

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

Mestrado

**AÇÃO PROFILÁTICA DO RANELATO DE ESTRÔNCIO NAS ALTERAÇÕES  
MORFOLÓGICAS DE OSTEOARTRITE EXPERIMENTAL**

HEETOR CAMPORA OLIVEIRA CARVALHO

**São Luís  
2018**



HEETOR CAMPORA OLIVEIRA CARVALHO

**AÇÃO PROFILÁTICA DO RANELATO DE ESTRÔNCIO NAS ALTERAÇÕES  
MORFOLÓGICAS DE OSTEOARTRITE EXPERIMENTAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Maranhão, para obtenção do grau de mestre no Programa de Mestrado em Ciências da Saúde.

Orientador: Prof. Dr. João Batista Santos Garcia  
Co-orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dra. Maria do Socorro de Sousa Cartágenes

**São Luís  
2018**



## **AÇÃO PROFILÁTICA DO RANELATO DE ESTRÔNCIO NAS ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS DE OSTEOARTRITE EXPERIMENTAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Maranhão, como requisito para obtenção do grau de mestre no Programa de Mestrado em Ciências da Saúde.

Aprovada em        /        /

### **BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. João Batista Santos Garcia (Orientador)  
Universidade Federal do Maranhão

---

Examinador 1:  
Universidade Federal do Maranhão

---

Examinador 2:  
Universidade Federal do Maranhão

---

Examinador 3:



## DEDICATÓRIA

### A Deus

Porque tudo é por ele e sem Ele nada do que foi feito se fez

A minha esposa **Magda Michelle Oliveira Teixeira Carvalho** e filhas **Sofia Oliveira Carvalho** e **Júlia Oliveira Carvalho**

Porque tiveram principalmente a compreensão pela minha ausência e me impulsionaram a continuar

Ao meu orientador Prof. Dr. **João Batista Santos Garcia** e co-orientadora Profa. Dra. **Maria do Socorro de Sousa Cartágenes**

Pela persistência que tiveram em todo o desenvolvimento desse trabalho, e principalmente por terem continuado acreditando no meu esforço

Ao meu amigo **Thiago Alves Rodrigues**

Por ter sido um verdadeiro amigo nos momentos que mais precisava, pelo apoio, pela ajuda e por estar junto compartilhando esse trabalho



## **AGRADECIMENTOS ESPECIAIS**

Muitos desafios nos são colocados em nossa trajetória profissional e acadêmica, e todos aqueles que são grandes no conhecimento um dia começaram na simplicidade. Por isso sou grato a todos aqueles que de alguma forma estiveram presentes na conclusão dessa primeira etapa da minha caminhada.

Deus nos guia, nos dá o fôlego da vida, e por isso sou grato a Ele.

Há pessoas em cuja experiência acadêmica e reputação profissional nos espelhamos para seguir os mesmos passos e ter um êxito pelo menos semelhante. Nessa condição tenho um especial agradecimento ao meu orientador Prof. Dr. João Batista Santos Garcia, que em todo esse tempo teve paciência em assimilar minhas limitações, compreender as minhas demandas pessoais e dificuldades, e acima de tudo me aceitar como seu aluno apostando que eu conseguiria “dar bons frutos”. De fato ser orientador resumidamente é isso, ver o resultado bem sucedido de um aluno seu.

Também sabemos que não se constrói o sucesso em uma jornada caminhando sozinho, há uma necessidade de parceria e compartilhamento de trabalho. Por isso e semelhantemente com respeito eu agradeço a minha co-orientadora Profa. Dra. Maria do Socorro de Sousa Cartágenes. Como uma mãe zelosa ela me ensinou, deu força, esperança, e em vários momentos foi o estímulo que eu precisava para continuar o trabalho e chegar ao final com segurança.

Agradeço ao meu amigo, colega de trabalho e grande profissional Thiago Alves Rodrigues por ter cedido conhecimentos, atuado em conjunto em vários momentos, pelo apoio que foi dado e ter ido muito além do necessário. Sem sua pessoa não teria de fato conseguido concluir este trabalho e obter uma graduação tão desejada.

Agradeço também a Prof. Dra. Flávia Raquel Fernandes do Nascimento, pois exerce a coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (PPGCS) com maestria, compreendendo a situação particular de cada aluno e direcionando cuidadosamente para a solução de todos os problemas.



Agradeço outra pessoa de minha mais alta estima, meu amigo de longas datas e companheiro desde os primeiros dias de faculdade, Prof. Dr. Gyl Eanes Barros Silva, por seu grande apoio neste trabalho.

Agradeço Ana Lúcia dos Santos Cordeiro, secretária do PPGCS, pois sempre teve uma especial dedicação e atenção comigo, ajudando, esclarecendo dúvidas e me auxiliando sobremaneira para chegar até aqui.

Agradeço a todos os meus amigos de turma do programa, alunos que caminharam juntos comigo todos esses meses e compartilharam grandes e bons momentos.

Agradeço minha família, pois souberam esperar, aceitaram minha ausência em muitos momentos no lar, concordaram com o meu propósito em conquistar um grau acadêmico e estimularam sempre para que eu perseverasse.

Por fim, concluir um curso de pós-graduação *Stricto Sensu* na universidade que lhe preparou para a vida profissional é um grande privilégio, por isso sou grato a Universidade Federal do Maranhão (UFMA).



*“Se não puder voar, corra. Se não puder correr, ande. Se não puder andar, rasteje, mas continue em frente de qualquer jeito”*

*(Martin Luther King Jr.)*



## RESUMO

**Introdução:** A osteoartrite (OA) é doença multifatorial com vários mecanismos complexos interagindo para provocar o dano articular. Não há cura para a OA, porém há controle na sua progressão. Vários são os fármacos que atuam na diminuição das manifestações da AO, como o ranelato de estrôncio (RnSr), porém sua ação preventiva nas lesões articulares ainda não foi demonstrado.

**Objetivo:** Avaliar o efeito profilático do RnSr em modelo experimental de osteoartrite em joelhos de ratos. **Métodos:** Os animais foram divididos em 3 grupos, chamados de Profilático, Controle e Naïve, com 6 ratos cada. O grupo Profilático recebeu RnSr na dose de 250 mg/kg, por via oral, durante 07 dias até indução da OA; o grupo Controle recebeu solução salina a 0,9% também por via oral e pelo mesmo período, sendo submetido à indução da OA; e o grupo Naïve teve apenas alimentação padrão, não sendo submetido à OA. Após um período de 29 dias da indução da OA os animais foram eutanasiados, sendo realizada a radiografia do joelho, coleta da cartilagem articular do joelho e da membrana sinovial. **Resultados:** Na avaliação das imagens radiográficas as maiores alterações foram observadas no grupo Controle, com significância estatística ( $p < 0,05$ ). A cartilagem articular não apresentou alteração condral no grupo Naïve, porém houve alteração importante no grupo Controle em relação ao Profilático ( $p < 0,05$ ). A membrana sinovial não foi afetada pelo tratamento, pois os resultados foram semelhantes em todos os grupos ( $p > 0,05$ ). **Conclusão:** Os resultados indicam que o RnSr é um fármaco com potencial efeito profilático para OA, diminui as alterações na cartilagem articular e o padrão degenerativo das articulações do joelho.

Palavras-chave: Profilaxia, Ranelato de Estrôncio, Osteoartrite





## ABSTRACT

**Introduction:** Osteoarthritis (OA) is a multifactorial disease as a result of several and complex mechanisms interacting to cause joint damage. There is no cure for OA, but progression can be controlled. Many drugs can act to decrease manifestations of OA, such as strontium ranelate (RnSr), but its preventive effect on joint injuries has not yet been demonstrated. **Aim:** To evaluate the prophylactic effect of RnSr in an experimental model of osteoarthritis in rats' knees. **Methods:** The animals were divided into 3 groups, called Prophylactic, Control and Naïve, with 6 mice each. Prophylactic group received RnSr at the dose of 250 mg/kg orally for 07 days until OA induction; Control group received 0.9% saline solution also orally and for the same period, being submitted to OA induction; and Naïve group had only standard feeding, not submitted to OA induction. Twenty-nine days after OA induction animals were euthanized, knee X-ray was performed, knee joint cartilage and synovial membrane were collected. **Results:** Radiographic images showed the greatest changes in Control group, with statistical significance ( $p < 0.05$ ). Regarding to articular cartilage changes no alteration were found in Naïve group, however, there was a significant change in Control group comparing to Prophylactic group ( $p < 0.05$ ). Synovial membrane was not affected by the treatment, since the results were similar in all groups ( $p > 0.005$ ) In the evaluation of the synovial membrane, no statistical difference was observed between the study groups ( $p > 0.05$ ). **Conclusion:** Results indicate that RnSr is a drug with potential prophylactic effect on OA, decreases changes in the articular cartilage and the degenerative pattern of knee joints.

Key-words: Prophylaxis, Strontium Ranelate, Osteoarthritis



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ATP	Adenosina Trifosfato
B-catenin	Beta-catenina
CCBS	Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
EMA	Agência Européia de Medicamentos
FDA	Administração de Alimentos e Medicamentos
IGF-1	Fator de Crescimento Semelhante à Insulina Tipo 1
IL-6	Interleucina 6
IL-8	Interleucina 8
LEED	Laboratório Experimental para Estudo da Dor
MIA	Monoiodoacetato de Sódio
MMP	Metaloproteinases de Matriz
NGF	Fator de Crescimento Neural
OA	Osteoartrite
OARSI	Sociedade Internacional de Pesquisa em Osteoartrite
OPG	Osteoprotegerina
PGE-2	Prostaglandina E2
PGF-2- $\alpha$	Prostaglandina F2 $\alpha$
PGI-2	Prostaciclina
RANK	Ativador do Receptor do Fator Nuclear Kappa-B
RANKL	Ativador do Receptor Ligante do Fator Nuclear Kappa-B
RNA <sub>m</sub>	Ácido Ribonucléico Mensageiro
RnSr	Ranelato de Estrôncio
Sr	Estrôncio
TFN- $\alpha$	Fator de Necrose Tumoral Alfa
Wnt	Sigla em inglês proveniente de Wingless (sem asas) e Int (nome do gene mutante que causa ausência de asas)



## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b>	12
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA: RANELATO DE ESTRÔNCIO</b>	14
2.1. Ranelato de Estrôncio	14
2.2. Farmacocinética	14
2.3 Farmacodinâmica	15
2.4 Uso Clínico	18
2.4.1 Osteoporose	18
2.4.2 Fraturas Osteoporóticas, Nas Condições Sem Comorbidades e Perdas Ósseas	19
2.4.3 Osteoartrite	20
<b>3. OBJETIVOS</b>	22
3.1 Geral	22
3.2 Específicos	22
<b>4. MÉTODOS</b>	22
4.1. Comissão de Ética	22
4.2. Animais	22
4.3. Protocolo Experimental	23
4.4. Modelo de Osteoartrite Induzida por Monoiodoacetato de Sódio	25
4.5. Avaliação Radiográfica	25
4.6. Análise Histopatológica da Cartilagem Articular	26
4.7. Análise Histopatológica das Sinóvias	27
4.8. Análise Estatística	28
<b>5. RESULTADOS</b>	28
5.1. Avaliação das Alterações Radiográficas	28
5.2 Avaliação das Alterações na Cartilagem Articular	29



5.3. Avaliação das Alterações na Membrana Sinovial	31
<b>6. DISCUSSÃO</b>	<b>32</b>
<b>7. CONCLUSÕES</b>	<b>35</b>
<b>8. REFERÊNCIAS</b>	<b>36</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A osteoartrite (OA) é uma doença multifatorial, onde a genética, o padrão hormonal, os fatores metabólicos e mecânicos, além do envelhecimento interagem por meio de mecanismos moleculares complexos regulando a biologia dos tecidos articulares (HERRERO-BEAUMONT et al., 2017). Ao considerarmos todos os principais fatores de risco conhecidos para a OA podemos listar idade acima de 60 ou 65 anos, obesidade, trauma articular prévio, cirurgia prévia, histórico familiar de artroplastias, fatores genéticos, deficiência de estrógeno, densidade mineral óssea baixa, deficiências nutricionais, mal alinhamento articular, sobrecarga articular, esportes de alta demanda, hipotrofia ou fraqueza muscular (GOUTTEBARGE et al., 2015; JOHNSON et al., 2014; LEE et al., 2015).

A dor é o sintoma mais comum de apresentação clínica sendo exacerbada por atividade física e melhorada com repouso, porém a persistência da dor em repouso afeta consideravelmente qualidade de vida e as atividades de vida diária (HEIDARI; HAJIAN-TILAKI; BABAEI, 2016).

Na patogênese da OA encontramos causas multifatoriais, que afetam a cartilagem hialina e depois toda a estrutura articular envolvendo o osso subcondral, ligamentos, cápsula, membrana sinovial e músculos periarticulares (SULZBACHER, 2013). A matriz cartilaginosa passa a apresentar importantes alterações na estrutura e composição, resultando em fibrilações superficiais e, com a progressão da doença, em fissuras profundas, com posterior delaminação e exposição do osso subcondral (EL-TAWIL; ARENDT; PARKER, 2016; MARTEL-PELLETIER et al., 2016).

Diversas substâncias são conhecidas como responsáveis pela ativação ou sensibilização dos nociceptores na resposta inflamatória após lesão tissular, dentre as quais: bradicinina, substância P, serotonina, histamina, íons hidrogênio e potássio, adenosina trifosfato (ATP), prostaglandinas (PGE-2, PGI-2, PGE-1, PGF-2- $\alpha$ ), leucotrieno B-4, interleucinas (IL-6, IL-8), fator de necrose tumoral alfa (TFN- $\alpha$ ), fator de crescimento neural (NGF), noradrenalina, óxido nítrico e adenosina (INOUE et al., 1999; APPLETON, 1997; ROLF-DETLET, 1995).

Essas substâncias estão relacionadas a dor e a incapacitação articular, associadas à OA.

Outro fenômeno importante nos pacientes com OA é a reabsorção óssea, mediada diretamente por osteoclastos. Ainda, a degradação da matriz óssea é mediada pela secreção de proteases produzidas pelos osteoblastos. Esses dois processos estão intimamente relacionados e regulados, uma vez que os agentes que modificam a reabsorção do tecido ósseo frequentemente alteram a degradação do colágeno ósseo por mudanças na expressão das metaloproteinases de matriz (MMP) e seus inibidores (GUO et al, 2005; FITZGERALD et al, 2006).

Não há cura para a OA, porém é possível mantê-la bem controlada com algumas medidas tais como dieta, exercícios físicos, uso de órteses e medicamentos (REZENDE; CAMPOS; PAILO, 2013). O entendimento da fisiopatologia da OA contribuiu para o aumento considerável nos alvos terapêuticos e algumas medicações têm sido associadas à diminuição da progressão das lesões cartilaginosas, com redução da remodelação óssea subcondral.

O ranelato de estrôncio (RnSr) está entre esses fármacos com provável impacto sobre a progressão da OA (HAN et al., 2017; SMELTER; HOCHBERG, 2013; TAT et al., 2010). Seu mecanismo de ação possivelmente interfere no metabolismo ósseo, corrigindo o desequilíbrio entre reabsorção e formação óssea, pela interferência na atividade tanto de osteoclastos quanto dos osteoblastos (ALMEIDA et al., 2016). Inicialmente, teve sua indicação terapêutica para osteoporose, pois apresenta importante ação na prevenção de fraturas em pacientes com osteoporose avançada (HAN et al., 2017). É um fármaco com provável efeito na estrutura articular e que apresenta potencial benefício na progressão da doença, por isso pode estar entre as drogas modificadoras da OA.

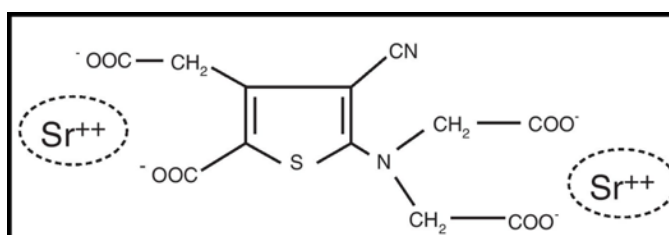
O RnSr é uma medicação ainda com modesto número de estudos, porém com possível impacto sobre o desencadeamento da osteoartrite, o que justifica novas pesquisas nessa área.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA: RANELATO DE ESTRÔNCIO

### 2.1 Ranelato de Estrônncio

O estrônncio (Sr, grupo II da Tabela Periódica de Elementos, com número atômico = 38) é um elemento fundamental semelhante ao cálcio e recebeu esse nome após sua descoberta na cidade de Strontian, na Escócia. As propriedades protetoras do estrônncio no osso foram sugeridas pela primeira vez em 1959 quando foi detectado que o lactato de estrônncio diminuiu a dor e aumentou a densidade dos ossos avaliados radiograficamente, em um pequeno estudo de pacientes com osteoporose (PELLETIER et al., 2013; WORNHAM et al., 2014). Dessa forma a sua utilização para tratamento da osteoporose, por exemplo, ocorre há um longo período de décadas (LEMS; DEN HEIJER, 2013).

A forma farmacêutica RnSr contém dois átomos de estrônncio e uma metade orgânica chamada ácido ranélico, este último uma molécula altamente polarizada e sem atividade farmacológica (Figura 1) (KHAJURIA; RAZDAN; MAHAPATRA, 2011; MAEDA; LAZARETTI-CASTRO, 2014). O átomo tem uma relevante afinidade pelo tecido ósseo e, em certas condições, um metabolismo similar ao do cálcio. Porém, apesar da atração ao tecido ósseo, a integração do átomo ainda é baixa e teoricamente apenas um em cada dez átomos de cálcio podem ser substituídos pelo estrônncio (YU et al., 2013).



**Figura 1:** Representação da molécula de Ranelato de Estrônncio.

Fonte: PALACIOS, et al., 2012)

### 2.2 Farmacocinética

O RnSr é utilizado por via oral e absorvido no trato gastrointestinal, quando a molécula é dissociada de sua parte orgânica e do cátion de estrônncio.

Ao ser incorporado á superfície óssea aumenta sua resistência devido sua integração, dose-dependente, ao tecido ósseo alterando a estrutura do cristal sem, no entanto, afetar a mineralização (BERNABEI et al., 2014; O'DONNELL et al., 2006).

A biodisponibilidade absoluta do estrôncio é aproximadamente de 25% após ingestão de 2 g de RnSr, com concentrações plasmáticas máximas alcançadas em 3 a 5 horas depois da dose, e com o equilíbrio ocorrendo em até 2 semanas de tratamento. O volume de distribuição é cerca de 1 l/Kg e sua ligação às proteínas plasmáticas é considerada baixa (próxima de 25%). O RnSr não inibe as enzimas do citocromo P450 e o cátion estrôncio não é metabolizado, sendo eliminado, independentemente da dose e do tempo de utilização, tanto pela via renal, quanto pelo trato gastrointestinal. Sua meia vida efetiva é de 60 horas (EMA, 2009). Diferentemente dos bisfosfonatos, o RnSr não permanece estocado na matriz óssea durante anos e essa fração pequena (menos de 10%) que se incorpora ao osso, faz do medicamento uma opção para mulheres pré-menopáusicas e menos controversa naquelas com perspectivas de gravidez (FERNÁNDEZ-MURGA et al., 2013; ZARATTINI et al., 2014).

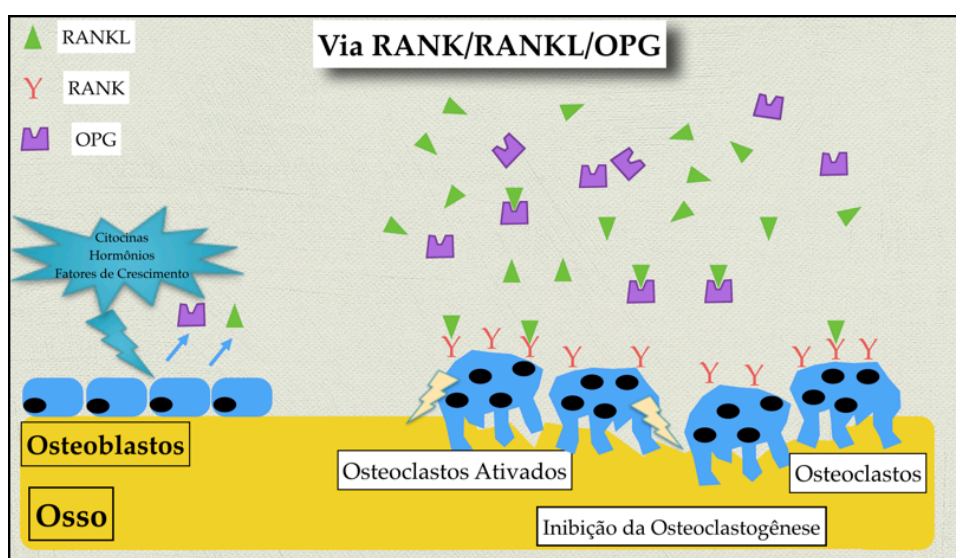
### **2.3 Farmacodinâmica**

O RnSr pode promover tanto a formação óssea quanto a inibição da reabsorção. O exato mecanismo de ação da substância não está totalmente esclarecido, porém a regulação da diferenciação da célula óssea, a estimulação da proliferação dos osteoblastos e a inibição da formação dos osteoclastos, com provável apoptose das células maduras, além da ativação de receptores sensíveis ao cálcio, são sugeridos como possíveis mecanismos (BRENNAN et al., 2009; DAS; CROCKETT, 2013; FONSECA; BRANDI, 2010; LEMS; DEN HEIJER, 2013).

O RnSr ocasiona um aumento importante na formação da matriz cartilaginosa devido ao estímulo do anabolismo do condrócito, sem alterar reabsorção condral, corrigindo assim o desequilíbrio entre formação e reabsorção observado na OA, possivelmente por estimular a produção do fator de crescimento similar à insulina tipo I (IGF-1) (HENROTIN et al., 2001).



Os osteoblastos são importantes células do tecido ósseo com papel fundamental na formação óssea e, indiretamente, na diferenciação dos osteoclastos devido o aumento na expressão do receptor ativador do fator nuclear kappa- $\beta$  ligante (RANKL) e de osteoprotegerina (OPG). RANKL é uma proteína transmembrana altamente expressa em pré-osteoblastos, osteoblastos, células periosteais e osteócito. É capaz de se ligar e ativar a expressão do receptor ativador do fator nuclear kappa- $\beta$  (RANK), este último largamente presente na membrana dos osteoclastos e seus precursores. Após essa ligação o RANKL estimula a formação, atividade e sobrevivência dos osteoclastos resultando na reabsorção óssea. A OPG, por sua vez, tem alta afinidade pelo RANKL e compete com o receptor RANK nos osteoclastos, impedindo a ligação e inibindo, por conseguinte, a osteoclastogênese. O sistema RANK/RANKL/OPG é regulado por várias citocinas (interleucina 1, 4, 6, 11, 17 e TNF- $\alpha$ ), hormônios (glicocorticoides, vitamina D e estrógeno) entre outros fatores que determinam a atividade dos osteoclastos (Figura 2) (NARDONE; ASTA; BRANDI, 2014). Outra via importante no processo de controle da osteogênese é a “Wnt/B-catenin”, que regula o gene da transcrição de proteínas associadas a função dos osteoblastos, e promovem a osteoblastogênese (BRUN et al., 2014; NARDONE; ASTA; BRANDI, 2014).



**Figura 2:** Representação esquemática do sistema RANK/RANKL/OPG no microambiente do osso. Adaptado de NARDONE; DASTA; BRANDI, 2014

Diretamente implicado nesse mecanismo, o RnSr está envolvido no aumento da produção de OPG e na redução da expressão de RANKL nos osteoblastos, dessa forma ocasiona a regulação negativa dos osteoclastos, como foi demonstrado em mulheres pós-menopáusicas submetidas ao tratamento com RnSr por pelo menos 3 meses (BRUN et al., 2014).

Dessa forma, evidenciou-se que o RnSr regula negativamente o RNAm e a concentração de proteínas dos osteoblastos sinalizadores da osteoclastogênese, devido a presença de receptores sensíveis ao cálcio, além de apresentar um efeito positivo na replicação, diferenciação e vida útil dos osteoblastos (BRENNAN et al., 2009).

Os efeitos colaterais mais comuns no uso do RnSr são náuseas e diarreia, que geralmente surgem no começo do tratamento e desaparecem após um período aproximado de 3 meses de uso. Também raramente o fármaco pode ocasionar alterações graves e potencialmente letais, como reações cutâneas, a exemplo da síndrome de Stevens-Johnson e da necrose epidérmica tóxica (BERNABEL et al., 2014). Outros relatos mostram que os riscos do uso de RnSr são similares aos benefícios, com efeitos relevantes como o aumento do risco de tromboembolismo venoso, embolia pulmonar e infarto do miocárdio (BOLLAND; GREY, 2014). Há contra-indicação do fármaco em pacientes com hipertensão não controlada, histórico de doença cardíaca isquêmica, doença arterial periférica e doença cerebrovascular, indicando nessas situações o uso mais adequado de outros fármacos como alendronato, risendronato, zolendronato ou denosumabe (REGINSTER, J.-Y., 2014; VESTERGAARD, 2014).

O cálcio tem papel fundamental na eletrofisiologia do músculo cardíaco e anormalidades eletrocardiográficas, e são conhecidas as consequências das variações plasmáticas deste elemento. Assim igualmente a essa ação o estrôncio tem um potencial efeito pró-arrítmico (TAUBEL et al., 2012). Porém, em estudo feito no Reino Unido não foram encontradas evidências para o risco aumentado de infarto do miocárdio com o uso de RnSr em mulheres com tratamento para osteoporose, quando comparadas às que não utilizaram o medicamento (COOPER; FOX; BORER, 2014). Também em outra publicação com estudo de coorte, o RnSr não foi associado a aumento relevante do risco de síndrome coronariana aguda ou qualquer outra causa de mortalidade (SVANSTRÖM; PASTERNAK; HVIID, 2014).

## 2.4 Uso Clínico

### 2.4.1 Osteoporose

A renovação ou remodelação óssea é um processo fisiológico em que a reabsorção do osso é mediada por osteoclastos, enquanto simultaneamente a formação é induzida por osteoblastos para que haja promoção de minerais para o fluido extracelular, adaptação às forças de tensão e deformação, além de constantemente reparar microfraturas. Os osteoclastos secretam fatores que estimulam os osteoblastos, logo os medicamentos que inibem a reabsorção óssea constantemente promoveram uma igual inibição da formação de osso. Por outro lado, os osteoblastos são necessários para a ativação dos osteoclastos e, portanto, agentes que estimulam apenas a formação de osso também induzirão aumento da reabsorção (CIANFEROTTI; D'ASTA; BRANDI, 2013).

O RnSr se mostrou promissor nessa ação mútua referente a reabsorção e formação do osso. Apresentou bons resultados no aumento da densidade óssea em especial da vértebra e colo do fêmur, diminuindo assim o risco de fraturas nessas regiões (IOLASCON et al., 2014). Em outra análise também foi observado que, após 12 meses de tratamento com RnSr houve um aumento no número de osteoblastos, formação da matriz óssea e diminuição do número de osteoclastos em pacientes com osteoporose (FERNÁNDEZ-MURGA et al., 2013).

Foi demonstrado em estudo realizado com biópsias do osso ilíaco em mulheres após tratamento da osteoporose com RnSr ou alendronato, que a primeira medicação mantém alta a taxa de formação óssea com um menor efeito na remodelação, quando comparado ao alendronato. Dessa forma, o RnSr não apresentaria um efeito anabólico significativo na remodelação do osso (CHAVASSIEUX et al., 2014). Outro estudo semelhante concluiu efeitos interessantes com o uso deste fármaco, dentre eles o fato de o mesmo distribuir-se quase que exclusivamente no osso recém-formado durante o tratamento e manter-se em concentração constante. As áreas de osso contendo RnSr aumentaram nesse período e a mineralização secundária se manteve dentro da faixa normal, independente do tempo de tratamento ou do conteúdo de RnSr no osso (DOUBLIER et al., 2011).

Estudo experimental em ratas ooforectomizadas demonstrou que o RnSr tem efeito benéfico sobre o estresse oxidativo, sendo postulado tal ação no tratamento de mulheres com osteoporose pós-menopáusia (YALIN et al., 2012). Em outro trabalho também com ratas ooforectomizadas, a medicação mostrou-se inferior a um bifosfonato na conservação da geometria trabecular e força estrutural, porém teve alta influência no volume ósseo pela incorporação local do fármaco (WU et al., 2013). Mais estudos mostraram modificações fisicoquímicas na parte mineral óssea em uma escala nanométrica causada pelo uso sistêmico do RnSr (ROSSI et al., 2014). Em ratos saudáveis, porém, não houve alteração na remodelação óssea. (RODRIGUEZ; ESCUDERO; MANDALUNIS, 2012).

Outros relatos, entretanto, afirmam um papel não tão favorável para o RnSr no tratamento da osteoporose, concluindo inclusive que há um moderado efeito na formação óssea e apenas uma ação pequena na inibição da reabsorção (BLAKE; FOGELMAN, 2013).

A escolha do fármaco ideal para o tratamento da osteoporose deveria se basear no perfil individual dos pacientes, na gravidade da doença e nas características dos vários medicamentos disponíveis no mercado (REGINSTER, et al., 2014).

#### **2.4.2 Fraturas Osteoporóticas, Nas Condições Sem Comorbidades e Perdas Ósseas**

Fraturas cominutas, infecção, metástase óssea e cirurgias ortopédicas estão entre as principais causas de perda óssea. A idade do indivíduo, situação hormonal, fatores nutricionais e presença de comorbidades podem influenciar negativamente a consolidação ou preenchimento de defeitos ósseos (ZACCHETTI et al., 2014). As fraturas relacionadas à osteoporose são classicamente reconhecidas como problema de saúde significativa em mulheres, porém recentemente temos observado aumento substancial na casuística em homens (GIUSTI; BIANCHI, 2015).

Na dose de 2g/dia de RnSr, o risco de fraturas vertebrais apresenta uma redução de 33% após 4 anos de tratamento e 41% com 3 anos de tratamento (MEUNIER et al., 2009). Tem seu uso relevante em pacientes mais idosos,

acima de 74 anos, devido ao seu efeito na redução de fraturas do quadril (LEMS; DEN HEIJER, 2013)(TARANTINO et al., 2013).

Em estudo experimental com ratos submetidos a defeito em tíbia proximal, conseguiu-se demonstrar que a partir de 4 semanas de tratamento com uso sistêmico de RnSr ocorre aceleração na consolidação óssea com um significativo efeito na espessura da cortical e melhora nas propriedades do osso recém-formado. Também há melhora na microarquitetura trabecular com 8 a 12 semanas, em comparação ao grupo controle (ZACCHETTI et al., 2014).

### **2.4.3 Osteoartrite**

A osteoartrite é caracterizada pela degeneração da cartilagem e outras estruturas da articulação, incluindo o osso subcondral. É a doença articular mais prevalente, sendo que até 40% das pessoas com mais de 65 anos apresentarão degeneração do joelho ou quadril. Ocorre mais frequentemente em mulheres e o diagnóstico basicamente ocorre com avaliação clínica e radiográfica, sendo que a dor é a razão mais frequente para a consulta médica (REGINSTER; BADURSKI; et al., 2013; REGINSTER; BEAUDART; et al., 2013).

Dentre as situações fisiopatológicas que ocorrem na OA, a modificação tanto na estrutura quanto na função do osso subcondral inicia-se precocemente, implicando indiretamente em prejuízos para a cartilagem adjacente. Outro fator importante é que o condrócito, assim como o osteoblasto e osteoclasto, também tem receptores sensíveis ao cálcio e participa de mecanismos fisicoquímicos semelhantes. Dessa forma, o RnSr figura como um potente candidato para o uso na OA por atuar no osso subcondral principalmente na via RANK/RANKL/OPG e modulação de metaloproteinases, também por estimular a produção do fator de crescimento semelhante a insulina (IGF-1) e potencializar o efeito deste sobre síntese de proteoglicanas nos condrócitos (REGINSTER; BEAUDART; et al., 2013; TAT et al., 2011; YU et al., 2013).

A partir de 1g/dia de RnSr em humanos, podemos observar efeito benéfico no tratamento da osteoartrite de joelho com ação estrutural, e aumentando a dose para 2g/dia há melhora significativa também nos sintomas (REGINSTER; BADURSKI; et al., 2013).

Foi demonstrado que o RnSr reduz a progressão radiológica e dor em pacientes com osteoartrite de joelho. Assim há um significativo decréscimo da taxa de diminuição do espaço articular dos joelhos, bem como uma melhora na escala de dor quando comparado com placebo nos pacientes com osteoartrite de joelho (LEMS; DEN HEIJER, 2013).

Em outro estudo foram acompanhados 3 grupos de mais de 400 pacientes cada por 3 anos em tratamento para OA primária de joelho com uso de RnSr 2g/dia, 1g/dia e placebo. Conclui-se que na dose de 2g/dia houve uma melhora clínica significativa na dor a partir de 6 meses, bem como na função articular global e rigidez (BRUYÈRE et al., 2014). Um estudo em que foram avaliados exames de ressonância magnética de joelhos com osteoartrite primária sintomática para analisar a perda de volume da cartilagem e lesões na medular óssea, apresentou resultado favorável na utilização de 2g/dia de RnSr. Nota-se o fato de que nesse mesmo estudo a perda de volume de cartilagem foi maior na dose de 1g/dia de RnSr em comparação ao placebo (PELLETIER et al., 2015).

Os implantes de titânio utilizados para osteossíntese e apresentando uma camada especial em sua superfície com filme de RnSr, conseguiram induzir proliferação e diferenciação de osteoblastos de forma dose-dependente, o que pode representar uma nova abordagem no tratamento de OA utilizando esse tipo de implante (TIAN et al., 2014).

Em ratos o RnSr atenua a degeneração da cartilagem articular, reduz a apoptose de condrócitos, melhora significativamente a relação mineral óssea-colágeno e as propriedades mecânicas do osso subcondral (YU et al., 2013).

Estudos experimentais envolvendo o RnSr ainda têm número reduzido na literatura e apresentam uma ampla área de pesquisa. A ação preventiva do fármaco no desenvolvimento da OA igualmente apresenta um campo desafiador de pesquisa, pois se fosse comprovado haveria nova indicação do RnSr. Portanto este estudo pretende avaliar, em um modelo experimental controlado, a eficácia do fármaco no controle preventivo da OA.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Geral**

- Avaliar os efeitos profiláticos do ranelato de estrôncio, em modelo experimental de osteoartrite em joelhos de ratos.

#### **3.2 Específicos**

- Verificar o efeito profilático do ranelato de estrôncio sobre as alterações radiográficas da articulação;
- Verificar o efeito profilático do ranelato de estrôncio sobre a lesão da cartilagem articular;
- Avaliar o efeito profilático do ranelato de estrôncio nas alterações da membrana sinovial

### **4. MÉTODOS**

#### **4.1 Comissão de Ética**

Este estudo foi desenvolvido no Laboratório Experimental para Estudo da Dor (LEED), situado no campus do Bacanga da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), fazendo parte do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde (CCBS).

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFMA sob processo número 23115.019724/2013-68.

#### **4.2 Animais**

No estudo foram utilizados ratos Wistar, com aproximadamente 60 dias de idade, machos e fêmeas, obtidos do Biotério Central da UFMA. Para que houvesse a semelhança com a população geral optou-se pela escolha de ambos os sexos. Os animais foram alimentados com ração padrão *ad libitum* e

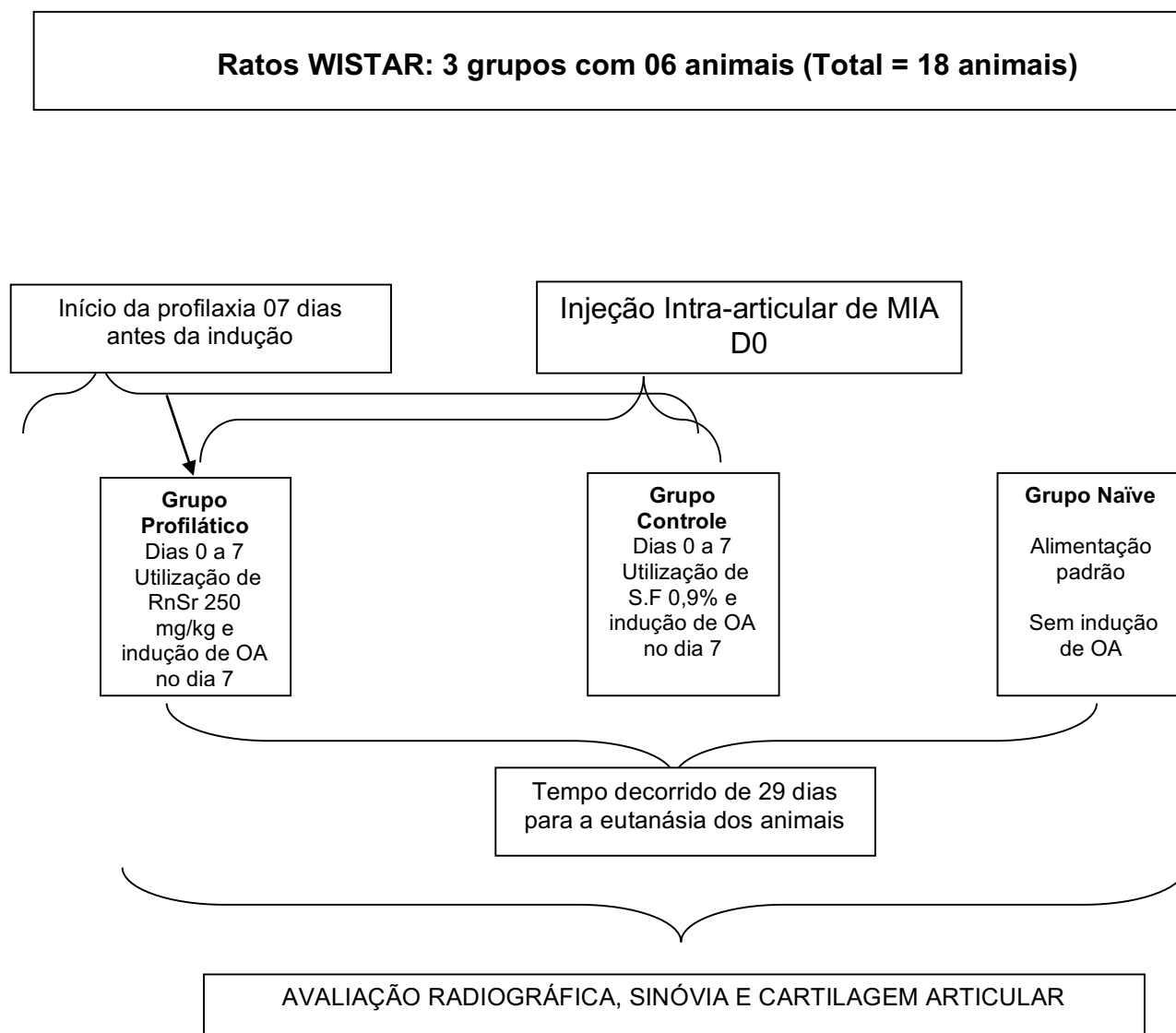
mantidos sob condições controladas de luminosidade e temperatura de aproximadamente 22° C.

### **4.3 Protocolo Experimental**

Os animais foram distribuídos em três diferentes grupos denominados grupo Profilático, grupo Controle e grupo Naïve, cada um contendo 6 ratos. O grupo Profilático recebeu RnSr (250 mg/kg) por via oral, uma vez ao dia, em intervalos regulares de 24 horas por 7 dias, quando foi realizada a indução da OA com monoiodoacetato de sódio (MIA), sendo esse dia considerado como D0. O grupo Controle recebeu solução fisiológica a 0,9% por gavagem por período semelhante ao grupo Profilático. O grupo Naïve não recebeu RnSr ou solução fisiológica, tampouco foi submetido à indução da OA.

No 29° dia os animais foram eutanasiados e preparados para a realização da radiografia do joelho D. Em seguida houve a coleta de fragmento da membrana sinovial e de fragmento da cartilagem articular. (Figura 3).





**Figura 3:** Esquema ilustrativo do Protocolo Experimental.

#### **4.4 Modelo de Osteoartrite Induzida por Monoiodoacetato de Sódio**

Os animais foram anestesiados via intraperitoneal, com Tiopental sódico 40 mg. Após certificação do plano anestésico, foi realizada a tricotomia do joelho direito, posteriormente assepsia local com solução tópica de polividona Iodo 10%. A lesão articular foi induzida por uma única injeção intra-articular de 2 mg de MIA no joelho. Com a perna flexionada, na altura do joelho, em um ângulo de aproximadamente 90°, a solução de MIA foi injetada através do ligamento patelar, no espaço intra-articular entre a tíbia e o fêmur (modificado de FERNIHOUGH et al, 2004; SILVA et al, 2008).

A indução de osteoartrite com 2 mg de MIA é capaz de produzir hiperalgesia e alodinia, sem efeitos sistêmicos relevantes sobre a saúde geral dos animais. O MIA causa lesão articular através da inibição da glicólise na cartilagem hialina, o que resulta na morte de condrócitos. (FERNIHOUGH et al, 2004; SILVA et al, 2008)

#### **4.5 Avaliação Radiográfica**

As radiografias dos joelhos dos animais foram obtidas com aparelho de raios X odontológico em filme periapical, no 29° dia, após a eutanásia de cada animal. As imagens radiográficas dos joelhos foram realizadas com o aparelho de coluna móvel com os seguintes parâmetros: distância foco-filme de 40 cm, tempo de exposição de 0,4 s, diferença de potencial de 70 kV, amperagem de 10 mA. As radiografias foram reveladas pela técnica tempo-temperatura sempre utilizando soluções recém-preparadas de acordo com as normas do fabricante.

A interpretação das imagens foi realizada por um único avaliador, adaptando a classificação de Ahlback modificada por Keyes e Goodfellow (KEYES et al., 1992). Esta classificação se divide em 5 graus crescentes de gravidade baseadas em alterações observadas nas imagens radiográficas do joelho nas incidências anteroposterior e perfil (Figura 4).

GRAU	VISÃO EM AP	VISÃO EM PERFIL
I	Redução do espaço articular	
II	Obliteração do espaço articular	
III	Desgaste do platô tibial < 5 mm	Parte posterior do platô tibial íntegra
IV	Desgaste do platô tibial entre 5 mm e 10 mm	Extenso desgaste da margem posterior do platô tibial
V	Grave subluxação da articulação tíbio-femoral	Subluxação anterior da tíbia > 10 mm

**Figura 4:** Classificação de Ahlback modificada por Keyes e Goodfellow. Traduzido de Keyes et al., 1992.

#### 4.6 Análise Histopatológica da Cartilagem Articular

No momento em que os animais foram eutanasiados também foi realizado a coleta de fragmento de cartilagem do joelho, sendo utilizado a cartilagem da patela por ser a mais espessa. Houve preparo da lâmina com coloração obtida pela reação histoquímica de Safranina-O 0,5% com *Fast-green* 0,1% segundo recomendado pela Sociedade Internacional de Pesquisa em Osteoartrite (OARSI) (PRITZKER et al, 2006). A avaliação das alterações histológicas também seguiram a classificação recomendada pela mesma entidade científica e feitas por um único avaliador (GERWIN et al., 2010). Foram divididas em 5 graus diferentes de gravidade, baseadas na perda de condrócitos e na degeneração da matriz condral (Figura 5).

PARÂMETRO	GRAU	DESCRIÇÃO
Degeneração da Cartilagem	0	Sem degeneração
	1	Degeneração mínima: 5 - 10% do total de área de cartilagem afetada pela perda de condrócitos ou matriz condral
	2	Degeneração leve a moderada: 11 - 25% afetada
	3	Degeneração moderada: 26 - 50% afetada
	4	Degeneração moderada a grave: 51 - 75% afetada
	5	Degeneração grave: maior que 75% afetada

**Figura 5:** Classificação da degeneração articular recomendada pela OARSI. Traduzido de Gerwin et al., 2010.

#### 4.7 Análise Histopatológica das Sinóvias

A sinóvia também foi extraída no momento da eutanásia de cada animal e fixada em formol a 10% por 24 horas, seguindo-se do processamento por métodos de rotina até a inclusão em blocos de parafina. Os compartimentos foram separados longitudinalmente, e encaminhados para preparação histológica e coloração por hematoxilina-eosina. Os cortes teciduais foram colocados em moldes retangulares, formando blocos que subsequentemente foram seccionados por navalhas de aço do micrótomo de 4  $\mu\text{m}$  (CARDOSO, 2007; CASTRO, 2008).

A avaliação histológica foi realizada por um único avaliador, utilizando parâmetros de análise como número de camadas celulares do tecido sinovial, proliferação de tecido subsinovial e infiltração de células inflamatórias. A classificação utilizada foi a proposta pela OARSI e dividida em 4 graus de gravidade, sendo o último incluindo infiltração de grande número de células inflamatórias (Figura 6) (GERWIN et al., 2010).

PARÂMETRO	GRAU	DESCRIÇÃO
Inflamação da Membrana Sinovial	0	Sem alterações (1-2 camadas de células da sinóvia)
	1	Aumento do número de camadas de células ( $\geq 3$ -4 camadas) ou leve proliferação do tecido subsinovial
	2	Aumento do número de camadas de células ( $\geq 3$ -4 camadas) e/ou proliferação do tecido subsinovial
	3	Aumento do número de camadas de células ( $> 4$ camadas) e/ou proliferação do tecido subsinovial e infiltração de poucas células inflamatórias
	4	Aumento do número de camadas de células ( $> 4$ camadas) e/ou proliferação do tecido subsinovial e infiltração de grande quantidade de células inflamatórias

**Figura 6:** Classificação das alterações na membrana sinovial recomendada pela OARSI. Traduzido de Gerwin et al., 2010.

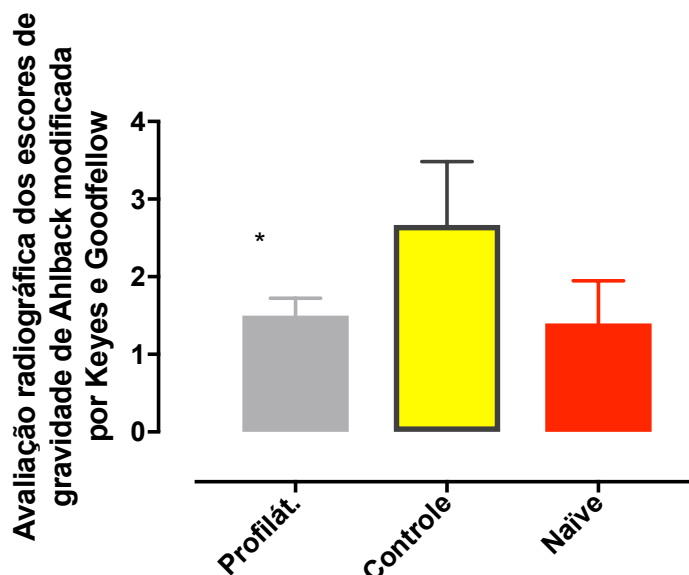
#### 4.8 Análise Estatística

A comparação das médias dos diferentes grupos experimentais foi realizada com a análise de variância univariada (One-way ANOVA), seguida pelo teste de Tukey ou Bonferroni. O valor de  $P < 0,05$  foi considerado como indicativo de significância e os dados obtidos foram analisados com auxílio do software “GraphPad Prism® (GraphPad software, San Diego, CA).

## 5. RESULTADOS

### 5.1 Avaliação das Alterações Radiográficas

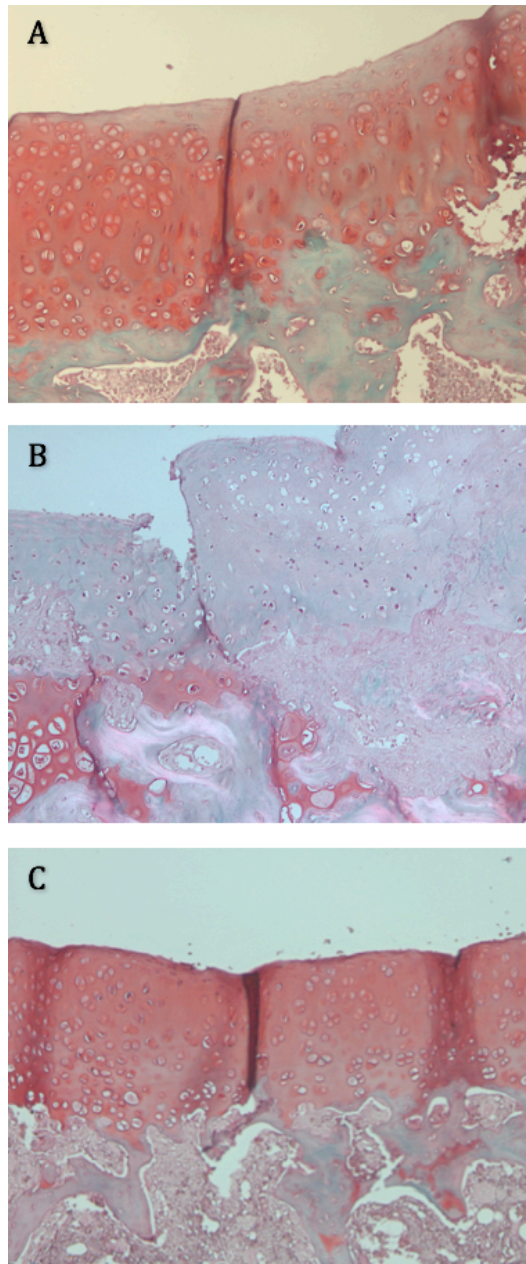
Os animais que receberam RnSr de forma profilática apresentaram menor degeneração articular do que o grupo Controle, e resultados semelhantes ao grupo Naïve nas imagens radiográficas. Os animais do grupo Controle apresentaram degeneração articular de forma mais avançada (Figura 7). Houve diferença entre os grupos Profilático e Controle (valor de  $p$  0,0209), entre Controle e Naïve (valor de  $p$  0,0170), porém não foi encontrado diferença estatística entre Profilático e Naïve (valor de  $p$  0,965)



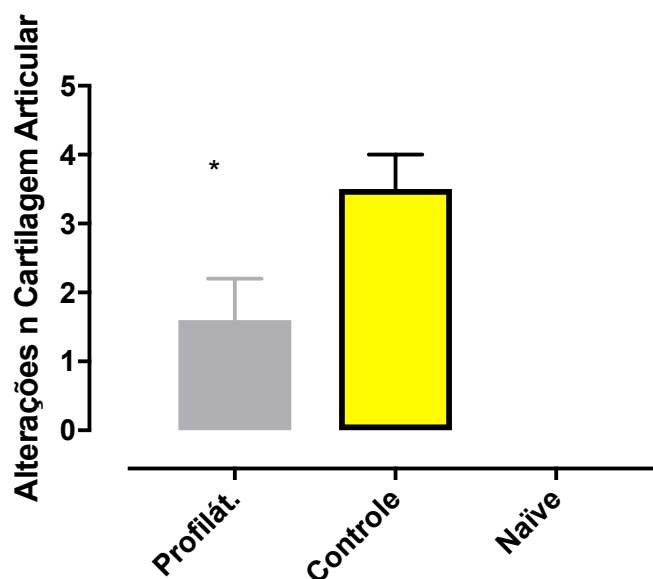
**Figura 7:** Avaliação das Alterações Radiográficas segundo os escores de Ahlback modificado por Keyes e Goodfellow. Resultados expressos em média  $\pm$  DP. Valor de  $p < 0,05$  entre grupos Profilático e Controle, Controle e Naïve; valor de  $p > 0,05$  entre os grupos Profilático e Naïve, usando one-way ANOVA, seguido por teste de Bonferroni.

## 5.2 Avaliação das Alterações na Cartilagem Articular

Em nenhum animal do grupo Naïve foi encontrado alteração condral (Figura 8), entretanto nos outros grupos elas foram observadas, com prevalência relevante nos animais do grupo Controle. A maior diferença foi encontrada ao se confrontar os grupos Controle e Naïve, sendo suas respectivas médias 3,5 e 0, utilizando-se a classificação da OARSI. O valor de  $p$  nesta comparação foi 0,0002 (Figura 9).



**Figura 8:** Fotomicrografia da Cartilagem Articular do Joelho: (A) Animal do grupo Profilático, notar a perda de condrócitos e leve desarranjo condral. (B) Animal não tratado e com OA, desarranjo condral importante com fissuras e envolvimento maior que 75% da cartilagem. (C) Animal não submetido à indução da OA e sem tratamento, lâmina sem anormalidade condral.

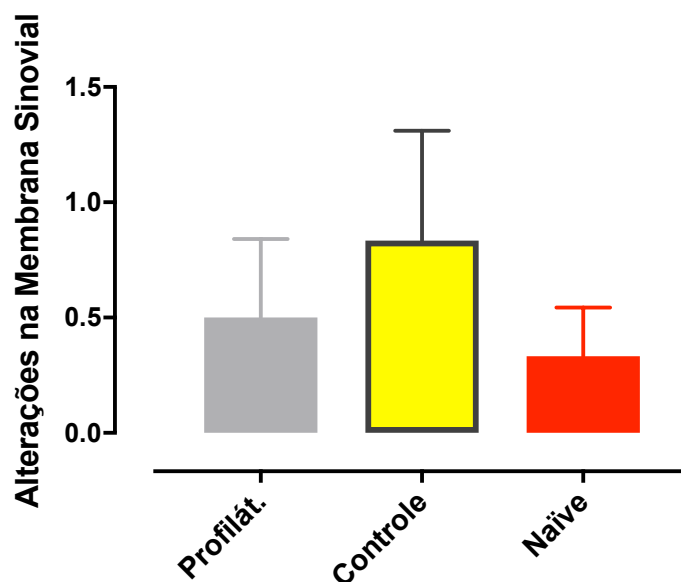


**Figura 9:** Avaliação da cartilagem articular segundo os escores de gravidade da OARSI. Resultados expressos em média  $\pm$  DP. Valor de  $p < 0,05$  entre grupos Profilático, Controle e Naïve; maior diferença entre os grupos Controle e Naïve ( $p = 0,0002$ ), usando one-way ANOVA, seguido por teste de Bonferroni.

### 5.3 Avaliação das Alterações na Membrana Sinovial

Observamos que não houve diferença estatística significativa entre os grupos ( $p > 0,05$ ) (Figura 10).





**Figura 10:** Avaliação das alterações da membrana sinovial segundo escores de gravidade da OARSI. Resultados expressos em média  $\pm$  DP. Valor de  $p > 0,05$  entre todos os grupos, usando one-way ANOVA, seguido por teste de Bonferroni.

## 6. DISCUSSÃO

O objetivo desse estudo foi avaliar o efeito profilático do RnSr na OA. O desenho do experimento foi idealizado com o propósito de auxiliar em situações cujo desfecho seria o desenvolvimento da OA no joelho, como trauma de joelho, sobrecarga articular, alinhamento inadequado do membro, qualidade de massa óssea, obesidade, etc (ALLEN; GOLIGHTLY, 2015). Assim, o fármaco teria uma indicação preventiva antes de alterações articulares degenerativas importantes surgirem.

A avaliação da cartilagem articular mostrou a eficácia do RnSr na profilaxia da OA, pois os animais do grupo Profilático apresentaram menores alterações da cartilagem articular de forma estatisticamente significativa em relação aos do grupo Controle. Com uma lesão de joelho provocada e tratamento negligenciado, seria um resultado esperado para este grupo a manifestação de maiores alterações do tecido cartilaginoso. Não houve

nenhuma alteração histológica observada no tecido condral dos animais do grupo Naïve, um resultado também esperado por não haver indução da OA e tampouco a administração de medicamentos.

A escassez na literatura de estudos experimentais com uso profilático do RnSr dificulta uma avaliação comparativa com os resultados encontrados neste experimento. Foi demonstrado que o RnSr é capaz de reduzir o dano à cartilagem articular em modelo experimental de OA em ratos, porém as doses utilizadas foram superiores (625 mg/kg e 1.800 mg/kg), e após a indução do dano articular, portanto com uso terapêutico e não profilático (YU et al., 2013). Outro estudo experimental encontrou efeito protetor importante do RnSr para as lesões condrais em modelo de osteoartrite em cães, porém com uso terapêutico do fármaco em doses de 25, 50 e 75 mg/kg, avaliando lesões tanto no côndilo femoral quanto no platô tibial (PELLETIER et al., 2013). Divergindo desses resultados um estudo experimental recente com outros roedores concluiu não haver proteção do RnSr para degeneração da cartilagem articular na OA, utilizando dose terapêutica 625 mg/kg (CHU et al., 2017).

Os dados obtidos na avaliação das radiografias também trouxeram informações importantes. Uma vez que não houve diferença entre os grupos Profilático e Naïve, é possível inferir que há mediação protetora do fármaco nas alterações degenerativas articulares. Porém também é conhecido que há muitas variáveis envolvidas para que a degeneração articular seja observada no exame de imagem, como uma radiografia simples, dessa forma outros estudos são necessários para validar se o RnSr de fato teria esse efeito (BRAUN; GOLD, 2012; ROEMER et al., 2014; MARTINS et al., 2017). Com os animais do grupo Controle manifestando as maiores alterações radiográficas entendemos que houve nesta avaliação um resultado positivo, que talvez possa ser extrapolado ao esperado em seres humanos.

Estudos clínicos também demonstraram um efeito protetor do RnSr na progressão das alterações radiográficas em indivíduos com OA, com provável ação direta do medicamento no tecido ósseo e cartilaginoso. Contudo como relatado anteriormente, nestes estudos o RnSr é utilizado de forma terapêutica e não profilática (BRUYERE et al., 2008; BRUYERE et al., 2013).

Apenas na avaliação das alterações histológicas da membrana sinovial não foi encontrado em nosso experimento um resultado favorável à ação profilática para o RnSr na OA. Nos três grupos os resultados foram semelhantes quanto alterações inflamatórias da sinóvia.

O resultado esperado para a análise da sinóvia seria a presença de pouca ou nenhuma alteração nos animais do grupo Naïve, enquanto os do grupo Profilático manifestariam alguma alteração e, naqueles do grupo Controle, encontraríamos as mais expressivas anormalidades. Entretanto, é possível não haver alteração da sinóvia em joelhos com OA leve a moderada. Apesar da OA ser inicialmente considerada uma doença degenerativa, é relatado na literatura que a sinovite está presente, havendo secreção de citocinas e infiltração tecidual por células do sistema imunológico (LANGE-BROKAAR et al., 2012; XU et al., 2016). Em outros relatos observamos que a sinovite pode estar presente na OA avançada, enquanto que nos casos leves e moderados sua presença é incerta (ENE et al., 2015). Dessa forma os dados encontrados em nosso estudo estariam em concordância com a literatura.

A cartilagem hialina é o tecido articular mais relevante na patogênese da OA (XIA et al., 2014). Portanto um fármaco com potencial de proporcionar proteção a esse tecido tem especial relevância. Dessa forma, embora o RnSr não tenha se mostrado eficaz na ação profilática das alterações deletérias da OA na membrana sinovial, seu efeito protetor na cartilagem é suficiente para justificar um possível uso com esta finalidade. Corroborando com isto temos as alterações radiográficas encontradas de forma mais evidente nos animais do grupo Controle.

Como limitações encontradas em nosso estudo podemos citar a dificuldade em reproduzir a OA com as alterações e evolução semelhantes ao observado em seres humanos, pois os modelos experimentais ainda falham nessa correlação (PELLETIER et al., 2010). O tempo de utilização do fármaco antes da indução da OA pode ser considerado curto e interferir de alguma forma no resultado, porém não há correlação na literatura de modelo experimental semelhante ao utilizado.

Outro fator limitante é a dose utilizada do RnSr, pois como não há parâmetros na literatura para o uso profilático deste fármaco, inferimos que a administração de outras doses pode ocasionar outros resultados. Por fim, reproduzir uma situação que mimetize a utilização profilática de qualquer fármaco para a OA representa um desafio.

## **7. CONCLUSÕES**

Este estudo demonstrou que o RnSr é um fármaco com promissor efeito profilático para o controle de alterações degenerativas presentes na OA, com melhora do padrão radiográfico e das lesões na cartilagem articular, porém sem efeito protetor na membrana sinovial.

## 8. REFERÊNCIAS

ALLEN, K. D.; GOLIGHTLY, Y. M. Epidemiology of osteoarthritis: state of evidence. *Current Opinion in Rheumatology*, v. 27, n. 3, p. 276-283, 2015.

ALMEIDA, M. M. *et al.* Strontium ranelate increases osteoblast activity. *Tissue and Cell*, v. 48, n. 3, 2016.

APPLETON I. Non-steroidal anti-inflammatory drugs and pain. In: Dickenson A, Bensson JM. *The pharmacology of pain*. Heidelberg: Library of Congress, p. 42-54, 1997.

BERNABEI, R. *et al.* Screening, diagnosis and treatment of osteoporosis: a brief review. *Clinical Cases in Mineral and Bone Metabolism*, v. 11, n. 3, p. 201–7, 2014.

BLAKE, G. M.; FOGELMAN, I. Bone: Strontium ranelate does not have an anabolic effect on bone. *Nature Reviews Endocrinology*, v. 9, n. December, p. 696–697, 2013.

BOLLAND, M. J.; GREY, A. A comparison of adverse event and fracture efficacy data for strontium ranelate in regulatory documents and the publication record. *British Medical Journal Open*, v. 4, n. 10, p. 1–9, 2014.

BRAUN, H. J.; GOLD, G. E. Diagnosis of Osteoarthritis: Imaging. *Bone*, v. 51, n. 2, p 278-288, 2012.

BRENNAN, T. C. *et al.* Osteoblasts play key roles in the mechanisms of action of strontium ranelate. *British Journal of Pharmacology*, v. 157, n. 7, p. 1291–1300, 2009.

BRUN, L. R. *et al.* Strontium ranelate effect on bone mineral density is modified by previous bisphosphonate treatment. *Springerplus*, p. 2–9, 2014.

- BRUYÈRE, O. *et al.* Effects of strontium ranelate on spinal osteoarthritis progression. *Annals of the Rheumatic Diseases*, v. 67, p. 335–339, 2008.
- BRUYÈRE, O. *et al.* Strontium Ranelate Significantly Decreases Radiological Progression Using a New Definition For Radiological Progression In Patients With Primary Knee Osteoarthritis Treated With Strontium Ranelate. *Arthritis and Rheumatism*, 2013.
- BRUYÈRE, O. *et al.* Clinically meaningful effect of strontium ranelate on symptoms in knee osteoarthritis: A responder analysis. *Rheumatology (United Kingdom)*, v. 53, n. 8, p. 1457–1464, 2014.
- CARDOSO, Maria Leila. Efeito de frações obtidas da Fucoïdãna de *Fucus vesiculosus* em modelo experimental de artrite induzida por zymosan.. 85f. Dissertação (Mestrado)- Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2007.
- CASTRO, Rondinelle Ribeiro. Efeitos da galactomãna de *Cyamopsis tetragonolobus* na osteoartrite induzida por transecção do ligamento cruzado anterior em ratos. 115f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2008.
- CHAVASSIEUX, P. *et al.* Bone histomorphometry of transiliac paired bone biopsies after 6 or 12 months of treatment with oral strontium ranelate in 387 osteoporotic women: Randomized comparison to alendronate. *Journal of Bone and Mineral Research*, v. 29, n. 3, p. 618–628, 2014.
- CHU, J-G. *et al.* Strontium ranelate causes osteophytes overgrowth in a model of early phase osteoarthritis. *BMC Musculoskeletal Disorders*, 18: 78, 2017
- CIANFEROTTI, L.; D'ASTA, F.; BRANDI, M. L. A review on strontium ranelate long-term antifracture efficacy in the treatment of postmenopausal osteoporosis. *Therapeutic Advances in Musculoskeletal Disease*, v. 5, n. 3, p. 127–139, 2013.

COOPER, C.; FOX, K. M.; BORER, J. S. Ischaemic cardiac events and use of strontium ranelate in postmenopausal osteoporosis: A nested case-control study in the CPRD. *Osteoporosis International*, v. 25, n. 2, p. 737–745, 2014.

DAS, S.; CROCKETT, J. C. Osteoporosis - a current view of pharmacological prevention and treatment. *Drug design, development and therapy*, v. 7, p. 435–448, 2013.

DOUBLIER, A. *et al.* Distribution of strontium and mineralization in iliac bone biopsies from osteoporotic women treated long-term with strontium ranelate. *European Journal of Endocrinology*, v. 165, n. 3, p. 469–476, 2011.

EL-TAWIL, S.; ARENDT, E.; PARKER, D. Position statement: the epidemiology, pathogenesis and risk factors of osteoarthritis of the knee. *Journal of ISAKOS: Joint Disorders & Orthopaedic Sports Medicine*, v. 1, n. 4, p. 219–228, 2016.

ENE, R. *et al.* Synovial inflammation in patients with different stages of knee osteoarthritis. *Romanian Journal of Morphology and Embriology*, v. 56. p 169-173, 2015.

EUROPEAN MEDICINES AGENCY. Science Medicine Health. Annex I: Summary of Products Characteristics 2009. Disponível em: [http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/medicine\\_s/000560/human\\_med\\_000999.jsp&mid=WC0b01ac058001d124](http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/medicine_s/000560/human_med_000999.jsp&mid=WC0b01ac058001d124). Acesso em: fev. 2017

FERNÁNDEZ-MURGA, M. *et al.* Respuesta de preosteoblastos a compuestos de estroncio o calcio: proliferación, diferenciación, mineralización y respuesta génica global. *Revista de Osteoporosis y Metabolismo Mineral*, v. 5, n. 4, p. 133–159, 2013.

FERNIHOUGH, J. *et al.* Pain related behavior in two models of osteoarthritis in rat knee. *Pain*, 112, p.83-93, 2004.

FITZGERALD JB; JIN M; GRODZINSKY AJ. Shear and compression differentially regulate clusters of functionally related temporal transcription patterns in cartilage tissue. *Journal of Biological Chemistry*, v. 281, n. 34, p. 24095-103, 2006.

FONSECA, J. E.; BRANDI, M. L. Mechanism of action of strontium ranelate: What are the facts? *Clinical Cases in Mineral and Bone Metabolism*, v. 7, n. 1, p. 17–18, 2010.

GERWIN, N. et al. The OARSI histopathology initiative - recommendations for histological assessments of osteoarthritis in the rat. *Osteoarthritis and Cartilage*, v. 18, p. 24-34, 2010.

GIUSTI, A.; BIANCHI, G. Treatment of primary osteoporosis in men. *Clinical interventions in Aging*, v. 10, p. 105–15, 2015.

GOUTTEBARGE, V. et al. Prevalence of osteoarthritis in former elite athletes: a systematic overview of the recent literature. *Rheumatology International*, v. 35, n. 3, p. 405–418, 2015.

GUO, L. G. et al. Relationships between circulating matrix metalloproteinases –1 and –2 and metalloproteinase –1 levels and bone biochemical markers and bone mineral density in chinese postmenopausal women. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*, v. 85, p. 734-737, 2005.

HAN, W. et al. Strontium ranelate, a promising disease modifying osteoarthritis drug. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, v. 26, n. 3, p. 375–380, 2017.

HEIDARI, B.; HAJIAN-TILAKI, K.; BABAEI, M. Determinants of pain in patients with symptomatic knee osteoarthritis. *Caspian Journal of Internal Medicine*, v. 7, n. 3, p. 153–161, 2016.

HENROTIN, Y. et al. Strontium Ranelate Increases Cartilage Matrix Formation. *Journal of Bone and Mineral Research*, v. 16, n. 2, p. 299–308, 2001.



HERRERO-BEAUMONT, G. *et al.* Clinical settings in knee osteoarthritis: Pathophysiology guides treatment. *Maturitas*, v. 96, p. 54–57, 2017.

IOLASCON, G. *et al.* Bone quality and bone strength: Benefits of the bone-forming approach. *Clinical Cases in Mineral and Bone Metabolism*, v. 11, n. 1, p. 20–24, 2014.

INOUE, A. *et al.* Interleukin-1beta induces substance P release from primary afferent neurons through the cyclooxygenase-2 system. *Journal of Neurochemistry*, v. 73, n. 5, p. 2206-2213, 1999.

JOHNSON, V. L. *et al.* The epidemiology of osteoarthritis. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*, v. 28, p. 5–15, 2014.

KEYES, G. W. *et al.* The radiographic classification of medial gonarthrosis. Correlation with operation methods in 200 knees. *Acta Orthopaedica Scandinavica*, v. 63(5): p. 497–501, 1992.

KHAJURIA, D. K.; RAZDAN, R.; MAHAPATRA, D. R. Medicamentos para o tratamento da osteoporose: revisão. *Revista Brasileira de Reumatologia*, v. 51, n. 4, p. 372–382, 2011.

LANGE-BROKAAR, B. J. E. *et al.* Synovial inflammation, immune cells and their cytokines in osteoarthritis: a review. *Osteoarthritis and Cartilage*, v. 20, p. 1484-1499, 2012.

LEE, J. *et al.* Sedentary behavior and physical function: objective evidence from the osteoarthritis initiative. *Arthritis Care and Research*, v. 67, n. 3, p. 366–373, 2015.

LEMS, W. F.; DEN HEIJER, M. Established and forthcoming drugs for the treatment of osteoporosis. *Netherlands Journal of Medicine*, v. 71, n. 4, p. 188–

193, 2013.

MAEDA, S. S.; LAZARETTI-CASTRO, M. An overview on the treatment of postmenopausal osteoporosis. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*, v. 58, n. 2, p. 162–171, 2014

MARTEL-PELLETIER, J. *et al.* Osteoarthritis. *Nature Reviews Disease Primers*, v. 2, p. 16072, 2016.

MARTINS, G. C. *et al.* Correlação entre a classificação radiográfica de Ahlbäck e o estado de conservação do ligamento cruzado anterior em gonartrose primária. *Revista Brasileira de Ortopedia.*, 52 (1); p. 69-74, 2017.

MEUNIER, P. J. *et al.* Effects of long-term strontium ranelate treatment on vertebral fracture risk in postmenopausal women with osteoporosis. *Osteoporosis International*, v. 20, n. 10, p. 1663–1673, 2009.

NARDONE, V.; ASTA, F.; BRANDI, M. L. Pharmacological management of osteogenesis. *Clinics*, v. 69, n. 6, p. 438–446, 2014.

O'DONNELL, S. *et al.* Strontium ranelate for preventing and treating postmenopausal osteoporosis. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, n. 4, 2006.

PALACIOS, S. *et al.* Recomendaciones sobre ranelato de estroncio en el tratamiento de la osteoporosis. *Progresos de Obstetricia y Ginecologia*, v. 55, n. 1, p. 38–49, 2012.

PELLETIER, J-P. *et al.* Experimental models of osteoarthritis: usefulness in the development of disease-modifying osteoarthritis drugs/agents. *Therapy*, v. 7, p. 671-634, 2010.

PELLETIER, J.-P. *et al.* Strontium ranelate reduces the progression of experimental dog osteoarthritis by inhibiting the expression of key proteases in

cartilage and of IL-1 $\beta$  in the synovium. *Annals of the Rheumatic Diseases*, v. 72, n. 2, p. 250–257, 2013.

PELLETIER, J.-P. *et al.* Disease-modifying effect of strontium ranelate in a subset of patients from the Phase III knee osteoarthritis study SEKOIA using quantitative MRI: reduction in bone marrow lesions protects against cartilage loss. *Annals of the Rheumatic Diseases*, v. 74, n. 2, p. 422–429, 2015.

PRITZKER, K. P. H. *et al.* Osteoarthritis cartilage histopathology: Grading and staging. *Osteoarthritis and Cartilage*, v. 14, n. 1, p. 13–29, 2006.

REGINSTER, J.-Y. Cardiac concerns associated with strontium ranelate. *Expert opinion on drug safety*, v. 13, n. 9, p. 1209–13, 2014.

REGINSTER, J.-Y.; BADURSKI, J.; *et al.* Efficacy and safety of strontium ranelate in the treatment of knee osteoarthritis: results of a double-blind, randomised placebo-controlled trial. *Annals of the Rheumatic Diseases*, v. 72, n. 2, p. 179–186, 2013.

REGINSTER, J.-Y.; BEAUDART, C.; *et al.* Strontium ranelate in the treatment of knee osteoarthritis: new insights and emerging clinical evidence. *Therapeutic Advances in Musculoskeletal Disease*, v. 5, n. 5, p. 268–76, 2013.

REGINSTER, J. Y.; NEUPREZ, A.; BEAUDART, C. H.; *et al.* Bone forming agents for the management of osteoporosis. *Panminerva Medica*, v. 56, n. 2, p. 97–114, 2014.

REGINSTER, J. Y.; NEUPREZ, A.; DARDENNE, M.; *et al.* Efficacy and safety of currently marketed anti- osteoporosis medications. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, v. 28, n. 6, p. 809–834, 2014.

REZENDE, M. U.; CAMPOS, G. C.; PAILO, A. F. Conceitos atuais em osteoartrite. *Acta Ortopédica Brasileira*, v. 21, n. 2, p. 120–122, 2013.

RODRIGUEZ, J.; ESCUDERO, N. D.; MANDALUNIS, P. M. Effect of strontium ranelate on bone remodeling. *Acta Odontologica Latinoamericana*, v. 25, p. 208–213, 2012.

ROEMER, F. W. *et al.* The role of imaging in osteoarthritis. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*, v. 28, p. 31-60, 2014

ROLF-DETLET T. Peripheral acute pain mechanisms. *Ann Med.* v. 27, p. 213-216, 1995.

ROSSI, A. L. *et al.* Effect of strontium ranelate on bone mineral: Analysis of nanoscale compositional changes. *Micron*, v. 56, p. 29–36, 2014.

SILVA, A.; ANDERSEN, M. L.; TUFIK, S. Sleep pattern in an experimental model of osteoarthritis. *Pain*, 140. p. 446-455, 2008.

SMELTER, E.; HOCHBERG, M. C. New treatments for osteoarthritis. *Current Opinion in Rheumatology*, v. 25, n. 3, p. 310–316, 2013.

SULZBACHER, I. Osteoarthritis: Histology and pathogenesis. *Wiener Medizinische Wochenschrift*, v. 163, n. 9–10, p. 212–219, 2013.

SVANSTRÖM, H.; PASTERNAK, B.; HVIID, A. Use of strontium ranelate and risk of acute coronary syndrome: cohort study. *Annals of the Rheumatic Diseases*, v. 73, n. 6, p. 1037–1043, 2014.

TARANTINO, U. *et al.* Fracture healing in elderly patients: New challenges for antiosteoporotic drugs. *Aging Clinical and Experimental Research*, v. 25, n. 1 SUPPL., 2013.

TAT, S. K. *et al.* Strontium ranelate inhibits key factors affecting bone remodeling in human osteoarthritic subchondral bone osteoblasts. *Bone*, v. 49, n. 3, p. 559–567, 2011.

TAT, S. K. *et al.* Targeting subchondral bone for treating osteoarthritis: what is the evidence? *Best Practice and Research: Clinical Rheumatology*, v. 24, n. 1, p. 51–70, 2010.

TAUBEL, J. *et al.* Repeated suprathreshold dosing of strontium ranelate over 15 days does not prolong QT(c) interval in healthy volunteers. *British journal of Clinical Pharmacology*, v. 74, n. 2, p. 296–303, 2012.

TIAN, A. *et al.* Osteoblast response to titanium surfaces coated with strontium ranelate-loaded chitosan film. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, v. 29, n. 6, p. 1446–53, 2014.

VESTERGAARD, P. New strategies for osteoporosis patients previously managed with strontium ranelate. *Therapeutic Advances in Musculoskeletal Disease*, v. 6, n. 6, p. 217–225, 2014.

XIA, B. *et al.* Osteoarthritis pathogenesis: a review of molecular mechanisms. *Calcified Tissue International*, v. 95, p. 495-505, 2014.

XU, L. *et al.* Interleukin-29 enhances synovial inflammation and cartilage degradation in osteoarthritis. *Mediators of Inflammation*, 2016; 2016.

WORNHAM, D. P. *et al.* Strontium potently inhibits mineralisation in bone-forming primary rat osteoblast cultures and reduces numbers of osteoclasts in mouse marrow cultures. *Osteoporosis International*, v. 25, n. 10, p. 2477–2484, 2014.

WU, Y. *et al.* Compositional and Material Properties of Rat Bone after Bisphosphonate and or Strontium Ranelate Drug Treatment. v. 16, n. 1, p. 52–64, 2013.

YALIN, S. *et al.* Strontium ranelate treatment improves oxidative damage in osteoporotic rat model. *Pharmacological Reports*, v. 64, n. 2, p. 396–402, 2012.

YU, D. *et al.* Strontium ranelate reduces cartilage degeneration and subchondral

bone remodeling in rat osteoarthritis model. *Acta Pharmacologica Sinica*, v. 34, n. 3, p. 393–402, 2013.

ZACCHETTI, G. *et al.* Systemic treatment with strontium ranelate accelerates the filling of a bone defect and improves the material level properties of the healing bone. *BioMed Research International*, v. 2014, p. 1–12, 2014.

ZARATTINI, G. *et al.* Pregnancy-associated osteoporosis with seven vertebral compression fractures, a case treated with strontium ranelate. *Clinical Cases in Mineral and Bone Metabolism*, v. 11, n. 2, p. 139–141, 2014.