

AVALIAÇÃO DO PAPEL DOS MASTÓCITOS NA RESPOSTA NOCICEPTIVA E EDEMATOGÊNICA EM MODELO DE GOTA INDUZIDA EM RATOS

SAUZEM, Patrícia Dutra¹; HOFFMEISTER, Carin Gorete Hendges², SILVA, Carine Viana³, SCHMITT, Bruna Aimée Meinen⁴, BECK, Veronica Rubert⁴

Palavras-Chave: Gota. Ácido úrico. Inflamação. Dor.

Introdução

A gota é um tipo de artrite inflamatória descrita desde a antiguidade e o número de casos ainda está crescendo nos últimos trinta anos (Choi et al., 2005). Trata-se de um distúrbio do metabolismo das purinas que acarreta níveis anormalmente altos de ácido úrico no sangue e deposição de cristais de ácido úrico nas articulações. A dor e limitação funcional são sintomas da gota que parecem ser provocados pela precipitação de cristais de urato monossódico (MSU) nas articulações, formando abscessos. Esse acúmulo pode ocorrer tanto por uma superprodução quanto por uma baixa excreção de ácido úrico ou, mais provavelmente, por uma combinação de ambos (Wortmann et al., 2005). Atualmente, o tratamento da fase aguda da gota, é feito com colchicina, antiinflamatórios não esteroidais e/ou corticóides (Wortmann 2005). Já para o tratamento crônico, a terapia consiste em anti-hiperuricêmicos tais como alopurinol e probenecida (Keith e Gilliland, 2007). Tanto os fármacos usados no tratamento das crises agudas como no tratamento crônico produzem sérios efeitos adversos em uma grande parcela dos tratamentos, dificultando o tratamento da doença. É importante ressaltar que não se conhece exatamente o mecanismo de geração e manutenção da gota, embora alguns componentes celulares já sejam reconhecidos como participantes no processo, dentre eles estão os mastócitos (Nissalo, 2002). Além disso, tem sido relatado que o MSU é capaz de degranular essas células (Getting et al., 1997) e que a sua ativação em seres humanos e roedores conduz à liberação de diversas enzimas e mediadores pro-inflamatórios, como a serotonina, a histamina e a triptase (Metcalf, 1997). Entretanto, não é conhecido se os mastócitos tem um papel na nocicepção e edema produzidos pela administração intra-articular de MSU (modelo experimental de gota). Portanto, o presente trabalho teve por objetivo investigar o possível papel dos mastócitos nesse modelo, a fim de contribuir para um

¹Orientadora, docente da UNICRUZ;

²Departamento de farmacologia da UFSM;

³Docente da UNICRUZ;

⁴Acadêmica do curso de biomedicina da UNICRUZ, bolsista PAPCT/UNICRUZ;

⁵Acadêmica do curso de Farmácia, bolsista PIBIC/UNICRUZ

melhor entendimento dos mecanismos da gota e, assim, fornecer subsídios para o desenvolvimento de novas alternativas terapêuticas para o tratamento dessa doença.

Metodologia

Foram utilizados ratos Wistar adultos (200-300 g) provenientes do biotério da UFSM, os quais foram submetidos a um modelo experimental de gota induzida pela injeção intra-articular de cristais de MSU (1,25mg/25 μ l) dissolvidos em tampão fosfato pH 7.4. Os experimentos foram conduzidos de acordo com orientações éticas para o uso de animais de laboratório. Os cristais de MSU sintético foram preparados de acordo com Rassool (2006). Posteriormente, MSU foi injetado dentro da articulação tibiotarsal (tornozelo), sob anestesia com halotano. Após a injeção de MSU os animais foram observados quanto à presença de nocicepção espontânea, hiperalgesia térmica, alodínia mecânica e edema da pata ipsilateral à injeção. Para verificação da nocicepção espontânea, os ratos foram habituados no local de observação, durante 20 minutos e, a seguir, o comportamento apresentado pelos animais foi avaliado em 1h e 4h após os tratamentos. O desenvolvimento de dor espontânea foi avaliado utilizando o escore descrito por Butler et al (1992). A hiperalgesia térmica foi avaliada pelo teste plantar de Hargreaves (Hargreaves e colaboradores, 1988), medida 1h e 4h após a administração intra-articular dos tratamentos, sendo considerada como hiperalgesia térmica a diminuição na latência de retirada da pata do contato com a fonte de calor. A presença de alodínia mecânica foi investigada pelo teste de von Frey, sendo o limiar para detecção do estímulo mecânico avaliado pelo método *up-and-down*, segundo Chaplan et al. (1994). Nesse teste, uma redução no limiar de resposta mecânica é considerado um sinal de nocicepção. A avaliação do edema foi realizada pela medida da espessura da articulação do tornozelo, com o auxílio de um micrometro digital. Para investigar a participação de mastócitos nas respostas nociceptivas e na resposta edematogênica causada pelo MSU, os ratos foram previamente tratados com o composto 48/80, um desgranulador de mastócitos (Andrade et al; 2008). Esse experimento foi realizado para confirmar a presença de mastócitos na articulação. Em um outro experimento, os ratos foram tratados por via sistêmica (ip) com cromoglicato de sódio, um estabilizador da membrana de mastócitos (Mori et al; 2003). Nesses grupos foram realizados os mesmos testes descritos para a verificação do efeito do MSU intra-articular. Os dados foram analisados pelo teste T e considerados significativos quando $p < 0,05$. O número de animais por grupo foi de 4-5.

Resultados e Discussões

A injeção intra-articular de MSU causou nocicepção (aumento do escore de nocicepção espontânea, hiperalgesia térmica e alodínia) e também edema na pata ipsilateral à injeção. Na figura 1, podemos verificar que os mastócitos parecem não estar envolvidos na geração da resposta nociceptiva na articulação, uma vez que o desgranulador de mastócitos, composto 4880, não foi capaz de alterar nenhum dos parâmetros indicativos de nocicepção analisados. Porém, o composto 4880 causou edema da articulação, sugerindo que os mastócitos tem algum papel na resposta inflamatória nesse local. Já na figura 2, podemos ver que o cromoglicato, um estabilizador da membrana de mastócitos, não foi capaz de reverter o edema produzido pelo composto 4880, indicando que outros mediadores podem estar envolvidos nessa resposta inflamatória na articulação. Tendo em vista que o composto 4880 não foi capaz de causar nocicepção significativa quando injetado na articulação dos ratos, é provável que exista pequena quantidade dessas células no espaço sinovial. Além disso, o estabilizador da membrana de mastócitos não foi capaz de reverter o discreto edema causado pelo composto 4880. Sendo assim, os experimentos envolvendo o papel dos mastócitos na resposta nociceptiva e edematogênica não foram realizados já que essas células parecem não estar presentes em quantidade significativa na articulação.

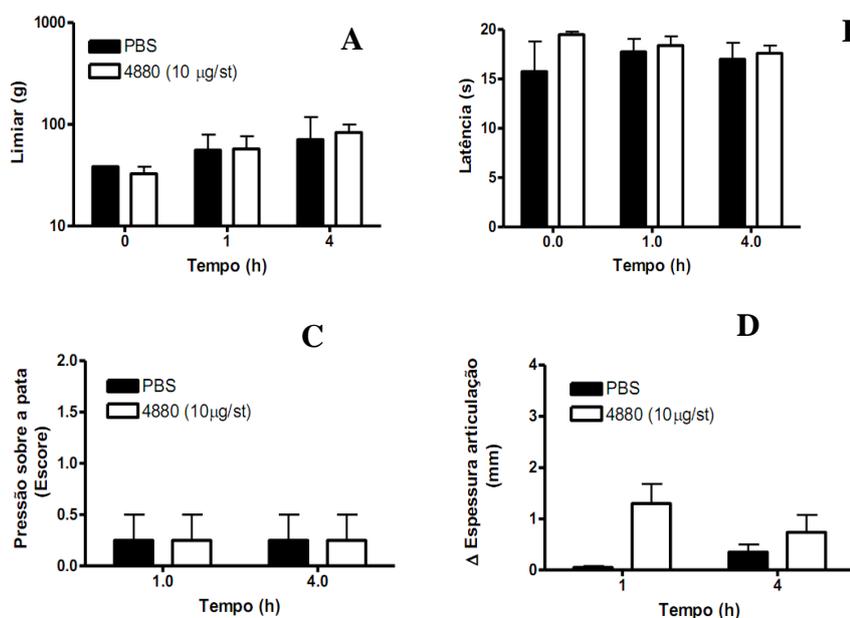


Figura 1 – Efeito da injeção intra-articular de composto 4880 sobre a nocicepção e o edema. **(A)** Limiar de resposta ao estímulo mecânico (teste de von Frey). **(B)** Latência de resposta ao estímulo térmico (teste plantar de Hargreaves). **(C)** Nocicepção espontânea. **(D)** Edema da articulação. * $p < 0,05$ em relação ao controle (teste T). PBS=controle

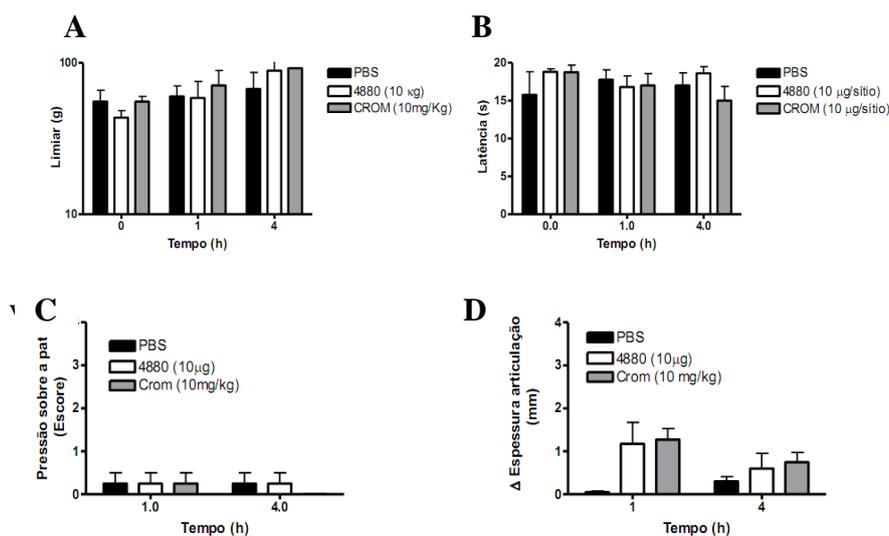


Figura 2 – Efeito da administração de cromoglicato sobre a nocicepção e o edema sob o edema. **(A)** Limiar de resposta ao estímulo mecânico (teste de von Frey). **(B)** Latência de resposta ao estímulo térmico (teste plantar de Hargreaves). **(C)** Nocicepção espontânea. **(D)** Edema da articulação. * $p < 0,05$ em relação ao controle (teste T). PBS=controle

Conclusão

Os resultados obtidos no presente estudo indicam que os mastócitos não podem ser os responsáveis pela nocicepção induzida pela injeção intra-articular de MSU em ratos. Desta forma, são necessários mais estudos para esclarecer o mecanismo de produção de dor nesse modelo.

Referências

- CHOI, HK *et al.* Pathogenesis of gout. **Ann Intern Med** 143: 499-516, 2005.
- WORTMANN RL. Recent advances in the management of gout and hyperuricemia. **Curr Opin Rheumatol** 17:319-324, 2005.
- KEITH, MP & GILLILAND, WR. Updates in the Management of Gout. **Am J Med** 120:221-224, 2007.
- NISSALO, S *et al.* Neuropeptides in experimental and degenerative arthritis. **Ann NY Acad Sci** 966:384-399, 2002.
- GETTING, SJ *et al.* Molecular Determinants of monosodium urate crystals-induced murine peritonitis: A role for endogenous mast cells and a distinct requirement for endothelial-derived selectins. **J Pharmacol Exp Ther** 283:123-130, 1997.
- RASSOOL, M & VARALAKSHMI, P. Suppressive effect of Withania somnifera root powder on experimental gouty arthritis: An in vivo and in vitro study. **Chem Biol Interact** 3: 174-180, 2006.
- ANDRADE, EL *et al.* Pronociceptive response elicited by TRPA1 receptor activation in mice. **Neuroscience** 152:511- 520, 2008.
- MORI, S *et al.* Nafamostat mesilate is an extremely potent inhibitor of human tryptase. **J Pharmacol Sci** 92:420-423, 2003

CHAPLAN, SR *et al.* Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw. **J Neurosci Meth** 53:55-63, 1994.

HARGREAVES, KM *et al.* Bradykinin is increased during acute and chronic inflammation: therapeutic implications. **Clin Pharmacol Ther** 44:613-21, 1988.

METCALFE, DD *et al.* Mast cells. **Physiol Rev** 77:1033-107, 1997.