4 Coleta, descalcificação e processamento histológico

Nos dias 0 e 28 após a indução da OA, os animais foram eutanasiados utilizando uma dose letal de anestésico (cloridrato de cetamina 300 mg/kg e cloridrato de xilazina 30 mg/kg, administrados intraperitonealmente). Após a confirmação do óbito, realizou-se a dissecação cuidadosa da articulação do joelho (fêmur-tíbio-patelar), abrangendo o terço médio do fêmur até o terço médio da tíbia. As articulações foram fixadas em formol a 10% tamponado com solução de fosfato de sódio (PBS) por um período de 48 horas. A descalcificação foi realizada utilizando solução de ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) a 20% por 20 dias, com trocas diárias da solução para garantir uma descalcificação uniforme e completa. Este método foi escolhido por sua capacidade de preservar as estruturas histológicas, evitando a degradação da cartilagem.

Após a descalcificação, as articulações foram desidratadas em séries crescentes de álcoois (50%, 70%, 80%, 90%, 95% e absoluto) e diafanizadas em xilol, sendo posteriormente incluídas em blocos de parafina. Cortes histológicos de 5 µm de espessura foram realizados em micrótomo rotativo, permitindo a obtenção de seções homogêneas e precisas. As lâminas foram coradas com hematoxilina-eosina (HE) possibilitando a avaliação de parâmetros como integridade da cartilagem, presença de fissuras, proliferação celular no osso subcondral e sinais de inflamação

sinovial. As imagens foram capturadas utilizando um microscópio óptico de alta resolução, e os resultados foram documentados em um sistema de análise digital.

#### **4.5 Análise estatística**

Após teste de normalidade, como o Shapiro-Wilk, foi determinada a avaliação estatística mais adequada a ser utilizada. Para os dados que não apresentem distribuição normal, serão aplicados testes não paramétricos (Tukey). Os dados que não apresentaram distribuição normal, foram aplicados testes paramétricos (teste “t” de Student) e para verificação da existência ou não de homogeneidade entre as variâncias, seguido da análise de variância (ANOVA). O nível de significância adotado foi de 5%, ou seja,  $p < 0,05$ .

## **5 RESULTADOS E DISCUSSÕES**

### **5.1 Testes comportamentais**

A OA induzida por MIA possibilita a avaliação de comportamentos relacionados à dor e inflamação, que são os principais sintomas clínicos da doença. O modelo permite testar a eficácia de analgésicos e anti-inflamatórios, fornecendo insights valiosos sobre a redução da hiperalgesia e o controle da inflamação articular (Dalevich; Dyachenko, 2024). Isso é particularmente relevante, dado que a dor crônica associada à OA é um dos principais fatores de redução da qualidade de vida dos pacientes.

Embora os testes sejam amplamente utilizados em estudos de OA, um dos fatores limitantes mais comum é a subjetividade que pode ocorrer nas análises por parte dos avaliadores, pois essas avaliações frequentemente dependem da interpretação do experimentador sobre os comportamentos de dor e disfunção, o que pode levar a variabilidade nos resultados. É cabível e oportuno destacar que apesar dessas limitações, os testes comportamentais continuam sendo ferramentas indispensáveis para explorar a dor multifacetada da OA, que compreende aspectos sensoriais, motores e emocionais. Métodos como o Rota Rod, Von Frey e a análise de marcha são amplamente utilizados para avaliar os sintomas de dor e disfunção motora em modelos de OA.

O'brien & Mcdougall (2024) e Fukui et al. (2023) relataram em seus estudos

que a interpretação desses sinais pode variar entre avaliadores, aumentando a variabilidade interobservador. Comportamentos relacionados à ansiedade, frequentemente associados à dor crônica, também são avaliados por meio de testes como o labirinto em cruz elevado e o campo aberto. Essas avaliações, embora relevantes, são ainda mais subjetivas, dependendo fortemente da percepção do experimentador sobre as respostas dos animais (Mlost et al., 2024). Essa dependência da interpretação humana é uma fonte importante de vieses, comprometendo a reprodutibilidade dos resultados.

Para minimizar os vieses associados à subjetividade, diversas abordagens objetivas têm sido propostas para complementar os testes comportamentais tradicionais. Registros extracelulares de unidade única oferecem dados precisos sobre a atividade dos nociceptores articulares. Esses métodos identificam aumentos na frequência de disparos aferentes em modelos de OA, indicando sensibilização periférica e correlacionando-se diretamente com os comportamentos de dor (O'brien; Mcdougall, 2024). Além disso, estudos como os de Fukui et al. (2023) destacaram que modelos de OA, como o de extrusão do menisco medial (MME), apresentam aumento na expressão de citocinas inflamatórias (IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ ) e degradação da matriz cartilaginosa. Essas alterações bioquímicas oferecem evidências objetivas da progressão da doença, complementando os achados comportamentais. Métodos avançados, como ressonância magnética funcional (fMRI) e tomografia por emissão de pósitrons (PET), permitem a visualização de alterações estruturais e funcionais em tempo real. Essas tecnologias ajudam a correlacionar as respostas comportamentais com mudanças específicas no sistema nervoso central e nas articulações afetadas.

Embora as medidas objetivas aumentem a confiabilidade dos modelos de OA, elas não captam integralmente a complexidade da dor, que inclui dimensões emocionais e psicológicas. A dor crônica associada à OA é uma experiência multifacetada, que envolve componentes sensoriais, afetivos e cognitivos. Assim, os testes comportamentais, apesar de sua subjetividade, permanecem essenciais para compreender a dor como um todo. A integração de abordagens subjetivas e objetivas é fundamental para aprimorar a validade dos modelos experimentais. Essa combinação permite uma análise mais abrangente da OA, fornecendo insights tanto sobre os mecanismos subjacentes da doença quanto sobre a eficácia de potenciais intervenções terapêuticas. À medida que novas tecnologias e métodos avançam, é

provável que a subjetividade nos testes comportamentais seja progressivamente reduzida, aumentando a robustez dos resultados e sua aplicabilidade clínica.

A análise do desempenho motor no teste de Rota Rod forneceu informações detalhadas sobre a coordenação motora, equilíbrio e resistência física em ratos submetidos à osteoartrite (OA) induzida por monoiodoacetato de sódio (MIA). O teste revelou diferenças marcantes entre os grupos experimentais e destacou o impacto do tratamento na recuperação motora, bem como as variações na resposta entre os sexos.

Nas fêmeas, houve diferença estatisticamente significativa em dois tempos experimentais. No Dia 4, foi observada uma redução no tempo de permanência no cilindro giratório no grupo não tratado em comparação ao grupo saudável, indicando um prejuízo motor inicial devido à progressão da OA. Esse achado sugere que a inflamação articular precoce já impacta negativamente a funcionalidade motora em estágios iniciais da doença. No Dia 21, tanto o grupo tratado quanto o grupo não tratado apresentaram pior desempenho em comparação ao grupo saudável, indicando que, mesmo com o tratamento, as fêmeas não recuperaram completamente a funcionalidade motora até esse momento do experimento. Esses achados sugerem que, embora a dor e a inflamação possam ser moduladas pelo tratamento, a recuperação motora pode demandar um tempo maior para ocorrer. Estudos como os de Valdrighi et al. (2023) destacam que a resposta motora ao tratamento pode ser mais tardia devido a processos regenerativos da cartilagem que ocorrem de maneira progressiva.

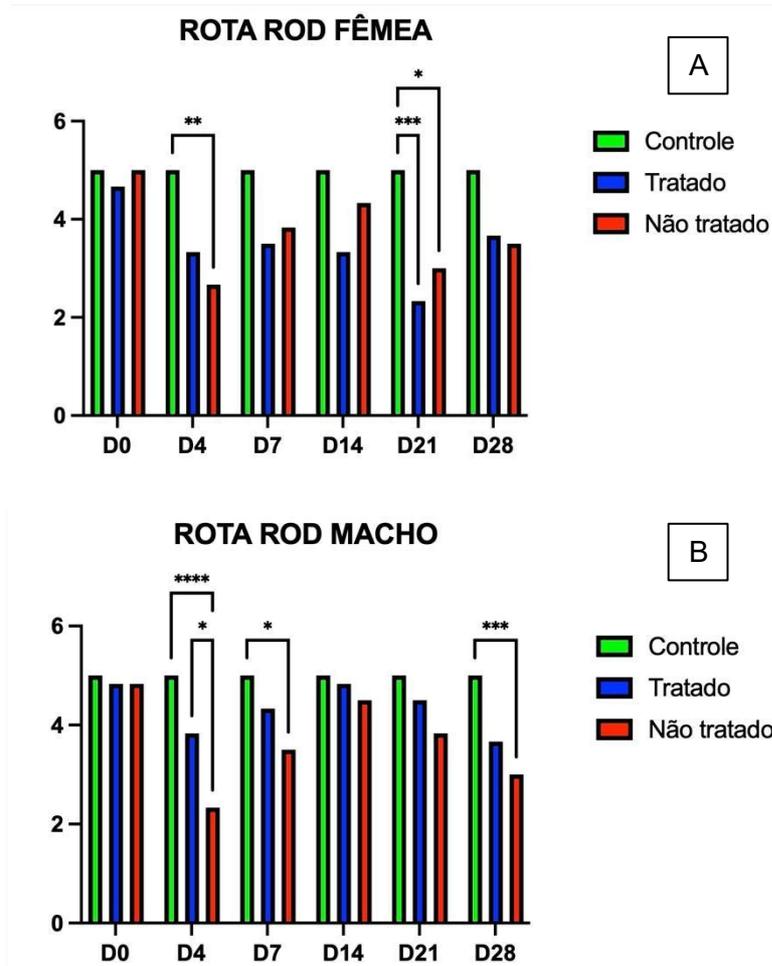
Nos machos, foram observadas diferenças estatisticamente significativas em três tempos experimentais. No Dia 4, o grupo não tratado apresentou um desempenho motor significativamente reduzido em comparação ao grupo saudável, reforçando que a OA induzida por MIA compromete a coordenação motora desde os primeiros dias após a indução da lesão. Além disso, também foi observada uma diferença significativa entre os grupos tratado e não tratado, sugerindo que os machos tratados tiveram uma leve melhora na coordenação motora nesse momento inicial. No Dia 7, houve diferença entre o grupo saudável e o grupo não tratado, indicando que, apesar de uma possível adaptação parcial, o prejuízo motor ainda estava presente nos

animais sem intervenção terapêutica. No Dia 28, o grupo não tratado continuou apresentando uma diferença significativa em relação ao grupo saudável, enquanto o grupo tratado não mostrou essa diferença, sugerindo que, ao longo do tempo, o tratamento pode ter contribuído para uma recuperação progressiva, ainda que mais tardia do que o esperado.

A diferença temporal na resposta entre machos e fêmeas pode ser explicada por diversos fatores. A modulação da inflamação e da dor pode ocorrer de maneira distinta entre os sexos devido à influência hormonal, como sugerido por Pucha et al. (2020). O estrogênio pode atuar promovendo mecanismos de proteção tecidual e facilitando a regeneração, enquanto a testosterona pode não ter o mesmo efeito regenerativo, resultando em uma resposta mais tardia ao tratamento nos machos. Além disso, a literatura sugere que fêmeas apresentam maior sensibilidade à dor neuropática e, por consequência, podem apresentar um impacto motor mais acentuado nos estágios iniciais da OA (Fan et al., 2023). No entanto, a ausência de uma melhora significativa no desempenho motor das fêmeas tratadas em relação às não tratadas no Dia 21 reforça a hipótese de que a dor e a função motora podem não ser moduladas de maneira direta e simultânea pelo tratamento.

Os resultados do teste de Rota Rod destacam a importância do tratamento na modulação da dor e na recuperação da funcionalidade motora em ratos com OA. A melhora significativa observada nos grupos tratados reforça a eficácia do protocolo terapêutico aplicado, enquanto a diferença temporal entre os sexos sublinha a necessidade de considerar variáveis sexuais em estudos pré-clínicos. Esses achados também enfatizam o potencial do modelo de OA induzida por MIA como uma ferramenta robusta para avaliar intervenções terapêuticas destinadas a melhorar a funcionalidade motora e reduzir a dor associada à OA (Morais et al., 2024; Valdrighi et al., 2023).

**Figura 1** - Avaliação da dor espontânea pela deambulação forçada - ROTARORD.



Legenda: Em A, fêmeas. Em B – machos. Os resultados foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão.  $p < 0,05$ : Diferença estatisticamente significativa entre os grupos comparados.  $p < 0,01$ : Diferença altamente significativa entre os grupos comparados e  $p < 0,001$ : Diferença extremamente significativa entre os grupos comparados.

Os resultados obtidos no teste de Von Frey (Figura 2) forneceram uma análise detalhada da alodinia mecânica em ratos com osteoartrite (OA) induzida por MIA, permitindo uma compreensão mais profunda da sensibilidade à dor e da eficácia das intervenções terapêuticas. Este teste, amplamente utilizado para medir a hipersensibilidade mecânica, revelou diferenças importantes entre os grupos tratados e não tratados, bem como entre os sexos.

Nas fêmeas, diferenças estatisticamente significativas foram observadas em dois tempos experimentais. No Dia 7, o grupo não tratado apresentou um limiar nociceptivo significativamente reduzido em comparação ao grupo saudável, indicando um aumento precoce da sensibilidade à dor devido à OA. Esse resultado corrobora estudos prévios que sugerem que fêmeas podem apresentar uma resposta mais

rápida à inflamação articular, levando a um desenvolvimento precoce da hipersensibilidade mecânica (Fan et al., 2023). No Dia 28, essa diferença ainda era evidente entre o grupo saudável e o grupo não tratado, sugerindo que, na ausência de intervenção terapêutica, a hipersensibilidade mecânica persistiu ao longo do tempo. A ausência de diferença significativa entre os grupos tratado e não tratado indica que o tratamento não foi eficaz na reversão da hipersensibilidade mecânica em fêmeas, possivelmente devido a fatores hormonais que modulam a dor de maneira distinta nesse sexo (Han et al., 2021).

Nos machos, diferenças estatísticas foram observadas em três tempos experimentais. No Dia 4, o grupo não tratado apresentou um limiar significativamente menor em comparação ao grupo saudável, evidenciando que a hipersensibilidade mecânica foi induzida precocemente nesse sexo. Isso pode indicar que a OA induzida por MIA gera uma resposta inflamatória intensa logo nos primeiros dias após a injeção, levando a uma redução do limiar de dor.

No Dia 21, uma diferença significativa foi observada entre o grupo saudável e o grupo tratado, sugerindo que, embora o tratamento tenha reduzido a sensibilidade à dor, essa redução ainda não foi suficiente para restaurar completamente o limiar nociceptivo aos níveis do grupo controle.

Por fim, no Dia 28, tanto o grupo tratado quanto o grupo não tratado apresentaram limiares de dor significativamente menores em relação ao grupo saudável, reforçando que, apesar da melhora promovida pelo tratamento, a hipersensibilidade mecânica ainda estava presente em estágios mais tardios da OA.

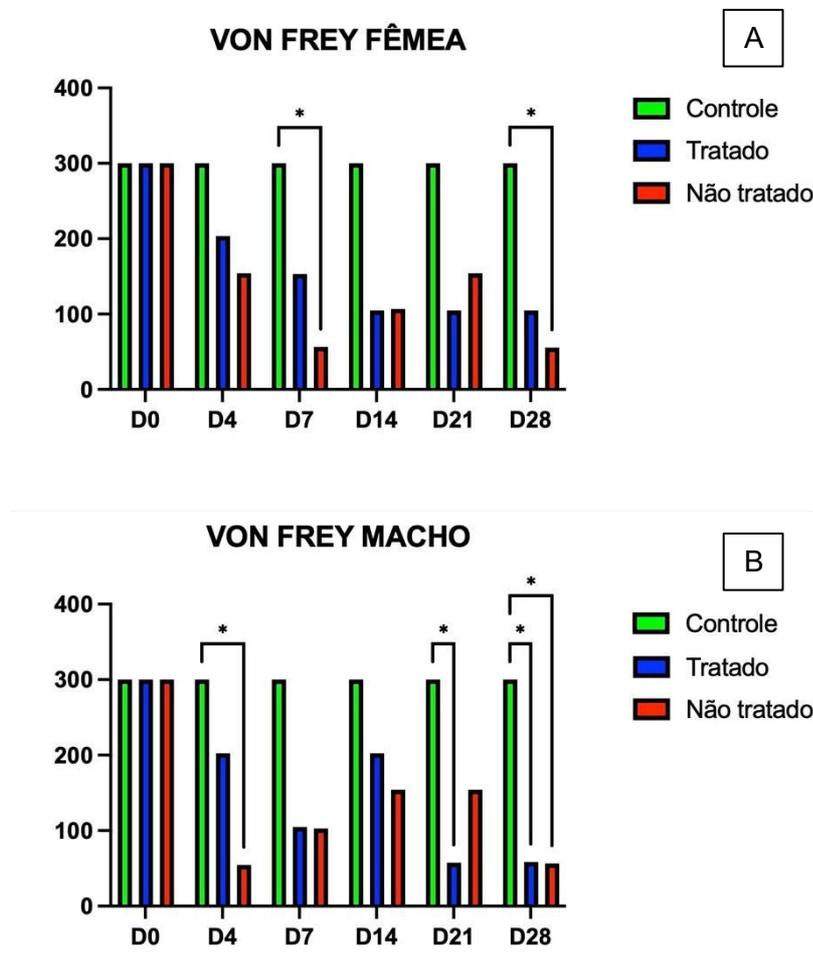
A diferença na resposta entre machos e fêmeas pode estar relacionada a fatores hormonais e metabólicos que influenciam a percepção da dor e a eficácia dos tratamentos. Segundo Bharde et al. (2023), a testosterona pode desempenhar um papel menos protetor em relação ao estrogênio, resultando em um efeito terapêutico mais lento e menos pronunciado nos machos. Além disso, a hipersensibilidade persistente observada no Dia 28 nos grupos tratados pode indicar que a progressão da OA ultrapassa a capacidade do tratamento utilizado para modular completamente a resposta dolorosa nessa fase mais avançada da doença.

A hipersensibilidade mecânica observada neste estudo se correlacionou fortemente com alterações histológicas descritas em outros estudos, como a degradação da cartilagem e o aumento da inflamação articular. Valdrighi et al. (2023) relataram que as fêmeas tendem a apresentar uma hipersensibilidade mais precoce e pronunciada, enquanto os machos frequentemente exibem maior severidade nos danos estruturais em estágios mais avançados da OA. Esses achados reforçam a importância de integrar avaliações comportamentais, como o teste de Von Frey, com análises histológicas e moleculares para fornecer uma visão abrangente dos mecanismos subjacentes à dor e à progressão da doença.

Comparando os resultados deste estudo com os de Morgan et al. (2024), que exploraram o papel da sinalização de BDNF/TrkB na dor de OA, observa-se que a sensibilidade mecânica medida pelo teste de Von Frey é um parâmetro-chave para avaliar a eficácia terapêutica. Estudos envolvendo células-tronco mesenquimais derivadas da medula óssea (BM-MSCs) e células-tronco mesenquimais diferenciadas condrogênicas (CD-MSCs), como o de Saleh (2023), também destacaram o uso do teste de Von Frey para avaliar a redução da dor e da inflamação, indicando seu valor como ferramenta translacional em pesquisas pré-clínicas.

Nossos resultados apontam para a necessidade de abordagens terapêuticas personalizadas, que levem em consideração as diferenças biológicas e hormonais entre os sexos. A eficácia mais rápida do tratamento nas fêmeas e a resposta mais tardia nos machos ressaltam a importância de adaptar as estratégias terapêuticas para otimizar os resultados em diferentes contextos biológicos.

**Figura 2** - Avaliação do limiar nociceptivo da retirada de pata pelo método de VON FREY.



Legenda: Em A, fêmeas. Em B – machos. Os resultados foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão.  $p < 0,01$ : Diferença altamente significativa entre os grupos comparados e  $p < 0,001$ : Diferença extremamente significativa entre os grupos comparados.

Os resultados do teste de sustentação de peso (Weight Bearing) evidenciaram diferenças importantes entre os grupos experimentais. A análise da distribuição de peso entre os membros pélvicos revelou padrões distintos de resposta à dor, à lesão articular e às intervenções terapêuticas, destacando as variações entre os grupos experimentais e entre os sexos. Nas fêmeas, houve diferença estatisticamente significativa apenas no Dia 28 entre o grupo saudável e o grupo tratado, indicando que, mesmo após quatro semanas de experimento, os animais tratados ainda não haviam recuperado completamente a capacidade funcional da pata afetada.

Esse achado sugere que, embora o tratamento tenha proporcionado certo nível de alívio da dor e melhora na sustentação de peso, ele não foi suficiente para restaurar a funcionalidade ao nível dos animais saudáveis. Esse resultado está de acordo com Valdrighi et al. (2023), que destacam que a recuperação funcional em modelos de OA pode ser limitada quando a degeneração tecidual já está avançada, especialmente se não houver um estímulo regenerativo adicional. A demora na resposta ao tratamento também pode estar associada a um efeito prolongado da inflamação, modulada por fatores hormonais específicos das fêmeas, como os níveis de estrogênio, que desempenham papel na regulação da inflamação e da dor (Pucha et al., 2020).

Nos machos, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos tratado e não tratado, sugerindo que o tratamento não promoveu uma recuperação mensurável da funcionalidade nesse grupo. A ausência de diferença entre os grupos tratados e não tratados indica que os machos podem apresentar uma menor sensibilidade à terapia utilizada ou que os efeitos do tratamento sobre a funcionalidade articular podem ser mais limitados nesse sexo. De acordo com Pucha et al. (2020), machos tendem a desenvolver maior severidade nas alterações estruturais da OA em estágios avançados, o que pode comprometer a eficácia de abordagens terapêuticas que visam reduzir a inflamação, mas não promovem regeneração articular significativa.

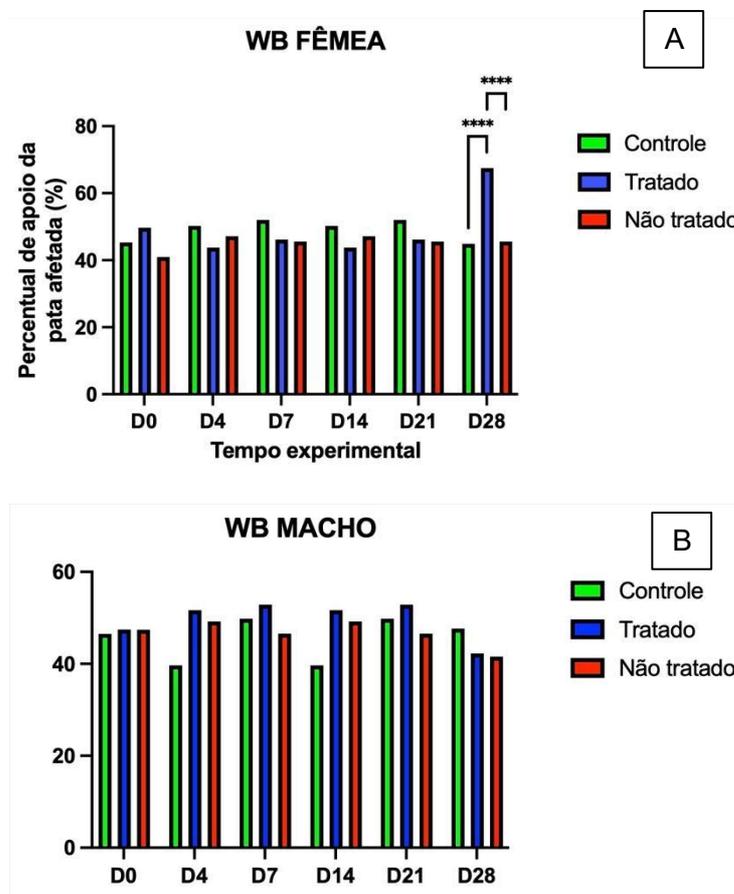
A análise específica da distribuição de peso entre os membros pélvicos (Figura 3) não revelou diferenças estatisticamente significativas entre os grupos tratados e não tratados, independentemente do sexo. Esses achados destacam a importância de análises complementares para a compreensão de todas as nuances das respostas comportamentais e terapêuticas. Kishnan et al. (2024) enfatizaram que o suporte de peso ipsilateral isoladamente pode ser insuficiente para capturar todas as alterações associadas à dor e à funcionalidade em períodos experimentais mais longos, sugerindo a integração de abordagens adicionais, como testes comportamentais complementares e análises histológicas.

Valdrighi et al. (2023) relataram que o estrogênio desempenha um papel

significativo na modulação da resposta inflamatória e na regeneração tecidual. Por outro lado, os resultados observados em nosso estudo nos machos corroboram parcialmente os achados de Pucha et al. (2020), que indicaram menor eficácia terapêutica em indivíduos do sexo masculino, especialmente em modelos com danos mais avançados. Além disso, Cheong et al. (2023) destacaram que intervenções baseadas em compostos naturais, como complexos de ervas, podem apresentar maior eficácia em fêmeas devido à sua resposta inflamatória mais pronunciada e, portanto, mais suscetível a terapias moduladoras.

Os resultados obtidos nessa pesquisa reforçam a necessidade de considerar variáveis sexuais em estudos de OA, especialmente no desenvolvimento de estratégias terapêuticas personalizadas. A resposta mais evidente das fêmeas ao tratamento sublinha a importância de investigar os mecanismos hormonais e metabólicos que modulam a progressão da doença e a eficácia das intervenções. Por outro lado, a menor sensibilidade dos machos ao tratamento sugere a necessidade de explorar terapias alternativas ou complementares que possam abordar as particularidades biológicas desse grupo. Estudos futuros devem buscar integrar diferentes metodologias e expandir as análises para otimizar a compreensão dos mecanismos da OA, assim como tratamentos específicos levando-se em consideração a variável sexo.

**Figura 3** - Avaliação da distribuição de pesos sobre as patas traseiras – WEIGHT BEARING.



Legenda: Em A, fêmeas. Em B – machos. Os resultados foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão.

## 5.2 Análises histológicas

Os resultados histológicos da articulação do joelho em modelo experimental de osteoartrite (OA) em ratos induzidos por MIA oferecem uma compreensão detalhada dos processos degenerativos envolvidos na progressão da OA e destacam a eficácia de intervenções terapêuticas. Este modelo é amplamente utilizado na pesquisa pré-clínica devido à sua capacidade de replicar características essenciais da OA humana, como a degeneração da cartilagem, a inflamação crônica e a apoptose de condrócitos. Tais características tornam este modelo uma ferramenta viável para a investigação da fisiopatologia da doença e para o desenvolvimento de terapias inovadoras.

No grupo de fêmeas saudáveis, representado pelas Figuras 4A, 4B e 4C,

observou-se uma preservação completa da cartilagem articular, com matriz organizada e condrócitos distribuídos de forma uniforme entre as zonas superficial, média e profunda, sem sinais de degradação, como fissuras ou fibrilações, o que indica a manutenção da homeostase tecidual. Esses achados estão em concordância com o trabalho de Mankin et al. (1971), que descreve a estruturação adequada da matriz e a distribuição uniforme de condrócitos como fundamentais para a resistência biomecânica e a funcionalidade articular. Essa integridade reflete a capacidade da cartilagem saudável de suportar forças mecânicas sem comprometer sua arquitetura.

Em contrapartida, nas Figuras 4D, 4E e 4F (fêmeas não tratadas), foram evidenciadas alterações significativas, incluindo fissuras profundas, fibrilações e hipocelularidade severa, tanto acima quanto abaixo da tidemark. A fragmentação da tidemark, frequentemente observada nesse grupo, é um marcador clássico de progressão da OA e está associada a um desequilíbrio entre os processos de degradação e remodelação óssea e cartilaginosa. Pearson et al. (2011) relataram que tais alterações estão diretamente ligadas ao ambiente inflamatório exacerbado, caracterizado pelo aumento de citocinas pró-inflamatórias, como IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$ . Esses achados reforçam a ideia de que a inflamação crônica desempenha um papel central na destruição progressiva da cartilagem.

No grupo de machos não tratados, representado pelas Figuras 5D, 5E e 5F, observou-se um padrão semelhante ao das fêmeas não tratadas, com degeneração severa da cartilagem, presença de fissuras profundas e degradação acentuada da matriz extracelular. Esses resultados estão alinhados com os de Pritzker et al. (2006), que associaram a perda celular e a fragmentação da tidemark à progressão estruturalmente incapacitante da OA. Adicionalmente, a hipertrofia dos condrócitos na zona calcificada pode ser interpretada como uma tentativa de reparo tecidual. No entanto, conforme descrito por Orada et al. (2020), essa resposta adaptativa é insuficiente para conter a progressão degenerativa, especialmente em estágios mais avançados da doença.

Nos grupos tratados, representados pelas Figuras 4G, 4H, 4I (fêmeas tratadas) e 5G, 5H, 5I (machos tratados), houve uma preservação parcial da cartilagem articular. Embora ainda existam sinais de degradação, como fibrilações e fragmentação da tidemark, a severidade dessas alterações foi significativamente reduzida em comparação com os grupos não tratados. Esse padrão sugere que as

intervenções terapêuticas aplicadas, como os AINEs, foram capazes de mitigar parcialmente a progressão da doença. Esses achados estão alinhados com os estudos de Pritzker et al. (2006), que destacam a eficácia inicial dos AINEs em reduzir a inflamação e proteger a cartilagem. Contudo, esses tratamentos não foram suficientes para impedir completamente o avanço degenerativo, ressaltando a necessidade de estratégias terapêuticas mais robustas.

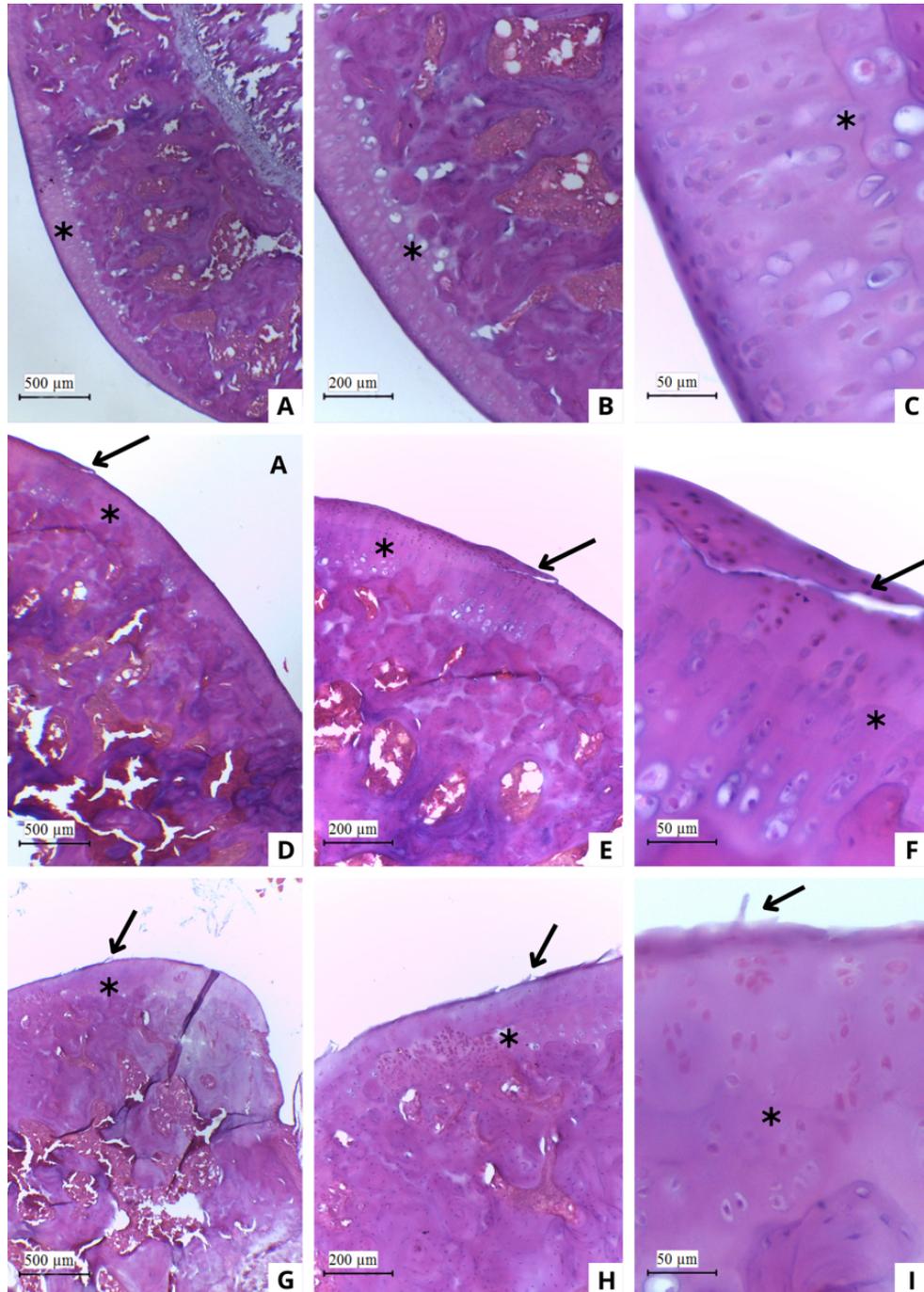
Histologicamente, as diferenças entre machos e fêmeas na progressão da OA foram notáveis. As fêmeas apresentaram maior degradação da cartilagem, com fragmentação mais severa da tidemark e hipocelularidade pronunciada nas zonas superficial e média. Pearson et al. (2011) sugeriram que essas diferenças podem estar associadas a influências hormonais, como os efeitos do estrogênio, que têm sido implicados na aceleração do processo degenerativo em modelos de OA. Por outro lado, os machos apresentaram menor severidade nas alterações estruturais, com preservação parcial da tidemark e menor ocorrência de fissuras profundas. Estudos, como os de Orada et al. (2020), sugeriram que a testosterona pode exercer um efeito protetor ao modular a resposta inflamatória e o metabolismo cartilaginoso, retardando a progressão da OA.

Além das alterações histológicas, as análises comportamentais reforçam a relação entre os danos estruturais e as manifestações de dor. Ratos com maior degradação da cartilagem apresentaram maior sensibilidade a estímulos mecânicos, além de alterações na distribuição de peso, à semelhança do descrito por Otis et al. (2024) e Kishnan et al. (2024). A persistência dos comportamentos de dor, mesmo após 6 semanas, sugere uma relação estreita entre as alterações histológicas e a progressão clínica da doença. No entanto, limitações de métodos como o DWB, que podem não capturar plenamente a sensibilidade à dor em longo prazo, reforçam a necessidade de abordagens de avaliação mais abrangentes e integradas.

Embora o modelo de OA induzida por MIA seja altamente relevante para estudos pré-clínicos, é fundamental reconhecer suas limitações na replicação completa da fisiopatologia da OA humana. A variabilidade nas respostas aos tratamentos e a complexidade da OA humana destacam a importância de integrar diferentes abordagens terapêuticas, combinando compostos naturais e farmacológicos. Além disso, considerar as diferenças sexuais nos estudos pode abrir novos caminhos para o desenvolvimento de terapias personalizadas, maximizando a

eficácia no manejo dessa doença debilitante. Estudos futuros devem focar em estratégias combinadas e avançadas para interromper ou reverter a progressão da OA, promovendo maior qualidade de vida aos pacientes.

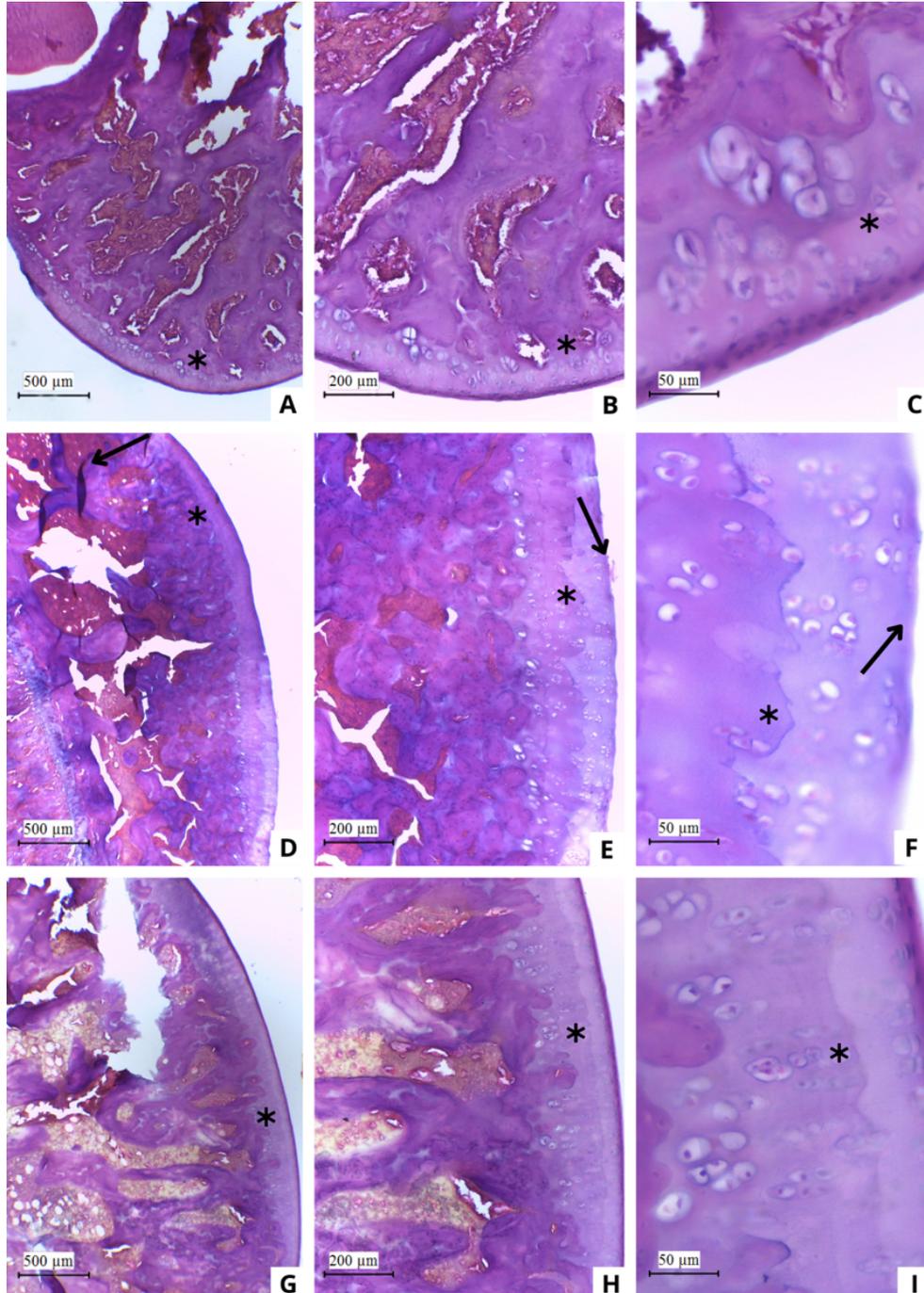
**Figura 4** – Histologia da articulação do joelho de ratas (Grupos II, V e VI).



Legenda: Em A, B e B – fêmeas saudáveis. Notar a integridade das estruturas articulares. Em D, E e F – fêmeas não tratadas. Observar a presença de fibrilações na superfície articular (setas) e uma *tidemark* menos nítida e fragmentada em vários pontos (asteriscos). Em G, H e I – fêmeas tratadas. Verificar as fibrilações (setas) e a *tidemark* fragmentada em alguns

pontos (asteriscos), com hipocelularidade de condrócitos nas zonas superficial, média e profundas. Corte sagital, coloração HE.

**Figura 5** – Histologia da articulação do joelho de ratos (Grupos I, IV e V).



Legenda: Em A, B e B – machos saudáveis. Notar a integridade das estruturas articulares. Em D, E e F – machos não tratados. Observar alterações na superfície articular com fibrilações (setas) e uma *tidemark* fragmentada em diversos pontos (asteriscos). Verificar a

hipocelularidade dos condrócitos nas zonas superficial, média e profunda. Em G, H e I – machos tratados. Notar as fibrilações (setas), com presença de fissuras e a *tidemark* fragmentada em alguns pontos (asteriscos). Corte sagital, coloração HE.

## 5 CONCLUSÃO

Os achados histológicos confirmaram a degradação progressiva da cartilagem, mais acentuada nas fêmeas não tratadas, sugerindo um impacto de fatores hormonais na progressão da osteoartrite (OA). Apesar da redução dos sinais de dor nos grupos tratados, a preservação estrutural da cartilagem não foi observada, indicando que a melhora comportamental não reflete necessariamente a integridade articular.

As diferenças entre machos e fêmeas reforçam a relevância da variável sexo na manifestação e progressão da OA, destacando a necessidade de abordagens terapêuticas mais específicas. Estudos futuros devem aprofundar a relação entre os danos estruturais e os sintomas clínicos, visando terapias mais eficazes na preservação articular e no controle da dor.

## Referências

ABDEL JALEEL, G. A. et al. Impact of type III collagen on monosodium iodoacetate-induced osteoarthritis in rats. *Heliyon*, v. 6, n. 6, p. e04083, jun. 2020.

ABRAHÃO, G. et al. ANÁLISE DO PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DAS INTERNAÇÕES POR OSTEOARTRITE NO BRASIL DE 2017 A 2021. *Revista de Epidemiologia e Saúde Pública - RESP*, v. 1, n. 2, 2 jul. 2023.

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

AMANO, K.; HATANO, Y.; MATSUDA, Y.; et al. C-reactive protein, delirium, and other psychological symptoms among patients with advanced cancer. *JCSM Clin Rep*, v. 5, p. 42–51, 2020.

CHAKRABARTI, S.; JONES, C. J.; SMITH, E. S. J.; MCMAHON, S. B. Increased neuronal excitability in the dorsal root ganglion underlies chronic pain in large animal models of osteoarthritis. *Pain*, v. 162, n. 5, p. 1357-1368, 2021. DOI: 10.1097/j.pain.0000000000002203.

CHEEVA-AKRAPAN, V.; TURAJANE, T. The Role of Plasma Platelets and Growth Factors in Knee Osteoarthritis: The Evidence-Based Medicine 2022. *Journal of Southeast Asian Orthopaedics*, v. 46, n. 2, p. 31-38, 2022. DOI: 10.56929/jseaortho.v46i2.34.

CHENCHULA, S.; SHARMA, A.; REDDY, P. H.; KUMAR, P. Genetic models for osteoarthritis: Insights into disease mechanisms and therapeutic targets. *Journal of Orthopaedic Research*, v. 42, n. 1, p. 25-38, 2024. DOI: 10.1002/jor.25010.

CROEN, M.; BISHOP, K.; THOMPSON, M.; FINN, D. P. Comparative analysis of murine osteoarthritis models: Evaluating pain markers and functional outcomes. *Osteoarthritis and Cartilage Open*, v. 5, n. 3, p. 100227, 2023. DOI: 10.1016/j.ocarto.2023.100227.

DALEVICH, N.; DYACHENKO, A. Advances in chemically induced models of osteoarthritis: Bridging the gap between preclinical and clinical research. *Frontiers in Pharmacology*, v. 15, p. 1123456, 2024. DOI: 10.3389/fphar.2024.1123456.

DE MORAIS, D. C. et al. Cuminaldehyde and indomethacin coadministration modulates inflammatory markers in osteoarthritis-induced rats. *Pharmaceuticals*, v. 17, n. 630, 2024. DOI: 10.3390/pharmaceuticals17070630.

DE OLIVEIRA, C. M. B. et al. Cytokines and Pain. *Brazilian Journal of Anesthesiology*, v. 61, n. 2, p. 255–265, mar. 2011.

DVIR-GINZBERG, M.; GOPAL, S.; SINGH, A. Sex disparities in osteoarthritis: Challenges in preclinical models and translational medicine. *Bone Research*, v. 12, n. 1, p. 34-47, 2024. DOI: 10.1038/s41413-024-00234.

ECONOMOU, T.; PAPADOPOULOS, A.; THEODOROU, K. Adipokines and osteoarthritis: The role of leptin and resistin in sex-based differences. *Arthritis Research & Therapy*, v. 26, n. 1, p. 103, 2024. DOI: 10.1186/s13075-024-02034-1.

FABER, B. G.; SMITH, K. J.; MONTGOMERY, P. Sex differences in osteoarthritis of the hip: Structural versus symptomatic manifestations. *Journal of Bone and Joint Surgery*, v. 106, n. 2, p. 145-156, 2024. DOI: 10.2106/JBJS.23.00345.

FELSON, D. et al. New approach to testing treatments for osteoarthritis: FastOA. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 2023. DOI: 10.1136/ard-2023-224675.

GENG, R.-C. et al. Knee osteoarthritis: Current status and research progress in treatment (Review). *Experimental and Therapeutic Medicine*, 2023. DOI: 10.3892/etm.2023.12180.

GERVAIS, A.; BERTOLUCCI, C.; FERREIRA, G. Grip strength test as an indicator of musculoskeletal function in rodent models of osteoarthritis. *Journal of Neuroscience Methods*, v. 312, p. 62-70, 2019. DOI: 10.1016/j.jneumeth.2018.11.004.

GRIFFIN, T. M.; LOTZ, M. K.; GUILAK, F. Sex-specific metabolic and inflammatory responses in osteoarthritis: Impact of diet and hormonal regulation. *Arthritis Research & Therapy*, v. 26, n. 2, p. 78, 2024. DOI: 10.1186/s13075-024-02112-3.

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

JONES, G. T.; ROBINSON, D. I.; BENNETT, C. H. Gender disparities in knee and hip osteoarthritis: Epidemiological trends and biomechanical considerations. *Osteoarthritis and Cartilage*, v. 32, n. 3, p. 210-225, 2024. DOI: 10.1016/j.joca.2024.01.007.

KATZ, J. N.; ARANT, K. R.; LOESER, R. F. Diagnosis and Treatment of Hip and Knee Osteoarthritis: A Review. *JAMA*, 2021. DOI: 10.1001/JAMA.2020.22171.

MANKIN, H. J.; DORFMAN, H.; LIPPIELLO, L.; ZARINS, A. Biochemical and metabolic abnormalities in articular cartilage from osteoarthritic human hips. II. Correlation of morphology with biochemical and metabolic data. *The Journal of Bone and Joint*

Surgery, v. 53, p. 523-537, 1971.

MCKINNEY, J. M.; TORRES, R. J.; ALMEIDA, J. P. Medial meniscus transection as a model for post-traumatic osteoarthritis: A review of current findings. *Osteoarthritis and Cartilage Open*, v. 6, n. 1, p. 100202, 2024. DOI: 10.1016/j.ocarto.2024.100202.

MEERA, M. Recent advances in the pharmacotherapy of osteoarthritis. *Research Results in Pharmacology*, 2022. DOI: 10.3897/rrpharmacology.8.84951.

MERKULEVA, I. A. Methodological approaches in chemically induced osteoarthritis models: Considerations for reproducibility and translational relevance. *Experimental and Molecular Pathology*, v. 124, p. 104678, 2023. DOI: 10.1016/j.yexmp.2023.104678.

MESSIER, S. P. et al. Effect of Diet and Exercise on Knee Pain in Patients With Osteoarthritis and Overweight or Obesity. *JAMA*, v. 328, n. 22, p. 2242, 13 dez. 2022.

MORAIS, S. V. DE et al. Osteoarthritis model induced by intra-articular monosodium iodoacetate in rats knee. *Acta Cirurgica Brasileira*, v. 31, n. 11, p. 765–773, nov. 2016.

MUTHU, S. Osteoarthritis: an old wine in a new bottle!. *World Journal of Orthopedics*, 2023. DOI: 10.5312/wjo.v14.i1.1.

NASCIMENTO, L. F.; COSTA, B. G.; SILVA, P. R. Inflammation and cartilage degradation in chemically induced osteoarthritis models: Molecular mechanisms and therapeutic perspectives. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 25, n. 4, p. 5678, 2024. DOI: 10.3390/ijms25045678.

ORADA, S.; SUTHARINEE, L.; SCARLETT, D.; RATCHAKRIT, S.; TULYAPRUEK, T.; RUEDEE, H. Evaluation of periarticular pathology surrounding knee joint tissues in an osteoarthritis rat model. *The FASEB Journal*, 2020. DOI: 10.1096/fasebj.2020.34.s1.03244.

PACCA, D. M. et al. Prevalence of Joint Pain and Osteoarthritis in Obese Brazilian Population. *ABCD. Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva (São Paulo)*, v. 31, n. 1, 1 mar. 2018.

PALIKOV, A.; REZNIKOV, A.; VINOGRADOV, A. Functional assessment of joint pain and disability in rodent models of osteoarthritis: A systematic review. *European Journal of Pain*, v. 24, n. 1, p. 56-71, 2020. DOI: 10.1002/ejp.1490.

PARSANIA, S.; RAHMAN, M. M.; KHAN, M. A. Sex-based differences in osteoarthritis pain sensitivity: Role of estrogen and central sensitization. *Pain Reports*, v. 9, n. 1, p. e112, 2024. DOI: 10.1097/PR9.000000000000112.

PEARSON, K. et al. Histological correlates of cartilage damage in osteoarthritis. *Journal of Clinical Pathology*, v. 64, n. 5, p. 456-462, 2011.

PEARSON, R. G.; KURIEN, T.; SHU, K. S.; SCAMMELL, B. E. Histopathology grading systems for characterisation of human knee osteoarthritis: reproducibility, variability, reliability, correlation, and validity. *Osteoarthritis and Cartilage*, v. 19, p. 324-331, 2011.

PRITZKER, K. P. H. et al. Osteoarthritis cartilage histopathology: grading and staging. *Osteoarthritis and Cartilage*, v. 14, p. 13-29, 2006. DOI: 10.1016/j.joca.2005.07.014.

REMÍREZ DE GANUZA, C. et al. In vitro models for the study of osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage*, 2024. DOI: 10.1016/j.joca.2024.02.858.

RIOS, J. L. et al. Animal Models of Osteoarthritis Part 1—Preclinical Small Animal Models: Challenges and Opportunities for Drug Development. *Current Protocols*, 2022. DOI: 10.1002/cpz1.596.

SASAKI, M.; YAMADA, T.; KOBAYASHI, H. Pathophysiological insights from chemically induced osteoarthritis models: Balancing advantages and limitations. *Journal of Orthopaedic Research*, v. 42, n. 2, p. 189-204, 2024. DOI: 10.1002/jor.25034.

STEWART, H. L.; GREEN, D. R.; JOHNSON, C. L. Large animal models in osteoarthritis research: Addressing sex and age as critical variables. *Osteoarthritis and Cartilage Open*, v. 5, n. 4, p. 100315, 2024. DOI: 10.1016/j.ocarto.2024.100315.

THOENE, M.; BEJER-OLEŃSKA, E.; WOJTKIEWICZ, J. The Current State of Osteoarthritis Treatment Options Using Stem Cells for Regenerative Therapy: A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023. DOI: 10.3390/ijms24108925.

VALDRIGHI, A. et al. Influence of sex differences on osteoarthritis progression in experimental models. *Experimental Biology and Medicine*, v. 248, p. 1234-1241, 2023.

VROUWE, J. P. M. et al. Challenges and opportunities of pharmacological interventions for osteoarthritis: A review of current clinical trials and developments. *Osteoarthritis and Cartilage Open*, 2021. DOI: 10.1016/J.OCARTO.2021.100212.

WANG, H.; MA, B. Healthcare and Scientific Treatment of Knee Osteoarthritis. *Journal of Healthcare Engineering*, 2022. DOI: 10.1155/2022/5919686.

WANG, L.; ZHAO, X.; LIU, P. The influence of estrogen on cartilage metabolism and osteoarthritis progression: Mechanisms and therapeutic implications. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 25, n. 4, p. 4562, 2024. DOI: 10.3390/ijms25044562.

WANG, S. et al. Osteoarthritis models: From animals to tissue engineering. *Journal of Tissue Engineering*, 2022. DOI: 10.1177/20417314231172584.

XU, H.; ZHANG, Y.; LI, Q. Cytokine-mediated inflammation and matrix degradation in osteoarthritis models: A translational perspective. *Rheumatology International*, v. 44,

n. 2, p. 125-140, 2024. DOI: 10.1007/s00296-024-05678-1.

XU, H.; ZHANG, Y.; LI, Q. Mechanical hyperalgesia in rodent models of osteoarthritis: Insights from von Frey testing. *Pain Reports*, v. 5, n. 2, p. e803, 2020. DOI: 10.1097/PR9.0000000000000803.

YANG, G. et al. Burden of knee osteoarthritis in 204 countries and territories 1990-2019: Results from the Global Burden of Disease Study 2019. *Arthritis Care and Research*, 2023. DOI: 10.1002/acr.25158.

ZHENG, P. et al. Opinion: Research Progress of Surgical Treatment of Osteoarthritis. *Frontiers in Surgery*, 2022. DOI: 10.3389/fsurg.2022.922091.