

ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA DA GALACTOMANA DE *Delonix regia* EM MODELO ANIMAL DE OSTEOARTRITE INDUZIDA POR MONOIODOACETATO DE SÓDIO NA ARTICULAÇÃO TÍBIO-TARSAL DE RATOS

¹ Francisco Glerison da Silva Nascimento; ¹ Francisco Wildson da Silva Maia; ¹ Pedro Henrique de Souza Ferreira Bringel; ¹ Rondinelle Ribeiro Castro; ¹ Ana Maria Sampaio Assereuy.

¹ Instituto Superior de Ciências Biomédicas, Universidade Estadual do Ceará; glerison1@hotmail.com; wildsonfs97@gmail.com; phbringel@hotmail.com; rondijc@yahoo.com.br; anassereuy@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Artropatias crônicas estão entre as principais causas de incapacidade funcional humana. Inclusas nesse grupo se encontram a osteoartrite, a mais prevalente delas. Esta é um distúrbio musculoesquelético com degeneração da cartilagem e osso subcondral, acompanhada geralmente de dor na articulação (BELLAMY; SOTHERN; CAMPBELL, 1990), sendo muito mais prevalente do que a rigidez e incapacidade. Os tratamentos convencionais empregam anti-inflamatórios não esteroidais, para alívio sintomático, minimizando assim os efeitos incapacitantes (ZENG et al., 2017).

Estudos de nosso grupo de pesquisa (CASTRO et al., 2007; 2016) sugerem o papel condroprotetor para a galactomanana de *Cyamopsis tetragonolobus* (guar), um polissacarídeo neutro. Todavia esta galactomanana é obtida de uma árvore asiática, fato que impossibilita o uso *in natura* de suas sementes, e restringe sua obtenção a matérias-primas comercialmente disponíveis. A evidência de efeitos benéficos da galactomanana de guar motiva a pesquisa com galactomananas obtidas de fontes vegetais disponíveis no território cearense. Dessa forma, este trabalho avaliou o potencial antinociceptivo das galactomananas de *Delonix regia* (GM-DR) (flamboyant) em modelo experimental de osteoartrite induzida por monoiodoacetato de sódio (MIA) em ratos.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

O presente trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética para uso de animais (CEUA) da Universidade Estadual do Ceará (UECE) com número de protocolo 4746404/2016. Ratos Wistar machos (200 – 220g), sob efeito sedativo (xilazina 5 mg/kg + cetamina 50 mg/kg, i.m.) receberam NaCl a 0,9% (salina estéril) ou monoiodoacetato de sódio (MIA; 1 mg/25 µl de salina), na

articulação tíbio-tarsal esquerda (GUZMAN, 2003). Para avaliar a hipernocicepção, os animais foram colocados individualmente em caixas de acrílico com assoalho de rede de malha não maleável, sendo aplicada no centro da planta da pata uma pressão com sonda de área larga (4,15 mm²) acoplada a um analgesímetro digital, a fim de provocar flexão articular e retirada da pata. A resposta de retirada da pata foi avaliada imediatamente antes da indução (tempo zero), diariamente do 1º dia ao 56º dia de indução.

A hipernocicepção no modelo foi validada mediante administração de lidocaína 2% (100 µL; s.c), morfina (4 mg/kg, i.p.) e indometacina (5mg/kg, i.p.), 30 minutos antes do menor valor de pressão de retirada exibido. Para avaliação de edema, os diâmetros articulares foram monitorados com paquímetro digital durante 56 dias. A galactomanana de *Delonix regia* (GM-DR) foi dissolvida em água (30 ou 100ug/25ul) e administradas por via intra-articular (i.art) em pós-tratamento no 14º dia após indução com monoiodoacetato de sódio.

3. RESULTADOS

A injeção intra-articular de MIA na articulação tíbio-tarsal reduziu significativamente a pressão necessária para provocar a retirada da pata, desde a segunda hora até o 56º dia de indução (Figura-1A). A injeção de MIA também desencadeou edema, evidenciado pelo aumento do diâmetro articular (Figura-1B), o qual se resolve parcialmente a partir do 14º dia de indução.

O tratamento subcutâneo com lidocaína 2%, no local de estímulo da sonda, não alterou o perfil da hipernocicepção no modelo (Figura-2A). Conforme mensurado no 14º dia de indução, morfina (42,02 ± 5,50 g) e indometacina (44,87 ± 2,24 g) reverteram o quadro hipernociceptivo provocado pela injeção intra-articular de monoiodoacetato de sódio (22,16 ± 2,10 g) (Figura-2B e 2C). O tratamento intra-articular na articulação tíbio-tarsal com galactomananas de *Deloniz regia* (GM-DR), reverteu a hipernocicepção induzida por MIA, tanto na concentração de 30 µg/art (dias: 15,17-19 e 21) como a 100 µg/art (dias: 15 – 21), (Figura-2D).

Figura 1 – Efeito hipernociceptivo e edematogênico do MIA na articulação tíbio-tarsal de ratos. MIA foi administrado localmente (■) (1mg/25 ul, i. art.). Grupo controle recebeu salina (□). (A) Curso temporal da hipernocicepção. (B) Curso temporal do edema articular. Dados representam média EPM (n=6-7). *p<0,05; vs salina (two-way ANOVA, teste de Bonferroni).

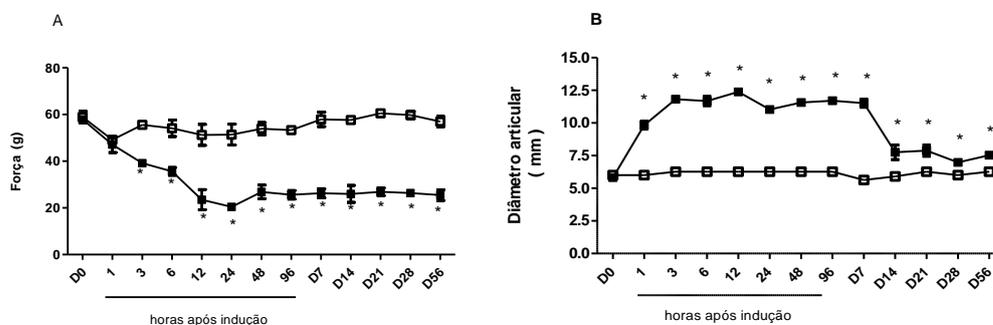
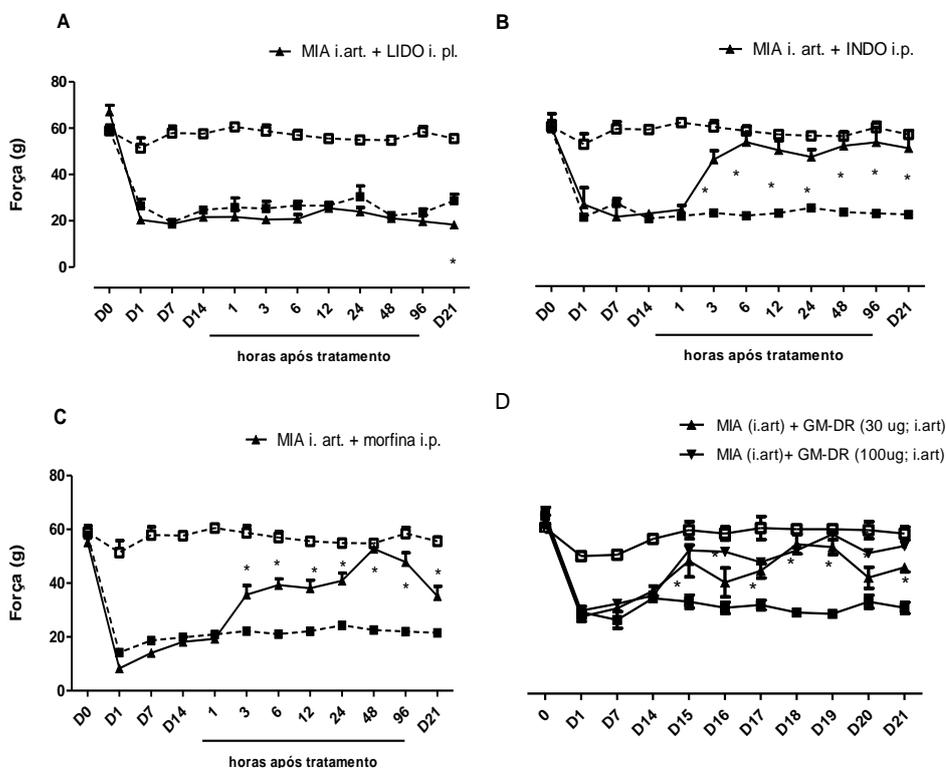


Figura 2 – Hipernocicepção tíbio-tarsal induzida por MIA e tratamento com GM-DR. Animais receberam salina i.art. (□) ou MIA (■) (1mg/25ul i. art.). Estes foram tratados, no 14º dia, com dose única de (A) lidocaína 2% (100 µl, s.c.), (B) indometacina (5 mg/kg, i.p.), (C) morfina (4 mg/kg, i.p.), (D) GM-DR (30µg/art) e (E) GM-DR (100µg/art). Grupos não tratados receberam veículo. Dados representam média ± EPM (n=6-7). *p<0,05 vs MIA (two-way ANOVA, teste de Bonferroni).



4. DISCUSSÃO

Os processos fisiopatológicos associados à osteoartrite são complexos e não suficientemente compreendidos. O modelo de osteoartrite com monoiodoacetato de sódio já é bem estabelecido e tem sido bastante utilizado em número diferente de espécies, tais como cavalos, coelhos, camundongos e ratos (VAN DER CRAN et al., 1989; WILLIAMS & BRANDT, 1985; PENRAAT et al., 2000; HOEDT-SCHIMIDT, SCHNEIDER, KALBHEN, 1993). A injeção intra-articular de (MIA) resulta em inibição da enzima gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase da via glicolítica, resultando em interrupção do metabolismo de condrócitos e eventual morte celular. Esta perda progressiva de condrócitos resulta em alterações histológicas que mimetizam diversas características notadas na OA humana, incluindo colapso da matriz cartilaginosa, fibrilação e formação de osteófitos (KALBHEN, 1987; VAN DE CRAN et al., 1989).

O presente estudo caracterizou, na OA induzida por MIA em ratos, a hipernocicepção evocada pela flexão da pata, assemelhando-se a descrições prévias (COMBE, BRAMWELL, FIEL, 2004; BOVE et al., 2003; GUZMAN ET AL., 2003). Demonstramos que a hipernocicepção verificada no modelo parece não ser devida à ativação de mecanorreceptores cutâneos, uma vez que aplicação de lidocaína 2% não reverteu a hipernocicepção, descartando a participação da ativação de mecanorreceptores no local de aplicação da pressão, no fenômeno de retirada da pata. Mais ainda, o efeito da administração de analgésicos clássicos como a morfina, um analgésico opióide que age por vias nervosas centrais, e anti-inflamatórios não esteroidais como a indometacina, argumentam a favor de um quadro hipernociceptivo.

O quadro de hipernocicepção observado no modelo se inicia na primeira hora e se mantém por até 56 dias. A cronicidade da hipernocicepção observada em nossos dados corroboram os achados de Combe e colaboradores (2004). Em trabalhos anteriores a administração intra-articular de MIA provocou claras evidências histológicas de processo inflamatório local, uma vez observados os fenômenos de espessamento significativo da membrana sinovial, com larga quantidade de infiltrado celular e edema com fluido proteináceo, fibrina com macrófago infiltrante, neutrófilos, macrófagos e linfócitos, já no primeiro dia após indução. As referidas características atenuaram-se a partir do sétimo ao décimo quarto dia, onde houve ausência de qualquer evidência histológica de processo inflamatório (BOVE et al., 2003). No nosso modelo, o edema articular pode ser visualizado em todo o período analisado.

A injeção intra-articular da galactomanana de *Delonix regia* (GM-DR), nas concentrações de 30 e 100µg/art., reverteu o quadro hipernociceptivo induzido pelo MIA. Optou-se por aplicar galactomanana desproteïnizada, visando evitar reações inflamatórias locais relatadas em trabalhos anteriores (CASTRO et al., 2006). Apesar da falta de efeitos colaterais sistêmicos relatados com a administração intra-articular de polissacarídeos como os derivados do ácido hialurônico, costumam ser relatadas ocorrências de dor local e reações de efusão (KEMPER et al., 2005). Atribui-se tais reações a problemas na administração, resultando em vazamento em estruturas periarticulares. Nos grupos tratados com GM-DR, a antinocicepção começa a ser observada no dia seguinte à aplicação, de modo que a ausência de efeito imediato seja explicada por possíveis reações locais. De fato, o tratamento intra-articular com galactomanana de guar em ratos submetidos à transecção do ligamento cruzado anterior exhibe semelhante comportamento (CASTRO et al., 2007).

5. CONCLUSÕES

A galactomanana de *Delonix regia* (GM-DR) apresenta atividade antinociceptiva no modelo de osteoartrite induzida por monoiodoacetato de sódio em ratos, sugerindo sua utilização como terapia farmacológica em estados hipernociceptivos da osteoartrite.

6. REFERÊNCIAS

BELLAMY, N.; SOTHERN R,B; CAMPBELL, J. Rhythmic variations in pain perception in osteoarthritis of the knee. **Journal of Rheumatology**. 1990; 17: 364-72.

BOVE, S.E., CALCATERRA, S.L., BROOKER,R.M., HUBER,C.M., GUZMAN, R.M., JUNEAU,P.L., SCHRIER, D.J., KILGORE, K.S. Weight bearing as a measure of disease progression and efficacy of anti-inflammatory compounds in a model of monosodium iodoacetate-induced osteoarthritis. **Osteoarthritis and Cartilage**. 2003; (11): 821-830.

CASTRO, R.R.; SILVA, C.M.; NUNES R.M.; CUNHA P.L.; DE PAULA, R.C; GIRÃO, V.C.; POMPEU, M.M.; LEITE, J.A.; ROCHA, F.A. Structural characteristics are crucial to the benefits of guar gum in experimental osteoarthritis. **Carbohydrate Polymers**. 2016; 150:392-399.

CASTRO, R. R.; FEITOSA, J. P. A.; CUNHA, P. L. R.; ROCHA, F. A. C. Analgesic activity of a polysaccharide in experimental osteoarthritis in rats. **Clinical Rheumatology**. 2007; 26 (8):1312-1319.

COMBE, RACHEL., BRAMWEL, S., FIEL, MARK J. The monosodium iodoacetate model of osteoarthritis: a model of chronic nociceptive pain in rats? **Neuroscience letters**. 2004; (270):236-240.

GUZMAN, ROBERTO E., et al. "Mono-iodoacetate-induced histologic changes in subchondral bone and articular cartilage of rat femorotibial joints: an animal model of osteoarthritis." **Toxicologic Pathology**. 2003; 31.(6): 619-624.

HAWLEY DJ, WOLFE F. Pain, disability and pain/disability relationships in seven rheumatic disorders: a study of 1,522 patients. **Journal of Rheumatology**. 1991;18:155-207.

HOEDT-SCHMIDT S, SCHNEIDER B, KALBHEN DA. Histomorphological studies on the effect of recombinant human superoxide dismutase in biochemically induced osteoarthritis. **Pharmacology**. 1993; 47:252–60.

KALBHEN, DA. Chemical model of osteoarthritis a pharmacological evaluation. **Rheumatology**. 1987; 14:130–1.

KEMPER F, GEBHARDT U, MENG T, MURRAY C. Tolerability and short-term effectiveness of hylan G-F 20 in 4253 patients with osteoarthritis of the knee in clinical practice. **Curr Med Res Opin**. 2005; 21:1261–1269.

PENRAAT JH, ALLEN AL, FRETZ PB, BAILEY JV. An evaluation of chemical arthrodesis of the proximal interphalangeal joint in the horse by using monoiodoacetate. **Can J Vet Res** 2000; 64:212–21.

SHEN, C.-L.;B. J. SMITH, D.-F. LO et al., "Dietary polyphenols and mechanisms of osteoarthritis," **Journal of Nutritional Biochemistry**. 2012; 23(11):1367–1377.

VAN DER KRAAN PM, VITTEERS EL, VAN DE PUTTE LBA, VAN DEN BERG WB. Development of osteoarthritic lesions in mice by 'Metabolic' and 'Mechanical' alterations in the knee joints. **Am J Pathol**. 1989; 35:1001–14.

WILLIAMS JM, BRANDT KD. Triamcinolone hexacetonide protects against fibrillation and osteophyte formation following chemically induced articular cartilage damage. **Arthritis Rheum**. 1985 ; 28:1267–74.

ZENG, LI., et al. Chondroprotective Effects and Multitarget Mechanisms of Fu Yuan Capsule in a rat Osteoarthritis Model. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**. 2017.