

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

**ARMANDO REINALDO MARQUES SILVA**

**AVALIAÇÃO DA OSTEOARTRITE: Análise Radiológica e Comportamental  
em Modelo Experimental**

São Luís/ MA  
2025

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

Silva, Armando.

AValiação DA OSTEOARTRITE: Análise Radiológica e Comportamental em Modelo Experimental / Armando Silva. - 2025.

50 f.

Corientador(a) 1: Maria do Socorro Cartagenes.

Orientador(a): Rafael Carvalho.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde/ccbs, Universidade Federal do Maranhão, Vargem Grande, 2025.

1. Osteoartrite Experimental. 2. Exame Radiológico. 3. Motricidade. I. Cartagenes, Maria do Socorro. II. Carvalho, Rafael. III. Título.

**ARMANDO REINALDO MARQUES SILVA**

**AVALIAÇÃO DA OSTEOARTRITE: Análise Radiológica e Comportamental em  
Modelo Experimental**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde (PPGCS) da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Rafael Cardoso Carvalho

Co-orientadora: Profa. Dra. Maria do Socorro de Sousa  
Cartágenes

São Luís/ MA  
2025

**ARMANDO REINALDO MARQUES SILVA**

**AVALIAÇÃO DA OSTEOARTRITE: Análise Radiológica e Comportamental em  
Modelo Experimental**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde (PPGCS) da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Aprovada em: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Rafael Cardoso Carvalho – Orientador  
Universidade Federal do Maranhão

---

Profa. Dra. Maria do Socorro de Sousa Cartagenes - Co-orientadora  
Universidade Federal do Maranhão

---

Profa. Dra. Rachel Melo Ribeiro – 1ª Examinadora  
Universidade Federal do Maranhão

---

Profa. Dra. Renata Mondego de Oliveira – 2ª Examinadora  
Faculdade UNINASSAU

---

Profa. Dra. Joicy Cortez de Sá Sousa - 2ª Examinadora  
Universidade Federal do Maranhão

“Nenhum de nós, agindo sozinho, pode atingir o sucesso. Somos levados pelo impacto daqueles que vieram antes de nós e impulsionados pela colaboração daqueles ao nosso lado.”

Nelson Mandela

Dedico este trabalho ao Deus da minha mãe, e meu Senhor, Yahweh, quem me sustentou até aqui;

A meus amores, Sandra e Armando Filho, que me fizeram descobrir uma parte nova e maravilhosa da vida, que eu nem sequer, sabia que amaria viver;

A meus pais, Roseanne e João, que não medem esforços para nos permitir acesso à educação;

A minha irmã, Amanda e aos presentes que ela me deu, meus sobrinhos, José Armando e Anne Beatriz;

E pôr fim aos que ouviram que a universidade não era seu lugar, que carregaram o peso da exclusão, mas nunca abaixaram a cabeça. Que ocuparam cada sala, cada biblioteca, cada espaço que sempre lhes foi negado.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, à Deus que me permitiu chegar até aqui, que me concedeu força e determinação para trilhar esse caminho e concluir essa etapa.

Concluir esse trabalho é um marco que reflete não apenas o meu esforço, mas também o apoio de pessoas essenciais na minha vida.

A meu orientador, professor Dr. Rafael Carvalho, expressei minha mais profunda gratidão. Sua paciência e dedicação foram fundamentais para minha caminhada acadêmica. Mais do que um orientador, foi um verdadeiro mentor, guiando-me com carinho e firmeza neste percurso. Seu acolhimento e apoio fizeram toda a diferença, oferecendo não apenas conhecimento, mas também proteção e incentivo. Sua confiança em mim foi um dos pilares que sustentaram essa trajetória, e por isso, serei eternamente grato.

Aos amores da minha vida, Sandra e Armando Filho. Vocês são o motivo da determinação que me mantém de pé. Minha maior parceira, sou grato a Deus por você e por cada palavra de incentivo, por sua paciência e compreensão ao longo desta jornada. Este trabalho também é seu, pois sem você ao meu lado, nada disso faria sentido.

Aos meus pais, Roseanne e João. Quem sou hoje, é reflexo dos princípios, do amor que recebi de vocês. Obrigado por cada sacrifício, incentivo e por nunca deixarem que eu desistisse dos meus sonhos. Essa conquista é resultado da base forte e segura que vocês me permitiram.

Eduardo e Renzo, vocês foram essenciais para esse trabalho. Chegar num lugar onde não conhecia quase ninguém foi um grande desafio, mas vocês me acolheram, e tornaram essa jornada muito mais leve. Levo comigo não só o aprendizado profissional, mas também o carinho e a parceria que construímos ao longo do caminho.

Renata e Daniel, meu profundo agradecimento. O trabalho dentro do laboratório nem sempre é fácil, mas a parceria tornou cada desafio mais leve e cada conquista mais significativa. Obrigado por dividirem conhecimento e por estarem sempre dispostos a ajudar.

À UFMA por ser mais do que uma instituição de ensino, mas um espaço de crescimento, transformação e oportunidades. Neste ambiente, encontrei conhecimento, apoio, desafios e as ferramentas necessárias para crescer.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde nas pessoas da prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maria do Socorro de Sousa Cartágenes e prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Rachel Melo Ribeiro, expressei minha gratidão pelo acolhimento e pela formação sólida proporcionada. A estrutura acadêmica, o incentivo à pesquisa e o comprometimento dos docentes foram fundamentais para minha trajetória, contribuindo de maneira significativa para minha formação profissional e pessoal.

## RESUMO

A osteoartrite (OA) é uma doença osteoarticular degenerativa crônica que causa dor, rigidez e limitação da função articular, sendo uma das principais causas de incapacidade em idosos. O objetivo do estudo foi caracterizar radiologicamente a OA experimental em ratos e relacionar esses achados com análises comportamentais. O interesse por este estudo surgiu da necessidade de aprofundar os conhecimentos sobre o modelo experimental, especialmente na comparação entre animais machos e fêmeas. Este modelo é amplamente utilizado em pesquisas pré-clínicas devido ao seu baixo custo, resposta confiável à dor, predisposição à doença e rápida indução. Além disso, a estabilidade genética garante a consistência dos resultados, o que reforça a importância desta pesquisa. Foram utilizados 29 ratos, divididos em seis grupos, incluindo machos e fêmeas saudáveis, e grupos submetidos ao protocolo experimental de OA, com e sem tratamento com anti-inflamatório não esteroidal (AINE). Nos dias 0, 4, 7, 14, 21 e 28 experimentais foram realizados os testes comportamentais e de motricidade de weigh bearing, rotarod e Von Frey e os exames radiológicos. Os resultados mostraram que, após 28 dias, houve melhora na capacidade de deambulação forçada e no limiar nociceptivo entre os grupos, sem diferença estatisticamente significativa entre os grupos tratados e não tratados, assim como entre machos e fêmeas. Os principais achados radiológicos incluíram redução do espaço articular, esclerose óssea e osteófitos marginais. Concluiu-se que os achados radiográficos podem ter pouca relação com os sintomas apresentados pelos animais, especialmente quando relacionados aos testes comportamentais de motricidade.

**Palavras-chave:** osteoartrite experimental; exame radiológico; motricidade.

## ABSTRACT

Osteoarthritis (OA) is a chronic degenerative osteoarticular disease that causes pain, stiffness, and limited joint function, being one of the leading causes of disability in the elderly. The aim of the study was to radiologically characterize experimental OA in rats and correlate these findings with behavioral analyses. The interest in this study arose from the need to deepen knowledge about the experimental model, especially in the comparison between male and female animals. This model is widely used in pre-clinical research due to its low cost, reliable pain response, predisposition to disease, and rapid induction. Additionally, genetic stability ensures the consistency of results, which underscores the importance of this research. A total of 29 rats were used, divided into six groups, including healthy males and females, and groups subjected to the experimental OA protocol, with and without treatment with a nonsteroidal anti-inflammatory drug (NSAID). On experimental days 0, 4, 7, 14, 21, and 28, behavioral and motor tests (weight bearing, rotarod, and Von Frey) as well as radiological exams were conducted. The results showed that after 28 days, there was an improvement in forced ambulation capacity and nociceptive threshold between the groups, with no statistically significant difference between treated and untreated groups, nor between males and females. The main radiological findings included reduced joint space, bone sclerosis, and marginal osteophytes. It was concluded that radiographic findings may have little correlation with the symptoms presented by the animals, especially when related to behavioral motor tests.

**Keywords:** experimental osteoarthritis; radiological examination; motor skills.

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AINE	anti-inflamatório não esteróide
AINES	Anti-inflamatórios Não Esteroidais
ANOVA	Análise de Variância
CEUA	Comitê de Ética no Uso de Animais
CONCEA	Conselho Nacional de Experimentação Animal
COX	ciclo-oxigenase
COX-2	Ciclo-oxigenase 2
D0	Dia zero
D4	Porta digital 4
D7	Dia sete
IL-2	Interleucina 2
IL-6	Interleucina-6
IL-8	Interleucina-8
OA	Orientação a Aspecto
PPA	Plano Plurianual
PPC	Pay-per-click
RM	Residência Médica

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>11</b>
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>13</b>
2.1 Osteoartrite – OA: caracterização, prevalência, etiologia e tratamento .....	13
2.2 OA Experimental e Indução com Monoiodoacetato de Sódio - MIA .....	16
2.3 Avaliação da OA - testes comportamentais e de diagnóstico .....	18
<b>3 OBJETIVOS .....</b>	<b>21</b>
3.1 Geral .....	21
3.2 Específicos .....	21
<b>4 METODOLOGIA.....</b>	<b>22</b>
4.1 Aspectos éticos da pesquisa.....	22
4.2 Experimentação Animal .....	22
4.2.1 Protocolo anestésico e indução da OA .....	22
4.2.2 Protocolo experimental.....	22
4.3 Testes de biomecânica ou comportamentais.....	23
4.3.1 Weigh Bearing .....	23
4.3.2 Von Frey <sup>24</sup> .....	24
4.3.3 Rota Rod.....	24
4.3.4 Avaliação radiográfica .....	25
<b>5 RESULTADOS.....</b>	<b>26</b>
<b>6 DISCUSSÃO .....</b>	<b>36</b>
<b>7 CONCLUSÃO .....</b>	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
<b>Referências .....</b>	<b>43</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A osteoartrite (OA) é uma doença osteoarticular degenerativa crônica progressiva de etiologia multifatorial que se manifesta por artralgia, rigidez, função articular limitada, além de, perda progressiva com reparação inadequada da cartilagem. É uma das doenças mais frequentes encontradas na população mundial, sendo a causa mais comum de incapacidade em pessoas idosas e a quarta principal causa em mulheres (Santos *et al.*, 2020). Estima-se que o custo médico da OA em vários países represente entre 1% e 2,5% do seus PIBs (Produto Interno Bruto) e as afecções nas articulações do quadril e do joelho representam a maior proporção destes custos (Hunter; Bierma-Zeinstra, 2019).

Em 2022, a Sociedade Brasileira de Reumatologia relatou que a OA atinge principalmente a articulação coxofemoral. A doença em si, é pouco comum em pacientes com idades inferiores a 40 anos, sendo mais frequente após os 60 anos. Em torno dos 75 anos, 85% das pessoas têm evidência radiológica ou clínica da doença, mas somente 30 a 50% dos indivíduos com alterações observadas nas radiografias queixam-se de dor crônica.

Sendo assim, é de fundamental importância compreender que a OA representa uma problemática para as políticas de saúde pública. Trata-se de uma doença de preocupação crescente para a medicina, além de, um grande desafio para a ciência nos dias de hoje. Desta forma, os modelos experimentais para pesquisa e estudo da OA permitem que os pesquisadores acompanhem a progressão da doença, sendo utilizados em várias espécies, principalmente em ratos e camundongos, aceitos por toda comunidade científica mundial (AlvesSimões, 2022).

As pesquisas de Morais *et al.* (2016), Sophocleous; Huesa (2019), Wang *et al.*, (2020), Rotpenpian *et al.*, (2021) e Morais *et al.* (2024) demonstram a eficácia da utilização de animais de laboratório para as pesquisas com OA. Estes estudos, por exemplo, evidenciam desde a aplicabilidade de modelos experimentais de OA, por meio de alterações funcionais, radiológicas e microscópicas da articulação. Para Luciano *et al.* (2024), as técnicas de imagem, como radiografia e ressonância magnética (RM), são ferramentas eficazes no diagnóstico da osteoartrite (OA), sendo a radiografia a modalidade mais comumente utilizada para o diagnóstico de osteoartrite em virtude da facilidade de execução da técnica e dos custos que ela possui.

Posto isto, sabendo-se que os critérios radiológicos utilizados para interpretação dos resultados relacionados ao diagnóstico e evolução da doença em modelos experimentais são pontuais e seguem os critérios descritos por Kellgren & Lawrence (1957), para humanos, torna-

se essencial reavaliar sua aplicabilidade em animais. Nosso grupo de pesquisa, que trabalha há anos com esse modelo experimental, tem observado uma variabilidade na correlação entre os achados radiológicos e análises da dor nos animais. Essa relação pode ser influenciada por diferenças anatômicas e fisiológicas entre espécies, destacando a importância de uma abordagem criteriosa na avaliação da osteoartrite experimental.

O interesse pela temática em questão, surgiu a partir da necessidade do aprofundamento dos conhecimentos referentes ao modelo experimental, com vistas a demonstrar a correlação entre animais machos e fêmeas, uma vez que se percebeu que o tema permite uma vasta exploração, considerando-se sua ampla utilização em modelos pré-clínicos, além disso oferece baixo custo, com resposta confiável à dor, pré-disposição à doença, como rápida resposta à indução. O modelo oferece também estabilidade genética, garantindo a reprodução consistente de características específicas, o que reflete diretamente na uniformidade dos experimentos. Diante do exposto, justifica-se a importância da presente pesquisa.

Assim, considerando a relevância da temática e a necessidade dos métodos de análise da osteoartrite (OA) em modelos experimentais, esta pesquisa tem como objetivo caracterizar radiologicamente a OA experimental em modelo murino, relacionando os achados morfológicos com as análises comportamentais. Da mesma forma será analisada a interferência da variável sexo por meio das avaliações radiológicas e comportamentais, permitindo uma correlação entre os achados obtidos e os dados dos testes comportamentais e exames radiológicos.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Osteoartrite – OA: caracterização, prevalência, etiologia e tratamento

A osteoartrite (OA), também conhecida como osteoartrose ou artrose, é uma doença articular degenerativa crônica que afeta predominantemente a cartilagem articular, resultando em dor, rigidez, deformidade e perda progressiva da função articular. Esta condição é caracterizada por alterações estruturais e funcionais nas articulações, incluindo degeneração da cartilagem, formação de osteófitos (espículas ósseas), inflamação sinovial e alterações ósseas subcondrais. A OA é uma das principais causas de incapacidade física e impacta significativamente a qualidade de vida dos indivíduos afetados (Artuzi *et al.*, 2020).

Definida através de diferentes etiologias, mas com efeitos biológicos, morfológicos e clínicos semelhantes, o processo da OA envolve não apenas a cartilagem, mas toda a articulação com alterações no osso adjacente, bem como, na membrana sinovial, cápsula articular, ligamentos e musculatura ao redor da articulação. A doença leva a uma destruição gradual da cartilagem, que inicialmente fibrila, e é posteriormente afetada por fissuras e ulcerações e, finalmente, perda irregular de toda a cartilagem com desnudamento do osso subjacente (Bliddal, 2020).

A OA representa uma desordem no equilíbrio entre os processos de construção e destruição, predominantemente controlados pelos condroblastos. Trata-se de uma condição patológica que afeta a totalidade da articulação, caracterizada pela deterioração gradual dos constituintes da matriz extracelular da cartilagem articular, em conjunto com fatores inflamatórios secundários. Estas mudanças degenerativas são acompanhadas por alterações nos tecidos periarticulares, incluindo inflamação sinovial, formação de osteófitos e alterações ósseas subcondrais. Pode afetar qualquer articulação, mas é mais comum em articulações que suportam peso, como os joelhos, quadris, coluna vertebral e articulações das mãos (Kolasinski *et al.*, 2020).

No Brasil, entre os anos de 2017 e 2019 foram registradas 74.730 internações por osteoartrite, em pessoas entre 50 e 80 anos ou mais. No mesmo período o percentual da osteoartrose foi maior no sexo feminino com 62,69% das internações contra 37,30% no sexo masculino (Souza *et al.*, 2022). Os números da previdência social no Brasil retratam que a OA é responsável por 7,5% de todos os afastamentos do trabalho, sendo a segunda patologia em relação ao auxílio-doença, e a quarta a estabelecer aposentadoria (Felimberti, 2022).

Segundo Acri *et al.* (2019), a prevalência da OA aumenta com a idade, sendo mais comum em pessoas com mais de 60 anos. No entanto, também pode ocorrer em adultos mais jovens, especialmente aqueles com fatores de risco, como obesidade, lesões articulares prévias e histórico familiar da doença. Um outro ponto importante além do impacto direto na qualidade de vida dos indivíduos afetados, a OA também representa um ônus econômico substancial devido aos custos associados ao tratamento médico, reabilitação e perda de produtividade.

O tratamento da OA é multifacetado e objetiva aliviar a dor, melhorar a função articular e retardar a progressão da doença. Existem várias abordagens terapêuticas disponíveis, que podem ser combinadas para atender às necessidades individuais de cada paciente (Sousa Valente, 2019). Uma das principais estratégias de tratamento para a doença envolve a gestão da dor. Isso pode ser alcançado através do uso de analgésicos, ou anti-inflamatórios não esteroides (AINEs), que ajudam a reduzir a inflamação e aliviar a dor. Em casos de dor mais intensa, podem ser prescritos opióides, embora seu uso seja geralmente reservado para casos graves de OA devido ao risco de dependência e efeitos colaterais adversos (Monteiro *et al.*, 2021).

Os AINEs agem bloqueando a ciclooxigenase (COX), conseqüentemente inibindo a síntese de prostaglandinas. Dessa forma, previnem a sensibilização de nociceptores e, conseqüentemente, bloqueiam a hiperalgesia inflamatória. Os opióides, que são potentes analgésicos de ação central e periférica, também agem nos mecanismos inibitórios descendentes, inibindo diretamente os terminais nociceptivos ou as sinapses nociceptivas espinhais (Rodrigues, 2019).

O meloxicam é um grupo de AINEs que está incluído na categoria não seletiva de COX-2 porque pode inibir parcialmente a COX-1. O meloxicam pode atuar inibindo a biossíntese da COX-2, inibindo os níveis de IL-1 $\beta$  e TNF- $\gamma$ , que desempenham um papel no processo inflamatório (Khotib *et al.*, 2019).

Em sua etiopatogenia, a biomecânica da articulação desempenha um papel fundamental. A sobrecarga funcional da cartilagem ou instabilidade na articulação podem exceder sua capacidade adaptativa. Além disso, disfunções no sistema de remodelamento interno podem surgir devido a injúrias de origem inflamatória, imunológica ou biomecânica, levando a uma liberação aumentada de enzimas proteolíticas. Fatores extracartilaginosos, como alterações no líquido sinovial, na membrana sinovial e no tecido ósseo subcondral, também desempenham um papel significativo. Esses processos culminam em inflamação sinovial, degradação da cartilagem, remodelação óssea e formação de osteófitos, resultando em sintomas como dor, rigidez, edema e comprometimento da função articular normal (Kolasinski *et al.*, 2020).

É importante destacar que as articulações do quadril e joelho são as articulações sinoviais de maior ocorrência da OA. Em linhas gerais, estas articulações são caracterizadas por vascularização limitada, dependente do fluido sinovial para a nutrição da matriz extracelular e adequada lubrificação para que ocorram os movimentos articulares adequadamente. Durante condições inflamatórias ocorre um desequilíbrio nas citocinas presentes no fluido sinovial, resultando em um aumento das citocinas pró-inflamatórias, como interleucinas (IL)-1 $\gamma$ , IL-2, IL-6 e fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ). Estas citocinas desempenham um papel crucial nos processos inflamatórios e na degradação da cartilagem, que são características da OA. O TNF- $\alpha$ , em particular, é reconhecido como um regulador chave na progressão da degeneração da cartilagem na articulação do joelho, induzindo a produção de outras citocinas inflamatórias e enzimas de degradação, como as metaloproteinases da matriz (MMPs) e colagenase, contribuindo assim para a inflamação e destruição da cartilagem e do osso na OA (Liao *et al.*, 2020; Wang *et al.*, 2020).

De acordo com Fernández-Martín *et al.* (2021), o condrócito articular é o sensor da homeostase da cartilagem articular e desempenha um papel crítico na manutenção da estrutura e função fisiológica normal da cartilagem articular. Estudos demonstraram que a homeostase do condrócito articular pode ser perturbada por múltiplos fatores, incluindo carga mecânica anormal e envelhecimento. Além disso, alterações genéticas nas vias de sinalização TGF $\alpha$ /Smad, Wnt/ $\beta$ -catenina e Ihh podem perturbar o equilíbrio entre atividades anabólicas e catabólicas na cartilagem articular, resultando na degradação irreversível da matriz extracelular. A maioria dos modelos de osteoartrite converge para a regulação positiva de enzimas catabólicas, como MMP-13 e ADAMTS5, sugerindo que essas enzimas podem servir como potenciais alvos terapêuticos na regulação da progressão da OA. Além disso, segundo Artuzi *et al.*, (2020), a manipulação destas moléculas também pode desempenhar um papel na regeneração da cartilagem articular.

Segundo Derwich *et al.* (2021), as principais proteases envolvidas na OA incluem a colagenase e a metaloproteinase da matriz-1 e 2. A detecção de TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, Interferon Gama (INF- $\gamma$ ) e outras citocinas têm sido documentadas no fluido sinovial de pacientes com OA. Estas, têm sido objeto de estudo por sua capacidade de induzir a síntese de proteases, resultando em aumento das taxas de degradação da matriz extracelular e redução da síntese de proteoglicanos. Os metabólitos do ácido araquidônico atuam como mediadores inflamatórios, precursores de várias prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos, responsáveis pela excitabilidade neuronal, levando a um efeito pró-nociceptivo.

## 2.2 OA Experimental e Indução com Monoiodoacetato de Sódio - MIA

Idealmente, um modelo de OA deveria estar em uma espécie de mamífero que permita múltiplas análises, incluindo avaliação de resultados clínicos, e ter o genoma totalmente sequenciado e publicamente disponível para facilitar estudos fisiopatológicos e identificação de alvos de tratamento. Nenhuma espécie preenche todos esses critérios, cada uma tendo vantagens e desvantagens potenciais. Em geral, espécies menores facilitam maior reprodutividade em menor tempo, menor custo e maior controle sobre as variáveis experimentais (genética, idade, sexo, massa corporal, dieta, e meio ambiente). O estabelecimento de protocolos padronizados também são mais comuns em animais menores, mas as melhorias tecnológicas e a investigação contínua ajudam a caracterização semelhante de espécies maiores, que são mais receptivas a extração de amostras de tecido/fluidos para o uso de avaliações clinicamente relevantes (imagens radiográficas, Tomografia computadorizada, ressonância magnética padrão, artroscopia) e imitar mais de perto a anatomia, morfologia e mecânica de articulações humanas (Zak et al., 2022).

Segundo Cougo et al. (2021), a abordagem utilizando modelos animais para investigação das desordens articulares é de extrema importância na análise da patogênese dessas condições em pesquisas pré-clínicas, bem como na avaliação de intervenções terapêuticas potenciais, dada a complexidade das patologias e a ampla variedade de tratamentos clínicos e/ou cirúrgicos aplicados.

Os primeiros modelos de OA foram desenvolvidos para estudar os aspectos estruturais da doença, por exemplo, para entender a degeneração da cartilagem, em detrimento aos aspectos sintomáticos. Pesquisadores recorreram a modelos animais pré-clínicos *in vivo* para investigar as alterações patológicas iniciais na OA. De maneira geral, esses modelos oferecem vantagens para o estudo da OA, embora também possuam limitações (Alves-Simões, 2022; Cope et al., 2019).

Apesar das limitações, os modelos animais de OA continuam sendo uma ferramenta valiosa para a pesquisa pré-clínica e têm sido amplamente utilizados para estudar os mecanismos subjacentes à doença e testar a eficácia de novos tratamentos. Com o avanço das técnicas de modelagem e a crescente compreensão dos processos patológicos envolvidos na OA, acredita-se que esses modelos desempenhem um papel importante no desenvolvimento de novas terapias para essa doença debilitante (Cui et al., 2019).

Os modelos animais, portanto, são de importância crucial para as pesquisas sobre OA, assim como para o desenvolvimento de novas terapias. Parte do alinhamento ideal dos modelos pré-clínicos com populações de pacientes relevantes é a consideração de potenciais fatores intrínsecos e extrínsecos que podem confundir ou contribuir para a doença OA e a variabilidade da doença, como idade, sexo, origem étnica/genética e condições de saúde e comorbidades. Grande parte da pesquisa de modelo pré-clínico de OA publicada utiliza animais jovens, machos e saudáveis (Zaki *et al.*, 2022).

Xiang *et al.*, (2021) revisaram os principais métodos utilizados em pesquisas com animais e os resumiram em quatro categorias distintas: (i) procedimentos cirúrgicos (ressecção parcial do menisco, perfuração do tecido articular); (ii) indução química (injeção intra-articular de substâncias como ovalbumina, colagenase, monoiodoacetato de sódio, formalina, fator de crescimento endotelial vascular, entre outros); (iii) estresse mecânico (aplicação de abertura passiva da articulação, alteração na carga articular) e; (iv) indução de estresse psicológico. Para estes autores, estas abordagens oferecem diferentes formas de simular condições patológicas no joelho, permitindo o estudo da fisiopatologia e o desenvolvimento de terapias potenciais.

Serra & Soler (2019) relataram em seus estudos que para trabalhar com um modelo cirúrgico é necessário que se possua conhecimento específico da anatomia da espécie em que vai trabalhar, conhecer a biomecânica da articulação, ser proficiente na técnica asséptica e cirúrgica que permite que o modelo desejado seja produzido com precisão e estar familiarizado com protocolos anestésicos e analgésicos próprios para a espécie, que resultará na menor morbidade, e mortalidade dos animais em experimentação, resultando em melhor bem-estar animal, menor custo econômico e maior homogeneidade no modelo de lesão, evitando danos iatrogênicos durante o procedimento.

A indução química utiliza diferentes agentes químicos, enzimáticos ou hormonais para desencadear a OA. A injeção intra-articular de Monoiodoacetato de Sódio (MIA) tem demonstrado induzir alterações histológicas nas articulações de animais que se assemelham à doença em humanos, como apoptose de condroblastos e desequilíbrio na matriz óssea cartilaginosa e subcondral (Xiang *et al.*, 2021).

Miller *et al.*, (2014) revisaram artigos publicados sobre modelos animais e OA e relataram que modelos de indução química com MIA e os cirúrgicos são os modelos mais utilizados. A indução com MIA foi registrada pela primeira vez em 1987, para induzir um fenótipo semelhante e os comportamentos de dor relacionados à OA. Segundo (Yu *et al.*, 2022), este modelo induz um fenótipo doloroso rápido, reprodutível e robusto e uma extensa patologia

articular. A injeção intra-articular de MIA leva à morte dos condrócitos através da inibição da gliceraldeído-3-fosfatase e da interrupção da glicólise celular, resultando na degeneração da cartilagem, destruição óssea, causando inflamação grave e aguda, que dá origem à fase mais longa e degenerativa da OA. É um modelo bem estabelecido e amplamente utilizado.

Xu *et al.* (2020) em sua pesquisa afirmaram que a injeção de MIA poderia aumentar a sensibilidade das fibras aferentes da articulação do joelho levando à nocicepção, o que se reflete por hiperalgesia térmica e redução do limiar mecânico. Estes autores relataram que as alterações na marcha estavam relacionadas ao aumento da nocicepção, sugerindo que os padrões de marcha podem ser usados para avaliar modelos de dor. Portanto, este modelo é principalmente utilizado para avaliar a dor relacionada à OA e rastrear medicamentos orais, bem como medicamentos injetáveis na articulação. De acordo com Nicot *et al.* (2021), o uso do MIA como agente indutor da doença em modelos animais é fundamental para a pesquisa translacional e o desenvolvimento de novas terapias para a doença em humanos.

Ademais, modelos genéticos também têm ajudado a compreender melhor as bases genéticas da OA e seu efeito na patogênese da doença. No entanto, embora estes modelos possam desenvolver a doença naturalmente, é comum estimular ou acelerar o aparecimento da anomalia utilizando métodos de indução, encurtando assim os tempos de início e exacerbando os estágios da doença. Por fim, deve-se lembrar que, apesar de vantagens desses modelos, a significativa variabilidade entre os animais no desenvolvimento da doença, bem como, o alto custo para longos períodos de estudo, condicionam a utilização destes modelos. Da mesma maneira, a doença desenvolvida em humanos está associada a patologias poligênicas, e a maioria desses modelos atua em genes específicos (Serra; Soler, 2019).

### **2.3 Avaliação da OA - testes comportamentais e de diagnóstico**

A avaliação da OA em modelos animais é crucial para compreensão sobre o processo de desenvolvimento da doença, possibilitando informações sobre sua fisiopatologia e potenciais intervenções terapêuticas. Diversas ferramentas são empregadas para essa finalidade, abrangendo métodos histológicos, radiográficos, de imagem por ressonância magnética e microtomografia computadorizada, além de testes biomecânicos (Derwich *et al.*, 2021).

A escolha dos testes biomecânicos ou comportamentais está fundamentada na necessidade de avaliar diferentes aspectos relacionados à OA, incluindo dor, função articular e atividade física. A claudicação e a rigidez articular observadas no teste de mobilidade são

características comuns da OA em humanos e podem fornecer dados sobre a gravidade da doença nos animais. Da mesma forma, a avaliação da atividade física permite monitorar as alterações no comportamento locomotor e na qualidade de vida dos animais após a indução da OA (Cui *et al.*, 2019).

Além disso, de acordo com Bi *et al.* (2020) os testes que envolvem respostas a estímulos dolorosos são essenciais para investigar a dor associada à OA e sua influência no comportamento dos animais. A validação desses testes comportamentais é crucial para garantir a confiabilidade e a sensibilidade do modelo animal de OA induzida por MIA, bem como para estabelecer correlações entre os achados comportamentais e os parâmetros fisiológicos da doença.

Os testes comportamentais ou biomecânicos são ferramentas empregadas que contribuem para a mensuração da capacidade motora e desconforto articular, que possibilitam a mensuração do impacto do MIA na funcionalidade articular e consequentemente colaboram para investigação e criação de terapias destinadas ao tratamento e involução da doença. Dentre os procedimentos, o Weight Bearing - WB, Von Frey, o Rotarod test e a deambulação forçada, fornecem informações sobre o comportamento dos animais, permitindo a avaliação da dor e a incapacidade funcional associadas à OA (Abramowicz *et al.*, 2021; Monteiro *et al.*, 2021).

Segundo Kolasinski *et al.* (2020), o Weight Bearing (WB) é um dos testes biomecânicos que desempenha um papel fundamental na avaliação da OA induzida por MIA em modelos murinos. A assimetria na distribuição do peso carregado serve como um indicador primário de hipersensibilidade relacionada à dor. Essa avaliação envolve a medição do peso suportado por cada membro pélvico do animal usando um “testador de incapacitância”, onde os ratos são posicionados com suas patas traseiras em almofadas transdutoras separadas. A distribuição de peso sobre as patas é registrada, com os resultados expressos como a porcentagem de peso suportado pela pata traseira em relação ao peso total suportado pelo animal.

Estes mesmos autores informaram que a hipersensibilidade mecânica é avaliada por meio de limiares estáticos de retirada mecânica utilizando filamentos de Von Frey calibrados aplicados à superfície plantar da pata do membro afetado. Junior *et al.* (2019) relataram em sua pesquisa que o método 'para cima e para baixo' é empregado, começando com um filamento de 0,6 g e progredindo até que uma mudança na resposta seja observada. O resultado é quantificado como a variação na pressão obtida, subtraindo-se a média de três valores observada antes do procedimento experimental, da média de três valores em gramas, após a administração dos estímulos que variam de acordo com o experimento.

O Rotarot test tradicionalmente avalia a coordenação motora em roedores. Este teste foi descrito pela primeira vez por Dunham e Miya em 1957. Estes pesquisadores utilizaram esse aparelho para quantificar o desempenho motor em camundongos tratados com diferentes agentes, como clorpromazina ou hidroxizina. O aparelho foi posteriormente aprimorado por Jones e Roberts em 2004, permitindo que a velocidade de rotação aumentasse constantemente durante um determinado período. De fato, esse é um dos testes de função motora mais comumente usados em modelos experimentais (Lubrich *et al.*, 2022).

Por outro lado, as radiografias retratam a gravidade do dano estrutural e melhoram a especificidade quando osteófitos ou estreitamento do espaço articular estão presentes. Características e sintomas patológicos de OA podem ocorrer antes que osteófitos estejam presentes nas radiografias. Assim, uma radiografia normalmente não exclui OA. Se a apresentação clínica for altamente sugestiva de OA, os clínicos devem iniciar o tratamento (detalhado abaixo) apesar das radiografias normais. As radiografias do joelho devem ser realizadas com o paciente em pé para revelar a extensão do estreitamento do espaço articular da articulação tibiofemoral (Katz *et al.*, 2021).

Um dos sistemas de classificação mais comuns usados na OA é o sistema de classificação de Kellgren & Lawrence que incluem a avaliação radiológica baseada nos seguintes critérios: formação de osteófitos nas margens articulares, ossículos periarticulares, estreitamento da cartilagem articular associado à esclerose do osso subcondral, pequenas áreas pseudocísticas com paredes escleróticas situadas no osso subcondral e forma alterada das extremidades ósseas. A partir destes critérios são estabelecidos scores, a saber: Grau 0, sem OA - não demonstrou estreitamento do espaço articular ou alterações reativas; Grau 1 - estreitamento duvidoso do espaço articular, possível lábio osteofítico; Grau 2 - osteófitos definitivos, possível estreitamento do espaço articular; Grau 3 - osteófitos moderados, estreitamento definitivo do espaço articular e possível deformidade final; Grau 4 - grandes osteófitos, estreitamento definitivo do espaço articular e deformidade nas estruturas articulares (Abramoff; Caldera, 2020).

Apesar de seu valor, os modelos animais de OA têm algumas limitações importantes que os pesquisadores devem levar em consideração ao interpretar seus resultados. Em primeiro lugar, a anatomia e a biomecânica das articulações de roedores diferem significativamente das dos humanos. Isso pode afetar a maneira como a doença se desenvolve e progride nos modelos animais, bem como a resposta ao tratamento (Kim *et al.*, 2019). Entretanto, os benefícios que são alcançados durante esses estudos são inegáveis, porém, princípios éticos devem ser

seguidos na utilização do número de animais testados e resultados esperados (Junior *et al.* 2019).

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Geral**

Caracterizar radiologicamente a osteoartrite (OA) experimental em modelo experimental murino, relacionando os achados morfológicos com as análises comportamentais.

#### **3.2 Específicos**

- Avaliar as alterações ósseas resultantes do modelo experimental, assim como, especificar as anomalias ósseas;
- Identificar padrões radiológicos e de remodelação óssea;
- Avaliar a interferência da variável sexo, a partir das análises radiológicas e comportamentais em modelo experimental;
- Relacionar os achados obtidos, com os dados dos testes comportamentais e análises radiológicas.

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 Aspectos éticos da pesquisa

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 nº 23115.002825/2023-71).

### 4.2 Experimentação Animal

#### 4.2.1 Protocolo anestésico e indução da OA

Este estudo foi conduzido utilizando 29 ratos adultos (15 machos e 14 fêmeas) Wistar (*Rattus norvegicus*), com 60 dias de idade, provenientes do Biotério e Centro de Experimentação Animal da Universidade Federal do Maranhão – BCEA/UFMA. Os animais foram mantidos em condições padronizadas de temperatura ( $24^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ), umidade ( $55 \pm 5\%$ ) e ciclo claro-escuro de 12 horas, com livre acesso à ração padrão e água. Antes do início do experimento, os animais foram aclimatados no Biotério Setorial da Pós-graduação por um período de sete dias.

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

#### 4.2.2 Protocolo experimental

Este estudo é um ensaio pré-clínico no qual 29 animais foram distribuídos aleatoriamente e se utilizou o seguinte delineamento experimental, controlado, randomizado e com estrutura fatorial 2x3, envolvendo dois fatores: sexo (machos e fêmeas) e tipo de intervenção (Controle, OA e Tratamento). Foram utilizados ratos Wistar, divididos igualmente entre os sexos (15 machos e 14 fêmeas). Cada sexo foi alocado aleatoriamente em três grupos experimentais: Grupo Controle (sem indução de osteoartrite), Grupo OA (com osteoartrite induzida e sem tratamento) e Grupo Tratamento (com osteoartrite induzida e intervenção

terapêutica). As análises comportamentais e radiológicas foram conduzidas separadamente para machos e fêmeas. As variáveis dependentes incluíram incapacidade funcional e escore radiológico de degeneração articular, e os fatores independentes foram o sexo e o tipo de intervenção. A análise estatística utilizou ANOVA fatorial com nível de significância estabelecido em  $p < 0,05$ . A divisão dos grupos foi feita da seguinte forma:

- Animais machos saudáveis - animais que não foram submetidos ao protocolo experimental (n=3);
- Animais fêmeas saudáveis - animais que não foram submetidos ao protocolo experimental (n=2);
- Animais machos submetidos ao protocolo experimental e não tratados (n=6);
- Animais machos submetidos ao protocolo experimental e tratados com AINE (anti-inflamatório não esteroidal, Meloxicam, 1mg/kg), durante 28 dias, 1x ao dia iniciado no dia posterior ao dia da indução, por gavagem (n=6);
- Animais fêmeas submetidas ao protocolo experimental e não tratadas (n=6);
- 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 de biomecânica ou comportamentais

#### 4.3.1 Weigh Bearing

O teste de sustentação de peso (WB) ou incapacitação estática, analisa a distribuição do peso corporal nas patas dos membros pélvicos e é utilizado para avaliar o desconforto articular ou a hiperalgesia primária causada pela osteoartrite. O teste envolve um sensor conectado a 2 plataformas independentes (balanças), que mensuram quanto do peso do animal é aplicado em cada pata separadamente. Os valores são mostrados em um display digital e foram realizadas três aferições por animal, sendo a aferição final, a média de três aferições. As análises foram realizadas mediante estudo cego, por três avaliadores treinados, e as alterações na distribuição do peso nas patas traseiras foram calculadas da seguinte maneira:

Distribuição do peso % =  $\frac{PPA}{PPA + PPC} \times 100$ , onde: PPA é o peso da pata afetada e o PPC o peso da pata contralateral.

#### 4.3.2 Von Frey

Para o teste de Von Frey, os animais foram colocados em uma caixa de acrílico sobre uma plataforma de arame que dá acesso à face plantar dos pés. Primeiramente, os ratos foram mantidos nas suas caixas, no laboratório, por 30 minutos para a ambientação, e em seguida foram colocados em caixas individuais de acrílico e posicionados em uma grade de metal para aplicação dos filamentos.

Nesse experimento, foram utilizados três filamentos de forma crescente ou decrescente de 4g, 10g e 300g. A primeira aplicação correspondeu ao filamento mediano 10g, e os demais eram aplicados conforme a resposta do filamento anterior. Dessa forma, em caso de resposta positiva, um filamento de menor calibre foi aplicado, e em caso de resposta negativa utilizou-se um calibre maior, sendo que todas as aplicações tiveram um intervalo mínimo de 30 segundos entre elas. O teste foi finalizado quando ocorreram três respostas positivas ou negativas sequenciais.

É importante destacar que foi considerado como um comportamento de resposta positiva a retirada da pata nesse período, ou o ato de lambar e morder a pata imediatamente após a aplicação. Havendo a deambulação, o teste foi interrompido até a sua paralisação, posicionando assim os quatro membros sobre a grade do suporte. No caso de ausência do comportamento de retirada da pata, foi registrada uma resposta negativa. As análises foram realizadas mediante estudo cego, por três avaliadores treinados, e os resultados foram expressos a partir da média dos avaliadores para o score do teste. O limiar nociceptivo de retirada da pata (LNRP) foi definido como o percentual de força para provocar uma suspensão ativa na pata ipsilateral afetada e foi determinado da seguinte maneira:

$$\text{LNRP (\%)} = \text{LNRPA} / (\text{LNRPA} + \text{LNRPC}) \times 100$$
, onde: LNRP é o limiar nociceptivo de retirada da pata; LNRPA é limiar nociceptivo de retirada da pata afetada; LNRPC limiar nociceptivo de retirada da pata contralateral.

#### 4.3.3 Rota Rod

O Modelo de avaliação da atividade motora tem como objetivo inferir a observação da atividade motora a partir da avaliação da capacidade de apoio espontâneo do membro afetado, durante a deambulação estimulada. O equipamento consiste em um cilindro metálico giratório de 30 cm de diâmetro, revestido por uma malha fina trançada em aço inox. O animal, por seu comportamento natural de permanecer no topo, é estimulado a deambular em uma barra giratória de cilindro em uma rotação de 4-40 rpm por um período de 300 segundos.

A avaliação foi realizada através de análise observacional relacionando a uma escala numérica que varia de 5 a 1, onde, 5 = uso normal do membro; 4 = claudicação leve; 3 = claudicação grave; 2 = desuso intermitente do membro afetado; 1 = desuso completo do membro afetado. As análises foram realizadas mediante estudo cego, por três avaliadores treinados, e os resultados foram expressos a partir da média dos avaliadores para o score do teste.

#### 4.3.4 Avaliação radiográfica

As radiografias dos joelhos dos animais foram obtidas através do aparelho de raio-x Micro Imagem Diox-602®, com tensão de 60 Kv (fixo) e corrente do tubo de 4mA (fixo), por meio de um sistema de imagem computadorizada com sensor eletrônico para radiografia digital (digitalizador de imagens radiográficas microimagem).

Os animais anestesiados foram mantidos em máscara de isoflurano a 2,5%, e ao obterem relaxamento e entrarem em plano anestésico, foram posicionados em decúbito dorsal e lateral esquerdo, e as imagens foram realizadas em projeção latero-lateral e crânio-caudal com os joelhos em extensão e flexão. Os exames radiológicos foram realizados nos tempos 0, 4, 7, 14, 21 e 28 dias em todos os grupos experimentais propostos. As imagens foram analisadas por “estudo cego”, por profissional, médico veterinário, especializado em imagiologia. Os achados radiológicos encontrados decorrentes da indução da OA foram analisados e foram relacionados com os resultados dos testes comportamentais em machos de fêmeas.

#### 4.3.5 Análise estatística

Inicialmente foi feita o teste Shapiro-Wilk, para avaliar a normalidade entre os grupos.

A comparação das médias dos diferentes grupos experimentais foi realizada pela análise de variância univariada (One-Way ANOVA), seguida pelo teste de Tukey. Na avaliação de duas fontes de variabilidade, foi utilizada análise de variância bivariada (TWO-Way ANOVA). O valor de  $P < 0,05$  foi considerado como indicativo de significância e os dados obtidos serão analisados através do software *Graph Pad Prism*® 10.0 (GraphPad software, San Diego, CA).

## 5 RESULTADOS

Para o teste de Rotarod, os resultados dos testes de normalidade foram avaliados utilizando o teste de Shapiro-Wilk. No grupo "Tratados", o valor  $W=0,8220$  indica uma conformidade moderada, sugerindo que os dados apresentam características que se aproximam de uma distribuição normal. Por outro lado, no grupo "Não tratado", o valor  $W=0,6717$  demonstra menor conformidade, evidenciando maior afastamento da normalidade.

O p-valor, foi analisado para ambos os grupos. No caso dos "Tratados",  $P=0,0918$ , um valor superior ao nível de significância de 0,05, indicando que não há evidências suficientes para rejeitar a normalidade dos dados deste grupo. Em contraste, para o grupo "Não tratado", o p-valor de  $P=0,0031$  é inferior a 0,05, o que rejeita a hipótese de normalidade, confirmando que os dados não seguem uma distribuição normal.

Quanto à significância estatística, os resultados reforçam que os dados do grupo "Tratados" não apresentam desvios significativos da normalidade, sendo classificados como "ns" (não significativo). Já os dados do grupo "Não tratado" indicam uma significância moderada (\*\*), refletindo desvios relevantes em relação à normalidade.

Esses resultados apontam que, enquanto os dados do grupo "Tratados" podem ser analisados utilizando testes paramétricos, o grupo "Não tratado" exige a aplicação de testes não paramétricos devido à falta de conformidade com a normalidade. A ausência de dados válidos para o grupo "Saudável" limita as comparações diretas, mas não compromete a interpretação das informações fornecidas para os outros grupos.

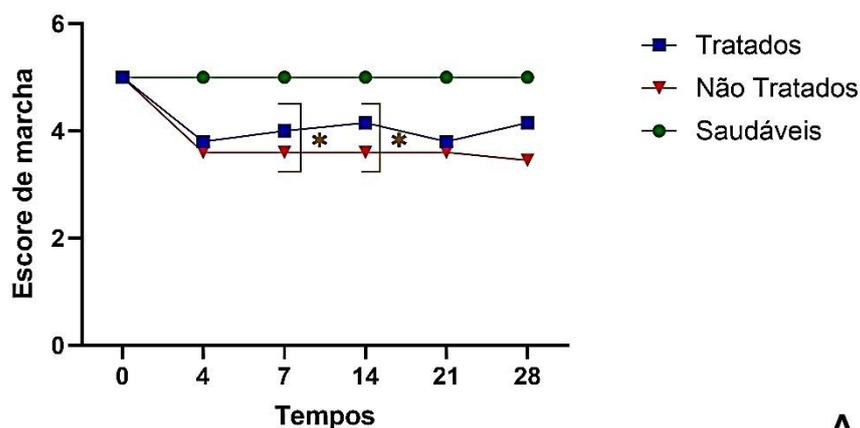
Os resultados dos testes de normalidade foram avaliados com base no teste de Shapiro-Wilk. Para o grupo "Tratados", o valor  $W=0,8456$  indica uma conformidade razoável com a normalidade, sugerindo que os dados deste grupo apresentam um padrão próximo ao esperado para uma distribuição normal. Por outro lado, o grupo "Não tratado" apresentou  $W=0,7914$ , indicando uma menor conformidade, o que pode refletir maiores desvios em relação à normalidade.

No grupo "Tratados",  $P=0,1449$ , um valor maior que 0,05, indica que não há evidências suficientes para rejeitar a hipótese de que os dados seguem uma distribuição normal. Em contraste, para o grupo "Não tratado", o p-valor foi de  $P=0,0491$ , um valor significativo (menor que 0,05), o que sugere a rejeição da hipótese de normalidade para os dados desse grupo.

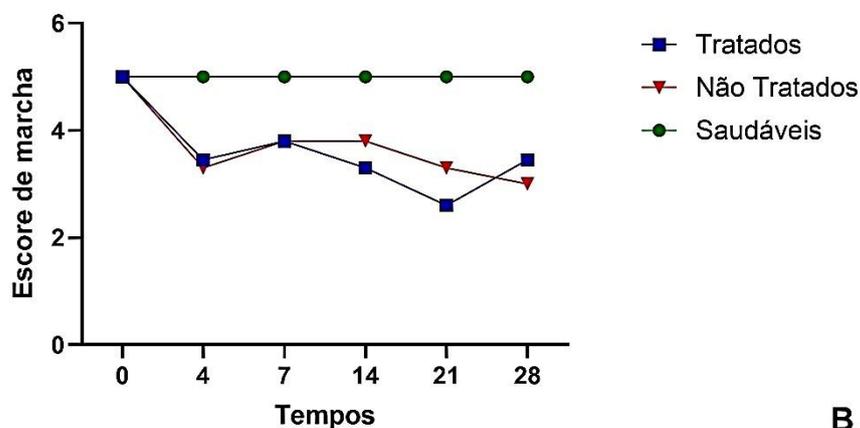
Em termos de significância estatística, o grupo "Tratados" apresentou um resultado classificado como "ns", indicando que os dados seguem a normalidade sem desvios significativos. Já o grupo "Não tratado" demonstrou uma significância moderada (\*), refletindo desvios relevantes que comprometem a conformidade com a normalidade.

Esses resultados sugerem que os dados do grupo "Tratados" podem ser analisados com abordagens estatísticas paramétricas, enquanto os dados do grupo "Não tratado" exigem o uso de testes não paramétricos devido à falta de normalidade.

Quanto a avaliação da atividade motora pelo teste de Rotarod (Figura 1) nos períodos experimentais "D7" e "D14" foi possível observar que o tratamento com o AINE promoveu efeito analgésico nos animais do sexo masculino ( $p < 0,001$ ), quando comparados ao grupo não tratado. Na mesma avaliação, esse efeito não foi observado nos animais fêmeas, embora possamos observar no gráfico uma tendência ao efeito analgésico a partir dos 21 dias.



A



B

**Figura 1.** Avaliação comportamental do teste de Rotarod em ratos submetidos ao protocolo experimental de OA induzido por MIA. A análise foi realizada nos tempos experimentais "0" (antes da indução), "4", "7", "14", "21" e "28" dias após a indução e tratamento. Em A, análise dos animais do

sexo masculino e em B, animais do sexo feminino. Os dados estão apresentados nos valores médios para cada grupo. \* $P < 0.001$  - em comparação entre os animais submetidos ao protocolo experimental tratados e não tratados.

Quanto ao teste de Von Frey, os resultados dos testes de normalidade para os machos foram analisados e organizados, permitindo a interpretação dos dados com base no teste de Shapiro-Wilk. O teste avalia se os dados seguem uma distribuição normal. Valores de WWW próximos de 1 indicam uma maior conformidade com a normalidade. Para o grupo "Tratados", o valor  $W=0,9169$   $W=0,9169$   $W=0,9169$  sugere uma razoável conformidade com a distribuição normal. Da mesma forma, o grupo "Não Tratado" apresenta  $W=0,9252$   $W=0,9252$   $W=0,9252$ , também indicando conformidade satisfatória com a normalidade.

O p-valor mede a probabilidade de rejeitar erroneamente a hipótese nula, que no caso é a suposição de normalidade dos dados. Para os grupos "Tratados" ( $p=0,4833$ ) e "Não Tratado" ( $p=0,5436$ ), os valores são superiores a 0,05, indicando que não há evidências suficientes para rejeitar a hipótese de que os dados seguem uma distribuição normal. Os resultados para ambos os grupos foram classificados como "ns", reforçando que os dados não apresentam desvios significativos da normalidade. Assim, os resultados podem ser considerados adequados para análises paramétricas posteriores.

Os grupos "Tratados" e "Não Tratado" demonstram conformidade com a distribuição normal. Esses resultados indicam que as análises estatísticas subsequentes podem incluir abordagens paramétricas, considerando a normalidade dos dados nos grupos avaliados.

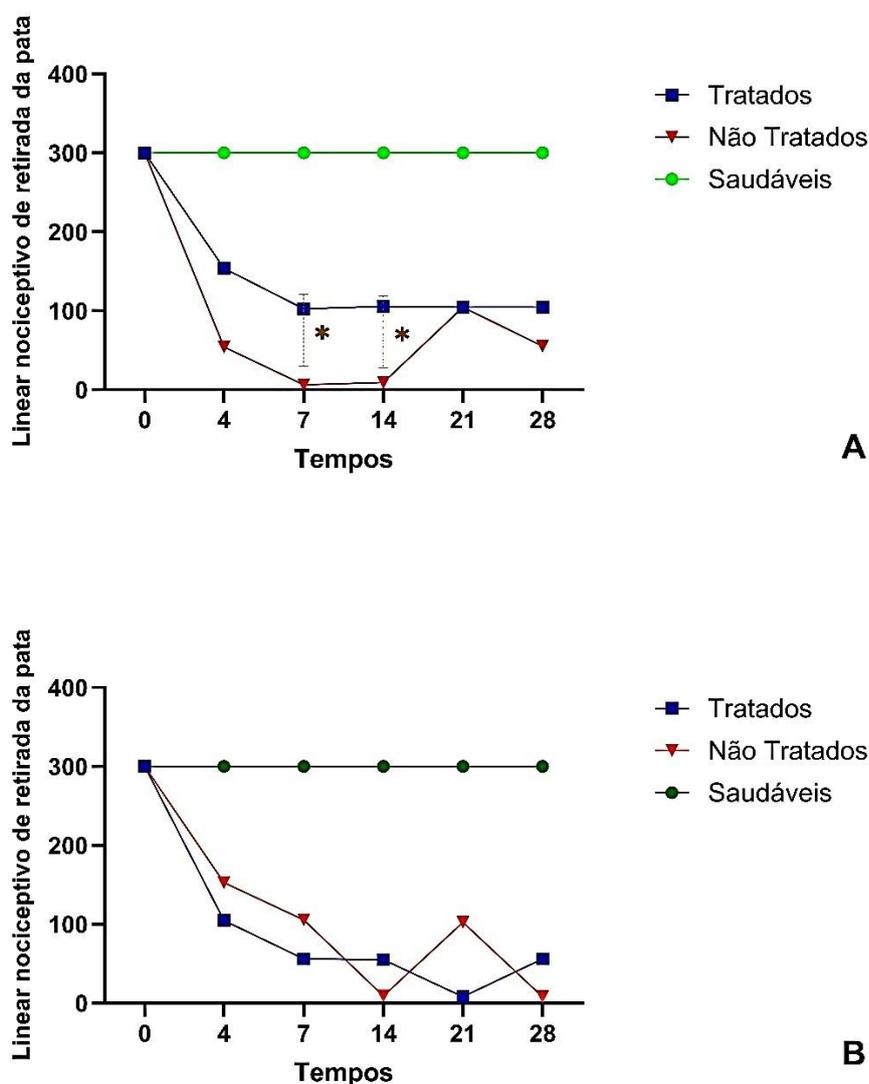
Os resultados dos testes de normalidade para o experimento Von Frey (Fêmeas) foram organizados e analisados com base no teste de Shapiro-Wilk. Este teste verifica se os dados seguem uma distribuição normal. Para o grupo "Tratados", o valor  $W=0,9830$  está próximo de 1, indicando uma boa conformidade com a normalidade. Já no grupo "Não tratado", o valor  $W=0,9026$  também sugere conformidade com a distribuição normal, embora de maneira ligeiramente menos pronunciada em comparação ao grupo tratado.

O p-valor mede a probabilidade de rejeitar incorretamente a hipótese de que os dados seguem uma distribuição normal. Para o grupo "Tratados",  $P=0,9655$ , e para o grupo "Não tratado",  $P=0,3896$ . Ambos os valores são superiores ao nível de significância de 0,05, indicando que não há evidências suficientes para rejeitar a normalidade dos dados nesses grupos.

Ambos os grupos foram classificados como "ns", o que confirma que não há desvios significativos da normalidade nos dados avaliados. Esse resultado é importante para validar o uso de análises paramétricas nas etapas subsequentes.

Os testes de normalidade indicam que os dados dos grupos "Tratados" e "Não tratado" seguem uma distribuição normal, validando o uso de testes estatísticos paramétricos.

Na avaliação pelo Von Frey (Figura 2), no D7 e D14 os animais do sexo masculino tratados com AINES apresentaram valores estatisticamente significantes quanto a diminuição do limiar nociceptivo. Nos mesmos períodos experimentais, não houve significância estatística entre os valores de limiar da dor (%) para os animais do sexo feminino. Em nenhum outro tempo experimental houve significância estatística entre os grupos avaliados, o que nos leva a inferir que nas fêmeas, nesta análise, a resposta a dor é semelhante nos grupos tratados e não tratados.

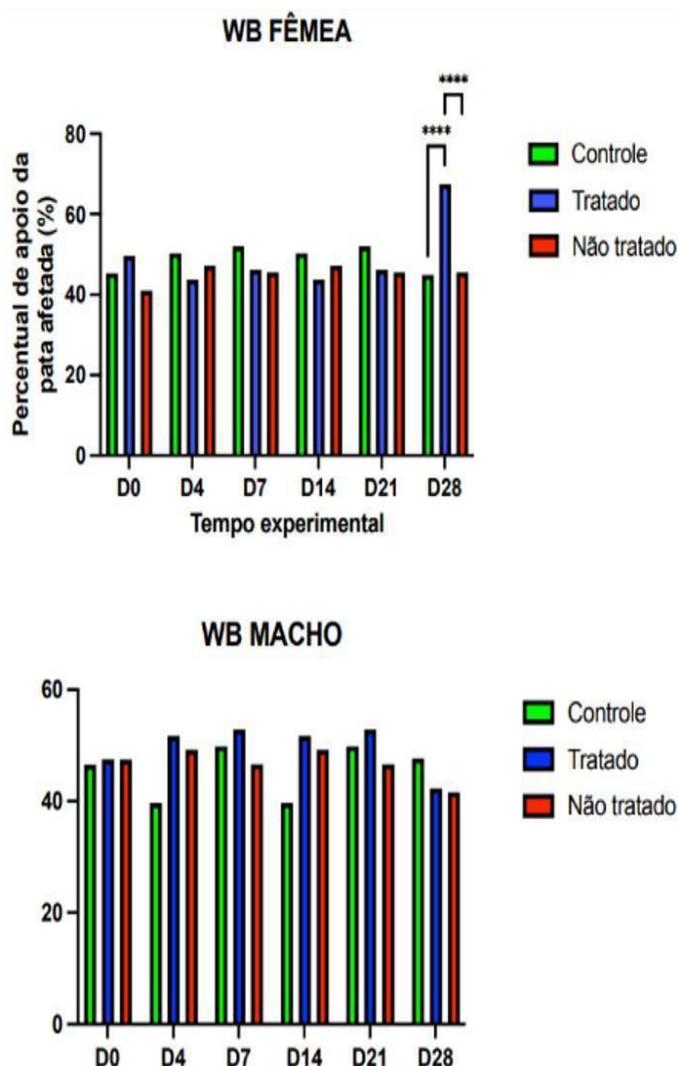


**Figura 2.** Avaliação comportamental do teste de Von Frey em ratos submetidos ao protocolo experimental de OA induzido por MIA. A análise foi realizada nos tempos experimentais "0" (antes da indução), "4", "7", "14", "21" e "28" dias após a indução e tratamento. Em A, análise dos animais do sexo masculino e em B, animais do sexo feminino. Os dados estão apresentados nos valores médios

para cada grupo. \*P <0.001 - em comparação entre os animais submetidos ao protocolo experimental tratados e não tratados.

Considerando a avaliação da distribuição de pesos sobre os membros pélvicos foi feita pelo teste de Weight Bearing (WB) (Figura 3). Após o período experimental, foi possível observar diferença estatisticamente significativa entre os grupos tratados e não tratados somente no tempo experimental D28 das fêmeas. Quando realizamos a comparação entre os sexos pode-se observar o mesmo padrão de resposta ao teste, como ilustrado na figura 3. A análise do comportamento funcional por meio do teste de distribuição de peso revelou importantes aspectos sobre o impacto da osteoartrite (OA) induzida por monoiodoacetato de sódio (MIA) nos membros pélvicos dos animais, com destaque para as diferenças entre grupos tratados e não tratados, bem como entre os sexos. Conforme ilustrado na Figura 3, foi possível observar uma diferença estatisticamente significativa no tempo experimental D28, apenas nas fêmeas tratadas, quando comparadas ao grupo controle (não tratado), indicando que o tratamento foi capaz de promover algum alívio na dor articular em um estágio avançado da doença apenas neste grupo específico.

Outro ponto de destaque é a semelhança nos padrões de resposta entre os sexos até o vigésimo primeiro dia do protocolo. A ausência de diferença significativa nos tempos iniciais e intermediários (D3, D7, D14) pode estar relacionada à fase inflamatória da OA, na qual as alterações estruturais podem não estar plenamente desenvolvidas e os efeitos do tratamento anti-inflamatório são mais sutis. A média dos resultados expressa na Figura 3, com valores significativos para  $p < 0,05$ , evidencia que a intervenção farmacológica teve impacto limitado e dependente do tempo e do sexo. Ainda que o gráfico mostre uma tendência à melhora da simetria da distribuição de peso nos animais tratados, especialmente em fêmeas, é evidente que o tratamento não foi suficiente para reverter por completo o quadro disfuncional da OA



**Figura 3.** Avaliação comportamental do teste Weight Bearing em ratos submetidos ao protocolo experimental de OA induzido por MIA. A análise foi realizada nos tempos experimentais “0” (antes da indução), “4”, “7”, “14”, “21” e “28” dias após a indução e tratamento. Em A, análise dos animais do sexo masculino e em B, animais do sexo feminino. Os dados foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão \* ( $p < 0,05$ ); \*\* ( $p < 0,01$ ); \*\*\* ( $p < 0,001$ ).

Com as avaliações radiológicas podemos observar nas figuras 4 e 5, pode-se observar os exames radiológicos realizados em projeção crânio-caudal e latero-lateral nos diferentes grupos experimentais. Os achados radiológicos mais comuns encontrados foram a redução do espaço articular, esclerose óssea e osteófitos marginais (figuras 4 e 5). Embora tratados, os animais ao final do período experimental demonstraram características peculiares da osteoartrite. Ademais, pode-se observar que a progressão da doença foi mais acentuada nos animais que não foram submetidos a nenhum tipo de tratamento.

De acordo com Garrido et al (2011) os achados radiográficos podem ter pouca relação com os sintomas apresentados pelos portadores da OA. Além disso, as alterações na dimensão do espaço articular, osteófitos e degenerações subcondrais podem ocorrer independentemente da presença da OA. Entretanto, os resultados deste estudo mostram que, após a indução da doença nos modelos experimentais, foram encontradas escleroses subcondrais, osteófitos marginais e diminuição do espaço articular nos joelhos avaliados. Ainda, este mesmo autor destaca que a radiografia é provavelmente a melhor ferramenta para mensurar a progressão da osteoartrose.

No presente estudo, os achados radiográficos demonstraram grau de severidade da doença semelhante entre os grupos tratados e não tratados. Porém, quando comparados os sexos, foi observado que a severidade da doença nas fêmeas foi maior. Esse resultado pode ser atribuído, segundo Monteiro et al (2022), as fases que a doença apresenta, pois existem fases diversas e algumas dessas alterações não seguem a mesma sequência de desenvolvimento, onde algumas delas, são observadas somente em estágios finais da OA.



**Figura 4** – Radiologia da articulação do joelho de ratas - Grupos II, V e VI. Legenda: Em A e B – animais saudáveis, sem nenhuma alteração radiológica. Em C e D, animais tratados. Notar a presença de osteófito marginal na face lateral da tíbia (asterisco amarelo) e esclerose do osso subcondral (círculos brancos), com redução do espaço articular. Em E e F – animais não tratados. Observar os osteófitos marginais na face lateral e medial do epicôndilo lateral da tíbia (asteriscos amarelos), repercutindo em perda do seu formato anatômico habitual (seta amarela), com redução do espaço articular. Notar alteração na superfície articular da patela (asterisco branco), caracterizando maior severidade da doença. À esquerda, projeção latero-lateral. À direita, projeção crânio-caudal.

As figuras 4C, 5C e 4D e 5D, evidenciam alterações compatíveis com um estágio inicial de osteoartrite induzida. O principal achado é a esclerose do osso subcondral, visível como áreas mais radiopacas, indicando um processo de densificação óssea reativa. As figuras 4E, 5E, 4F e 5F compatíveis com um estágio moderado a avançado de osteoartrite induzida. Entre os principais achados, destaca-se a esclerose do osso subcondral, visível como um aumento significativo na densidade óssea nas regiões adjacentes ao espaço articular. Observa-se também uma diminuição do espaço intra-articular, indicando uma perda considerável de cartilagem articular. Além disso, a presença de osteófitos é evidente, com pequenos osteófitos identificados na face lateral do côndilo da tíbia e na face medial do côndilo do fêmur.



**Figura 5** – Radiologia da articulação do joelho de ratos - Grupos I, III e IV. Legenda: Em A e B – animais saudáveis, sem nenhuma alteração radiológica. Em C e D, animais tratados. Notar esclerose do osso subcondral (círculos amarelos), com redução do espaço articular. Em E e F – animais não tratados. Observar os osteófitos marginais na face lateral e medial do epicôndilo lateral e na face medial do epicôndilo medial da tíbia (asteriscos amarelos). À esquerda, projeção latero-lateral. À direita, projeção crânio-caudal.

## 6 DISCUSSÃO

Os resultados obtidos no estudo da osteoartrite experimental em ratos permitem uma análise aprofundada das alterações estruturais e funcionais associadas à progressão da doença. A integração de parâmetros radiológicos e testes comportamentais fornece uma abordagem abrangente, alinhando-se à literatura existente e destacando o impacto funcional da doença em diferentes estágios do modelo experimental.

Os testes comportamentais, como o Rota Rod e o Von Frey, são amplamente utilizados para avaliar a funcionalidade e a nocicepção em modelos de osteoartrite. No presente estudo, os resultados do Rota Rod mostraram que não houve diferença significativa entre os grupos tratados e não tratados ( $P=0,6515$ ). Este achado sugere que, apesar da aplicação do tratamento, os efeitos não foram suficientes para restaurar a funcionalidade motora, corroborando estudos como os de Bliddal (2020), que destacam a dificuldade em reverter alterações funcionais sem intervenções terapêuticas mais direcionadas. Contudo, ao comparar os grupos tratados e não tratados com os saudáveis, as diferenças foram significativas ( $P=0,0058$  e  $P=0,0010$ , respectivamente), reforçando a ideia de que a osteoartrite induzida compromete severamente a mobilidade.

Os dados são consistentes com os achados de Hunter e Bierma-Zeinstra (2019), que destacam a relação direta entre a degradação articular e a perda de funcionalidade. A literatura aponta que a perda de mobilidade observada em modelos experimentais reflete o impacto direto da degradação da cartilagem e da inflamação articular, que são características marcantes da osteoartrite avançada (Abramoff; Caldera, 2020).

Nos testes de normalidade aplicados aos dados do Von Frey, foi observada conformidade com a distribuição normal para os grupos tratados e não tratados, tanto em machos quanto em fêmeas, validando o uso de análises estatísticas paramétricas. No entanto, as comparações entre os grupos não apresentaram diferenças estatisticamente significativas ( $P>0,05$ ), indicando que o tratamento aplicado não foi capaz de alterar significativamente a sensibilidade dolorosa. Estudos como os de Alves-Simões (2022) ressaltam que a avaliação da nocicepção em modelos de osteoartrite pode ser desafiadora, especialmente em estágios iniciais ou moderados, devido à variabilidade individual na resposta à dor.

Por outro lado, as diferenças observadas no desempenho entre os grupos saudáveis e os outros dois grupos reforçam a relevância do modelo experimental na replicação de características clínicas da osteoartrite. Conforme destacado por Pritzker et al. (2006), a perda

funcional e o aumento da sensibilidade dolorosa em modelos experimentais são fundamentais para validar a eficácia de intervenções terapêuticas e entender a fisiopatologia da doença.

Ao avaliar a distribuição de peso nos membros pélvicos como um indicativo de dor unilateral, percebemos essa assimetria o que confirma a deterioração estrutural. Como descrito por Abramoff; Caldera (2020), esse tipo de análise comportamental é altamente sensível para detectar sinais de dor crônica em modelos de OA, sendo que a redução da sustentação do peso no membro lesionado é um marcador robusto de dor articular.

AS fêmeas parecem ser mais sensíveis a dor ou mais suscetíveis a disfunção funcional associada a OA. Isso pode ter relação, entre diversos fatores, com sua fisiologia. O tratamento teve maior impacto positivo nas fêmeas, igualando os níveis de degeneração com os dos machos. Isso sugere possível melhor resposta ao tratamento nas fêmeas. De acordo com Mogil (2012), há evidências consistentes de que o processamento da dor e a resposta a tratamentos analgésicos são modulados de maneira diferente entre machos e fêmeas, tanto em humanos quanto em modelos animais. As fêmeas, por exemplo, tendem a apresentar maior envolvimento de células T na resposta dolorosa, enquanto nos machos a ativação de micróglia predomina. Isso pode justificar, pelo menos em parte, a maior sensibilidade à dor observada nas fêmeas neste modelo, bem como sua resposta diferenciada ao tratamento.

Os dados radiológicos apresentaram uma progressão clara das alterações estruturais ao longo do experimento, desde a esclerose subcondral em estágios iniciais (D4) até a redução do espaço intra-articular e a formação de osteófitos em estágios avançados (D28). A esclerose subcondral, observada já no 4º dia em alguns animais, é um marcador precoce de adaptação óssea ao aumento da carga mecânica devido à perda de cartilagem. Segundo Abramoff e Caldera (2020), essa alteração reflete uma resposta adaptativa do osso ao estresse mecânico, sendo uma das primeiras mudanças detectáveis em modelos de osteoartrite.

No estudo de Hunter; Bierma-Zeinstra (2019), utilizando o mesmo protocolo de indução com MIA, foram encontradas diferenças significativas na sustentação de peso a partir do terceiro dia experimental, com redução da força no membro afetado, indicando o estabelecimento precoce da dor e da disfunção articular. Tais achados corroboram os resultados aqui apresentados, onde também foi possível perceber a instalação progressiva da assimetria funcional nos membros pélvicos, compatível com o avanço da osteoartrite e suas repercussões biomecânicas.

Nos estágios mais avançados (D14, D21 e D28), a diminuição do espaço intra-articular tornou-se evidente, indicando a progressão da degradação cartilaginosa. Este achado é

amplamente reconhecido como um marcador clássico de osteoartrite, refletindo a perda de função de amortecimento da cartilagem e o aumento do contato entre as superfícies ósseas. Estudos como os de Kellgren e Lawrence (1957) e Cope et al. (2019) destacam que a redução do espaço articular é altamente correlacionada com a gravidade clínica da osteoartrite, sendo frequentemente associada a dor e limitação funcional.

Além disso, a presença de osteófitos em locais específicos, como os côndilos femorais e tibiais, foi observada em diferentes estágios do experimento. Essas formações ósseas, conforme descrito por Pritzker et al. (2006), representam uma tentativa do organismo de estabilizar a articulação degenerada, embora contribuam para a limitação do movimento e o aumento do desconforto. No presente estudo, os osteófitos foram mais evidentes nos estágios avançados, sugerindo um padrão progressivo de remodelação óssea, alinhado aos achados de Hunter e Bierma-Zeinstra (2019).

A radiografia também revelou cistos ósseos em alguns animais no estágio avançado (D21), como observado na figura 1D. Esses cistos são indicativos de áreas de necrose ou remodelação óssea ativa, frequentemente associados à sobrecarga mecânica crônica. Liao et al. (2020) ressaltam que a formação de cistos ósseos é um marcador de instabilidade articular em osteoartrite, refletindo o comprometimento estrutural da articulação.

A integração dos dados radiológicos e funcionais permite uma análise mais abrangente do impacto da osteoartrite no modelo experimental. A redução do espaço intra-articular, observada nas radiografias, correlaciona-se diretamente com a limitação funcional evidenciada nos testes de mobilidade, como o Rota Rod. Estudos como os de Bliddal (2020) e Alves-Simões (2022) destacam que a perda de cartilagem e o aumento do atrito ósseo resultam em dor e rigidez, fatores que afetam diretamente o desempenho motor.

Da mesma forma, a esclerose subcondral, um marcador radiológico precoce, pode estar associada à sensibilidade dolorosa avaliada no teste Von Frey. Embora os resultados não tenham mostrado diferenças significativas entre os grupos tratados e não tratados, a presença de esclerose subcondral reflete um aumento na sobrecarga mecânica, que pode contribuir para o desconforto articular. De Sousa Valente (2019) argumenta que a correlação entre alterações estruturais e parâmetros comportamentais nem sempre é linear, especialmente em estágios iniciais da doença.

Os achados radiológicos de osteófitos também oferecem insights importantes sobre a progressão da osteoartrite. Em estágios avançados, essas projeções ósseas foram associadas à redução da mobilidade e à dor, conforme observado nos testes comportamentais. Pritzker et al.

(2006) destacam que os osteófitos são formados como uma resposta adaptativa à instabilidade articular, mas podem exacerbar o comprometimento funcional, especialmente em modelos experimentais.

Os resultados do estudo demonstram a eficácia do modelo experimental em replicar características estruturais e funcionais da osteoartrite. A integração de testes comportamentais e análises radiológicas permite uma avaliação abrangente da progressão da doença, destacando a relevância de parâmetros como esclerose subcondral, redução do espaço intra-articular e formação de osteófitos. Esses achados fornecem uma base sólida para futuros estudos, que podem explorar intervenções terapêuticas mais eficazes e aprofundar a compreensão dos mecanismos subjacentes à osteoartrite.

## 7 CONCLUSÃO

Os achados obtidos neste estudo reforçam a validade e a eficácia do modelo de osteoartrite (OA) induzida por monoiodoacetato de sódio (MIA) em ratos para replicar características-chave da OA humana. Observamos que os animais submetidos à indução por MIA desenvolveram alterações estruturais típicas da OA, como esclerose do osso subcondral, redução do espaço articular e formação de osteófitos em suas articulações do joelho, além de apresentarem déficits funcionais e comportamentais significativos relacionados à dor articular.

A ocorrência concomitante de dor articular, disfunção motora (avaliada pelos testes de comportamento) e degeneração estrutural (evidenciada radiograficamente) nos ratos tratados com MIA demonstra que o modelo reproduz de forma integrada os aspectos anatômicos e clínicos da doença.

Os testes comportamentais aplicados (Rotarod, Von Frey e Weight Bearing) permitiram quantificar o impacto funcional da OA induzida e avaliar a eficácia analgésica do tratamento anti-inflamatório não esteroideal (AINE) utilizado. No teste de Rotarod, que exige coordenação motora e resistência, os animais com OA não tratada exibiram desempenho progressivamente inferior, caindo mais rapidamente do aparelho conforme a doença progredia um indicativo de comprometimento funcional devido à dor e à limitação articular.

Em contrapartida, os ratos do grupo tratado com AINE apresentaram melhora significativa no desempenho (maior tempo de permanência no Rotarod) nos períodos iniciais pós-indução (especialmente até D14) em relação aos não tratados, evidenciando um efeito analgésico benéfico do tratamento farmacológico nos animais do sexo masculino ( $p < 0,001$ ).

No teste de Von Frey, que avalia a sensibilidade dolorosa mecânica, verificou-se um padrão semelhante: nos dias 7 e 14 pós-indução, os animais machos tratados com AINE apresentaram limiares nociceptivos significativamente maiores (ou seja, menor sensibilidade à dor) em comparação aos machos não tratados, enquanto as fêmeas não exibiram diferenças significativas entre os grupos tratado e não tratado nesses tempos.

Em se tratando do teste Weight Bearing, ele demonstrou que o tratamento promoveu alívio parcial da dor somente percebido no tempo D28, mas não demonstrou um efeito significativo nos demais animais machos ou tempos. O que pode significar que esse efeito é dependente do tempo e do sexo, com maior responsividade nas fêmeas em estágio avançado da doença.

Além disso, em nenhum outro tempo experimental posterior houve diferença estatística entre grupos, indicando que, passadas as fases iniciais, o tratamento não alterou substancialmente a hipersensibilidade mecânica induzida pela OA.

A disparidade de resposta entre machos e fêmeas observada nos testes comportamentais é um ponto de destaque deste estudo e está alinhada com evidências crescentes de diferenças sexuais na modulação da dor e na eficácia de analgésicos.

As análises radiológicas realizadas (projeções crânio-caudal e latero-lateral dos joelhos) complementam os dados comportamentais ao fornecer uma correlação estrutural para a disfunção observada. Todos os animais induzidos por MIA, mesmo os tratados, apresentaram algum grau de degeneração articular visível na radiografia ao final do experimento (D28).

Vale ressaltar que tais alterações radiográficas são consideradas marcadores clássicos da OA em exames de imagem e geralmente refletem a cronicidade e a gravidade da doença. Ao mesmo tempo, a presença de alterações radiográficas mesmo nos animais tratados indica que o AINE forneceu alívio sintomático sem exercer efeito modificador de doença, um resultado análogo ao cenário clínico em que fármacos como os anti-inflamatórios aliviam dor em pacientes com OA, mas não estancam a deterioração estrutural das articulações.

Outro achado relevante foi a diferença na gravidade radiológica da OA entre os sexos. Ao comparar as radiografias de machos e fêmeas, observamos que as fêmeas desenvolveram lesões articulares mais severas do que os machos em igual intervalo de tempo. Estudos epidemiológicos e de imagem em pacientes mostram que mulheres, especialmente após a menopausa, sofrem perda de cartilagem em ritmo mais acelerado e têm maior frequência de osteófitos e alterações subcondrais em estágios comparáveis de OA

Os resultados corroboram essa dinâmica: o tratamento mostrou eficácia funcional nos primeiros dias (fase inflamatória aguda), mas a carga lesional acumulada ao longo de 28 dias foi equivalente entre tratados e não tratados, confirmando que a agressão articular química do MIA segue seu curso degenerativo independentemente do alívio sintomático oferecido pelo AINE.

De maneira geral, a convergência dos dados comportamentais e radiológicos neste estudo fortalece a conclusão de que o modelo de OA por MIA em ratos possui alta validade preditiva e de construto para estudos osteoartríticos. A validade preditiva fica evidente pelo fato de o modelo responder a um tratamento convencional de OA no caso, um AINE – de forma comparável ao esperado clinicamente, mostrando redução de sinais de dor nos animais tratados (ao menos nos machos).

## 8 PERSPECTIVAS FUTURAS

Para os próximos estudos, se torna válido explorar o uso de **terapias combinadas**, que associem anti-inflamatórios a tratamentos que atuem em mecanismos celulares específicos, como a microglia ou as células T. Isso poderia ajudar a não apenas aliviar a dor, mas também a evitar que a osteoartrite se desenvolva de forma mais severa ao longo do tempo. Outro ponto importante seria investigar as **diferenças entre os sexos** e como elas influenciam a resposta aos tratamentos, especialmente considerando os fatores neuroendócrinos e imunológicos. Entender essas variáveis pode nos ajudar a criar terapias mais direcionadas, levando em conta as particularidades de cada paciente. Além disso, estudar o efeito de intervenções em diferentes **estágios da doença** pode revelar se tratar a osteoartrite mais cedo resulta em benefícios maiores a longo prazo, permitindo que o tratamento seja mais eficaz. Com esses avanços, seria possível desenvolver novas abordagens terapêuticas que atendam de forma mais precisa as necessidades dos pacientes, considerando suas características biológicas e o estágio em que a doença se encontra.

## REFERÊNCIAS

ABRAMOFF, B.; CALDERA, F. E. Osteoarthritis. **Medical Clinics of North America**, v. 104, n. 2, p. 293–311, mar. 2020.

ABRAMOWICZ, S. et al. **Tissue-engineered vascularized patient-specific temporomandibular joint reconstruction in a Yucatan pig model**. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology*, v. 132, n. 2, p. 145–152, ago. 2021.

ACRI, T. M. et al. **Tissue engineering for the temporomandibular joint**. *Advanced healthcare materials*, v. 8, n. 2, p. e1801236, jan. 2019.

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

ARTUZI, F. E. et al. **Reduction of osteoarthritis severity in the temporomandibular joint of rabbits treated with chondroitin sulfate and glucosamine**. *PloS One*, v. 15, n. 4, p. e0231734, 2020.

BI, R. et al. **Identification of human temporomandibular joint fibrocartilage stem cells with distinct chondrogenic capacity**. *Osteoarthritis and Cartilage*, v. 28, n. 6, p. 842–852, jun. 2020.

BLIDDAL, H. [definition, pathology and pathogenesis of osteoarthritis]. *Ugeskrift for Laeger*, v. 182, n. 42, p. V06200477, 12 out. 2020.

COPE, P. J. et al. **Models of osteoarthritis: the good, the bad and the promising**. *Osteoarthritis and Cartilage*, v. 27, n. 2, p. 230–239, fev. 2019.

COUGO, M. C. R.; QUEVEDO, A. S. DE; PONZONI, D. **Modelos animais utilizados para o estudo da articulação temporomandibular**: revisão de literatura. 2021.

CUI, S.-J. et al. **Chronic inflammation deteriorates structure and function of collagen fibril in rat temporomandibular joint disc**. *International Journal of Oral Science*, v. 11, n. 1, p. 2, 20 fev. 2019.

DE SOUSA VALENTE, J. **The Pharmacology of Pain Associated With the Monoiodoacetate Model of Osteoarthritis**. *Frontiers in Pharmacology*, v. 10, 18 set. 2019.

DERWICH, M.; MITUS-KENIG, M.; PAWLOWSKA, E. **Orally Administered NSAIDs-General Characteristics and Usage in the Treatment of Temporomandibular Joint Osteoarthritis-A Narrative Review**. *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)*, v. 14, n. 3, p. 219, 5 mar. 2021.

FELIMBERTI, G. **Mecanismos de dor envolvidos na osteoartrite**: uma revisão sistemática.

FERNÁNDEZ-MARTÍN, S. et al. **Glucosamine and Chondroitin Sulfate: Is There Any Scientific Evidence for Their Effectiveness as Disease-Modifying Drugs in Knee**

Osteoarthritis Preclinical Studies?-A Systematic Review from 2000 to 2021. *Animals: an open access journal from MDPI*, v. 11, n. 6, p. 1608, 29 maio 2021.

FERNIHOUGH, J. et al. **Comportamento relacionado à dor em dois modelos de osteoartrite no joelho de ratos.** 2004.

FU, M. et al. **Global, regional, and national burdens of hip osteoarthritis from 1990 to 2019: estimates from the 2019 Global Burden of Disease Study.** *Arthritis Research & Therapy*, v. 24, n. 1, p. 8, dez. 2022.

HUNTER, D. J.; BIERMA-ZEINSTRAS, S. **Osteoarthritis.** *Lancet (London, England)*, v. 393, n. 10182, p. 1745–1759, 27 abr. 2019.

JUNIOR, A.; DE, S. **In vivo methods for the evaluation of anti-inflammatory and antinoceptive potential.** *BrJP*, v. 2, p. 386–389, 2 dez. 2019.

KELLGREN, J. H.; LAWRENCE, J. S. **Radiological assessment of osteo-arthrosis.** *Annals of the Rheumatic Diseases*, v. 16, n. 4, p. 494–502, dez. 1957.

KIM, H. et al. **Therapeutic effect of mesenchymal stem cells derived from human umbilical cord in rabbit temporomandibular joint model of osteoarthritis.** *Scientific Reports*, v. 9, n. 1, p. 13854, 25 set. 2019.

KHOTIB, J.; PRATIWI, A. P.; ARDIANTO, C.; RAHMADI, M. **Attenuation of IL-1 $\beta$  on the use of glucosamine as an adjuvant in meloxicam treatment in rat models with osteoarthritis.** *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, v. 30, n. 6, 11 jan. 2020.

KOLASINSKI, S. L. et al. **2019 American College of Rheumatology/Arthritis Foundation Guideline for the Management of Osteoarthritis of the Hand, Hip, and Knee.** *Arthritis Care & Research*, v. 72, n. 2, p. 149–162, fev. 2020.

LIAO, C.-R. et al. **Advanced oxidation protein products increase TNF- $\alpha$  and**

**IL-1 $\beta$  expression in chondrocytes via NADPH oxidase 4 and accelerate cartilage degeneration in osteoarthritis progression.** *Redox Biology*, v. 28, p. 101306, jan. 2020.

LUBRICH, C.; GIESLER, P.; KIPP, M. **Motor Behavioral Deficits in the Cuprizone Model: Validity of the Rotarod Test Paradigm.** *International Journal of Molecular Sciences*, v. 23, n. 19, p. 11342, 26 set. 2022.

MAZUQUELI PEREIRA, E. DE S. B. et al. **Photobiomodulation inhibits inflammation in the temporomandibular joint of rats.** *Journal of Photochemistry and Photobiology. B, Biology*, v. 222, p. 112281, set. 2021.

MONTEIRO, J. L. G. C. et al. **Induction, Treatment, and Prevention of Temporomandibular Joint Ankylosis-A Systematic Review of Comparative Animal Studies.** *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery: Official Journal of the American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons*, v. 79, n. 1, p. 109- 132.e6, jan. 2021.

MOGIL, J. S. **Sex differences in pain and pain inhibition: multiple explanations of a controversial phenomenon.** *Nature Reviews Neuroscience*, v. 13, p. 859–866, 2012. <https://doi.org/10.1038/nrn3360>.

NICOT, R. et al. **A Systematic Review of Rat Models With Temporomandibular Osteoarthritis Suitable for the Study of Emerging Prolonged Intra-Articular Drug Delivery Systems.** *Journal of Oral and*

*Maxillofacial Surgery: Official Journal of the American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons*, v. 79, n. 8, p. 1650–1671, ago. 2021.

PACCA, D. M. et al. **PREVALENCE OF JOINT PAIN AND OSTEOARTHRITIS IN OBESE BRAZILIAN POPULATION.** *Arquivos brasileiros de cirurgia digestiva: ABCD = Brazilian archives of digestive surgery*, v. 31, n. 1, p. e1344, 1 mar. 2018.

PITCHER, T.; SOUSA-VALENTE, J.; MALCANGIO, M. **The Monoiodoacetate Model of Osteoarthritis Pain in the Mouse.** *Journal of Visualized Experiments: JoVE*, n. 111, p. 53746, 16 maio 2016.

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

QUICKE, J. G. et al. **Osteoarthritis year in review 2021: epidemiology & therapy.** *Osteoarthritis and Cartilage*, v. 30, n. 2, p. 196–206, fev. 2022.

REUMATOLOGIA, S. B. DE. **Osteoartrite (Artrose).** *Sociedade Brasileira de Reumatologia*, 31 ago. 2022. Disponível em: <<https://www.reumatologia.org.br/doencas-reumaticas/osteoartrite-artrose/>>. Acesso em: 22 mar. 2024

RODRIGUES, M. S. **ANÁLISE DA AÇÃO ANALGÉSICA DA *Borreria verticillata* (L.) G. Mey. EM MODELO EXPERIMENTAL DE.** 2019.

ROTPENPIAN, N. et al. **Evolution of mirror-image pain in temporomandibular joint osteoarthritis mouse model.** *Journal of applied oral science: revista FOB*, v. 29, p. e20200575, 2021.

SANTOS, M. G. D. et al. **Influence of knee osteoarthritis on functional performance, quality of life and pain in older women.** *Fisioterapia em Movimento*, v. 33, p. e003306, 2020.

SERRA, C. I.; SOLER, C. **Animal Models of Osteoarthritis in Small Mammals.** *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice*, v. 22, n. 2, p. 211–221, maio 2019.

SOPHOCLEOUS, A.; HUESA, C. **Osteoarthritis Mouse Model of Destabilization of the Medial Meniscus.** *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, v. 1914, p. 281–293, 2019.

SOUZA, F. M. D. et al. **Análise das características epidemiológicas e hospitalares da osteoartrite referente aos casos registrados no Brasil nos últimos 5 anos.** *Research, Society and Development*, v. 11, n. 16, p. e292111638383, 8 dez. 2022.

TREVISAN, M. S. **UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GERONTOLOGIA.** [s.d.].

WANG, L.-J. et al. **Post-traumatic osteoarthritis following ACL injury.** *Arthritis Research & Therapy*, v. 22, n. 1, p. 57, dez. 2020.

XIANG, T. et al. **Animal Models of Temporomandibular Disorder.** *Journal of Pain Research*, v. Volume 14, p. 1415–1430, 26 maio 2021.

XU, J. et al. **Osteoarthritis Pain Model Induced by Intra-Articular Injection of Mono-Iodoacetate in Rats.** *Journal of Visualized Experiments: JoVE*, n. 159, 20 maio 2020.

YU, H. et al. **Osteoarthritis Pain.** *International Journal of Molecular Sciences*, v. 23, n. 9, p. 4642, 22 abr. 2022.

ZAKI, S.; BLAKER, C. L.; LITTLE, C. B. **OA foundations – experimental models of osteoarthritis.** *Osteoarthritis and Cartilage*, v. 30, n. 3, p. 357–380, mar. 2022.

## ANEXOS



RAFAEL CARDOSO CARVALHO &lt;carvalho.rafael@ufma.br&gt;

---

**Submission Confirmation**

1 mensagem

---

**Veterinary World** <noreply@ejmanager.com>  
Para: carvalho.rafael@ufma.br

28 de fevereiro de 2025 às 12:08

Dear Rafael Cardoso Carvalho,

Your submission entitled **Osteoarthritis In an Experimental Model: Relation Between Radiological Parameters and Behavioral Tests for the Evaluation and Characterization of Experimental Osteoarthritis In Rats** (Manuscript Number: VETWORLD-2025-02113) has been received by **Veterinary World**.

You could follow status of your manuscript by login to your author account at [www.ejmanager.com](http://www.ejmanager.com).

Thank you for submitting your work to our journal.

Best regards,

Editor  
Veterinary World

<http://www.veterinaryworld.org>

-----

-----  
JOURNAL CONTACT EMAIL: [editorveterinaryworld@gmail.com](mailto:editorveterinaryworld@gmail.com)

AUTHOR LOGIN: <https://www.ejmanager.com/my/vetworld>

REVIEWER LOGIN: <https://www.ejmanager.com/reviewers/>

EDITOR LOGIN: <https://www.ejmanager.com/editors/>

IMPORTANT: USE JOURNAL CONTACT EMAIL for your messages. Do not answer to this email. **AUTHOR TOOLS :: AI-Powered Language Editing and Improvement for scientific articles.** \*\*\*\*\*

**Osteoarthritis In an Experimental Model: Relation Between Radiological Parameters and Behavioral Tests for the Evaluation and Characterization of Experimental Osteoarthritis In Rats**

<b>Journal Name :</b>	Veterinary World
<b>Manuscript ID :</b>	2-1740750554
<b>Manuscript Type :</b>	Original Research
<b>Submission Date :</b>	28-Feb-2025
<b>Abstract :</b>	Osteoarthritis (OA) is a chronic degenerative osteoarticular disease that causes pain, stiffness, and limited joint function, being one of the leading causes of disability in the elderly. The aim of this study was to radiologically characterize experimental OA in rats and correlate these findings with behavioral analyses. A total of 36 rats were used, divided into six groups, including healthy male and female controls, as well as groups subjected to an experimental OA protocol, with and without treatment using nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs). On experimental days 0, 7, 14, 21, and 28, behavioral and motor function tests—including weight-bearing, rotarod, and Von Frey assessments—were conducted alongside radiological examinations. The results indicated that after 28 days, there was an improvement in forced ambulation capacity and nociceptive threshold among groups, with no statistically significant differences between treated and untreated groups, nor between male and female subjects. The main radiological findings included joint space narrowing, subchondral bone sclerosis, and marginal osteophytes. It was concluded that radiographic findings may have little correlation with the symptoms presented by the animals, particularly when related to behavioral motor function tests.
<b>Keywords :</b>	experimental osteoarthritis; radiological examination; motor skills.

For your questions please send message to [editorveterinaryworld@gmail.com](mailto:editorveterinaryworld@gmail.com)

**CERTIFICADO** (07/2023)

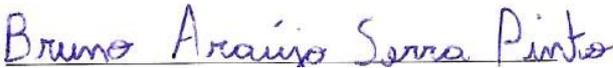
Certificamos que a proposta intitulada: **“Osteoartrite em modelo experimental: estabelecimento de parâmetros morfológicos e radiológicos, associados aos testes de motricidade, para avaliação e caracterização da evolução da osteoartrite induzida por MIA em ratos”** Processo 23115.002825/2023-71, sob a responsabilidade do **Prof. Dr. Rafael Cardoso Carvalho**, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi considerado **APROVADO** pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA - UFMA) da Universidade Federal do Maranhão, na reunião realizada em 14 de abril de 2023.

We certify that the proposal: **“Osteoarthritis in an experimental model: establishment of morphological and radiological parameters, associated with motor tests, for the evaluation and characterization of the evolution of osteoarthritis induced by MIA in rats”**, Process 23115.002825/2023-71, under the responsibility of **Prof. Dr. Rafael Cardoso Carvalho**, which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, sub phylum Vertebrata (except humans beings) for scientific research purposes (or teaching) - is in accordance with Law No. 11,794, of October 8, 2008, Decree No. 6.899, of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **APPROVED** by the Ethics Committee on Animals Use of the Federal University of Maranhão (CEUA - UFMA), in meeting of April 14, 2023.

<b>PROPOSTA</b>			
<b>Finalidade:</b>	<b>Pesquisa</b>	<b>Área:</b>	<b>Ciências da Saúde</b>
<b>Vigência:</b>	<b>01/09/2024 a 31/08/2027</b>		
<b>ANIMAIS</b>			
<b>Origem:</b>	Biotério Central da UFMA		
<b>Espécie:</b>	<b>Rattus norvegicus Wistar</b>	<b>Sexo:</b>	<b>Ambos sexos</b>
		<b>Idade:</b>	<b>60 dias</b>
		<b>Peso:</b>	<b>200-300g</b>
			<b>AMOSTRA</b>
			<b>66 ratos</b>
			<b>66 ratas</b>

**Local do experimento:** Biotério Setorial da Pós-Graduação do CCBS/UFMA.

São Luís, 24 de abril de 2023

  
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais



Documento assinado digitalmente

BRUNO ARAUJO SERRA PINTO

Data: 24/04/2023 12:31:29-0300

Verifique em <https://validar.it.gov.br>