

**JOÃO MIGUEL LOUREIRO FARIA GUERREIRO DE DEUS**

**NANOTECNOLOGIA NA DOR ARTICULAR**

**Orientação: Professora Doutora Catarina Pinto Reis**

**UNIVERSIDADE LUSÓFONA DE HUMANIDADES E TECNOLOGIAS**

**Escola de Ciências e Tecnologias da Saúde**

**LISBOA**

**2014**



**JOÃO MIGUEL LOUREIRO FARIA GUERREIRO DE DEUS**

## **NANOTECNOLOGIA NA DOR ARTICULAR**

Dissertação de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas apresentada  
na Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias/Escola de Ciências  
e Tecnologias da Saúde

**Orientação: Professora Doutora Catarina Pinto Reis**

**UNIVERSIDADE LUSÓFONA DE HUMANIDADES E TECNOLOGIAS**

**Escola de Ciências e Tecnologias da Saúde**

**Lisboa**

**2014**

*“Simplicity is the ultimate sophistication.”*

*Leonardo da Vinci*

## **Dedicatória**

A presente dissertação é dedicada aos meus pais que me proporcionaram a possibilidade de concretizar um dos meus grandes objectivos de vida.

A eles lhes dedico todo o esforço e dedicação empregues na elaboração da presente monografia.

## **Agradecimentos**

Os principais agradecimentos recaem sobre os meus pais e irmão. A eles lhes agradeço todo o apoio demonstrado ao longo destes 5 anos de curso.

Agradeço ainda ao maravilhoso corpo docente que me facultou todos os seus conhecimentos científicos e aprendizagens de vida, o que faz hoje garantidamente uma pessoa mais versátil e culta.

Um agradecimento especial à Professora Doutora Catarina Pinto Reis que desde o início me incentivou a explorar a área industrial das Ciências Farmacêuticas, o que culminou com a presente dissertação no âmbito da Nanotecnologia.

Por fim, um agradecimento dirigido a todos aqueles que estiveram presentes e acreditaram em mim desde o primeiro dia.

Este é um investimento que sem dúvida será retribuído a todos que, juntamente comigo, participaram nesta longa caminhada. A todos os envolvidos o meu muito obrigado.

## Resumo

A dor articular é o principal sintoma e problema mais amplamente descrito nas pessoas com osteoartrite. Esta patologia envolve a totalidade da articulação com um significativo impacto na qualidade de vida dos doentes, resultando em funções debilitadas e num profundo absentismo. Caracterizada patologicamente pelas alterações estruturais e processos inflamatórios, a dor articular permanece como a condição incapacitante mais reportada aos médicos. É, por isso, descrita como uma doença multifactorial influenciada principalmente pela idade e obesidade, ainda que a predisposição genética pareça contribuir para o seu desenvolvimento e progressão. A dor articular ao nível do joelho é largamente citada na literatura como a perturbação articular que mais frequentemente leva os doentes a procurar os cuidados médicos. Terapêuticas comuns baseadas no paracetamol, AINEs, opióides e procedimentos cirúrgicos são alternativas terapêuticas no alívio da dor, mas a segurança destas é uma barreira complexa devido aos efeitos adversos e processo invasivos, respectivamente. As terapias não-farmacológicas também estão incluídas nas recentes *guidelines*, com resultados comprovados. Contudo, o desenvolvimento de novos sistemas de veiculação de fármacos é o objectivo principal das indústrias farmacêuticas. A Nanotecnologia tem uma enorme importância no desenvolvimento de formulações mais eficazes cuja a principal vantagem irá naturalmente recair na libertação prolongada dos fármacos associados, e, em última instância, no aumento da adesão do doente à terapêutica. Por exemplo, a aplicação à nanoescala das propriedades físico-químicas e funções biológicas do ácido hialurónico continuam sob investigação a fim de melhorar o controlo da osteoartrite.

**Palavras-chave:** Osteoartrite, dor articular, sistemas de veiculação de fármacos, Nanotecnologia, ácido hialurónico

## **Abstract**

Joint pain is the major symptom and the most extensively described problem in people with osteoarthritis. This illness is a complex “whole joint” disease with a remarkable impact in patients quality of life, resulting in impaired functions and deep full absenteeism. Characterized pathologically by structural changes and inflammatory processes, the joint pain remains as the most reported disabling condition to physicians. Thereby, this disease is described as a multifactorial disease influenced mainly by age and obesity. Nevertheless the genetic predisposition seems to take a part in its development and progression. The knee joint pain is cited to a great extent in literature as the most frequent joints disorders that takes patients to search for medical care. Common therapeutics based on paracetamol, NSAIDs, opioids and surgical procedures are therapeutic alternatives to provide pain relief, but their safety is a complex barrier due to adverse effects and invasive processes, respectively. Also non-pharmacological therapies are present on recent guidelines, with proved outcomes. However, the development of novel drug delivery systems is the mainstream aim of nanotechnology industries. Nanotechnology has significant importance in the development of more effective formulations whose the main advantage will naturally fall on the prolonged release of the associated drugs, and, ultimately, on the improvement of the patient adherence to therapy. For example, the application on nanoscale of hyaluronic acid and its physicochemical properties and biological functions is still under research to provide improvements on osteoarthritis control.

**Keywords:** Osteoarthritis, joint pain, drug delivery systems, Nanotechnology, hyaluronic acid



## **Abreviaturas, siglas, acrónimos e símbolos**

AAOS – *American Academy of Orthopedic Surgeons*

ACR – *American College of Rheumatology*

AGS – *American Geriatrics Society*

AH – Ácido hialurónico ou hialuronano

AINEs – Anti-inflamatórios não esteróides

ASUs – *Avocado soybean unsaponifiables* (insaponificáveis de abacate e soja)

ATJ – Artroplastia total do joelho

BMP - *Bone morphogenetic protein 7* (proteína morfogenética óssea 7)

CCL2 – *CC-chemokine ligand 2*

CCR2 – *CC-chemokine receptor 2*

COMP – *Cartilage oligomeric matrix protein* (proteína oligomérica da matriz cartilaginosa)

COX – Ciclooxygenase

CV – Cardiovascular

DMOADs – *Disease modifying osteoarthritis drugs*

DMSO – Dimetilsufóxido

ECM – *Extracellular matrix* (matriz extracelular)

EMA – *European Medicines Agency* (Agência Europeia do Medicamento)

EPR – Elevada permeabilidade e retenção

EULAR – *The European League Against Rheumatism*

FDA – *Food and Drug Administration*

FGF18 – *Fibroblast growth factor 18* (factor de crescimento fibroblástico 18)

GI – Gastrointestinal

GRD – Gânglios da raiz dorsal

GWAS – *Genome Wide Association Studies*

HDL – *High density lipoprotein* (lipoproteína de alta densidade)

HTM – *High-threshold mechanical* (limiares mecânicos elevados)

IBP – Inibidores da bomba de prótons

ICOAP – *Intermittent and Constant OA Pain*

IL – Interleucina

IMMPACT - *Initiative on Methods, Measurement, and Pain Assessment in Clinical Trials*

IRSN – Inibidores da recaptação de serotonina e noradrenalina

IV – Intravascular

KOOS – *Knee injury and Osteoarthritis Outcome Score*

LDL – *Low density lipoprotein* (lipoproteína de baixa densidade)

MMP – Metaloproteinases da matriz

MPS – *Mononuclear phagocytic system* (sistema mononuclear fagocítico)

MRI – *Magnetic resonance imaging* (imagens de ressonância magnética)

NGF – *Nerve growth factor* (factor de crescimento nervoso)

NICE – *UK National Institute for Health and Clinical Excellence*

NIH – *National Institute of Health*

nm – nanómetro

NNI – *National Nanotechnology Initiative*

NRS – *Numerical rating scale* (escala de avaliação numérica)

OA – Osteoartrite

OARSI – *Osteoarthritis Research Society International*

OARSI/OMERACT - *Osteoarthritis Research Society International/Outcome Measures in Rheumatology*

ON- Óxido Nítrico

OTC – *Over-the-counter* (termo usado nos medicamentos de venda livre)

PAG – *Periaqueductal grey* (substância cinzenta periaqueductal)

PEG – Polietilenoglicol

PG - Prostaglandina

PLA – *Poly(lactic acid)* (ácido poliláctico)

PLGA – *Poly(lactic-co-glycolic acid)* (ácido poliláctico-co-glicólico)

PPS - *Poly(propylene sulphide* (poli (sulfureto de propileno))

RVM – *Rostral ventromedial medulla* (medula ventromedial rostral)

SLN – *solid lipidic nanoparticles* (nanopartículas lipídicas sólidas)

SNC – Sistema nervoso central

SR-rhGH - *Recombinant Human Growth Hormone* (hormona do crescimento humana recombinante)

TNF – *Tumoral necrose factor* (factor de necrose tumoral)

TRPV1 – *Transient receptor potential cation channel*

VAS – *Visual analog scale* (escala visual analógica)

VRS – *Verbal rating scale* (escala de avaliação verbal)

WOMAC – *Western Ontario and McMaster Universities Arthritis Index*

5HT – 5-hidroxitriptamina ou serotonina

## Índice

Índice de figuras .....	X
Índice de tabelas.....	XI
Introdução.....	1
Patogénese da OA .....	3
Anatomia e degeneração articular .....	3
Envelhecimento da cartilagem articular .....	4
Stress oxidativo e senescência dos condrócitos .....	7
Fenótipo, genótipos e classificação .....	8
Dor Articular.....	11
Experiência de dor.....	11
Factores de risco .....	12
Mecanismos da dor .....	12
Activação e sensibilização das articulações.....	13
Sensibilização central: mecanismos espinhais.....	16
Vias ascendentes e processamento supra-espinhal.....	17
Vias descendentes.....	18
Avaliação da dor articular .....	18
Tratamentos .....	21
Tratamentos Clássicos .....	22
Tratamentos farmacológicos .....	22
Paracetamol.....	22
Anti-inflamatórios não esteróides .....	23
Opióides.....	24
Inibidores da recaptção de serotonina e noradrenalina .....	25
Outros agentes .....	25
Injecções intra-articulares .....	26
Tratamentos Cirúrgicos.....	27
Artroplastia total do joelho.....	27

Artroscopia.....	28
Outros procedimentos cirúrgicos.....	28
Tratamentos Físicos .....	29
Tratamentos Inovadores.....	31
Anticorpos NGF.....	31
<i>Disease modifying OA drugs</i> .....	31
Nanotecnologia.....	34
Tipo de nanossistemas na clínica .....	36
Nanossistemas aplicados à dor articular.....	38
Nanotecnologia e o ácido hialurónico .....	43
Conclusão.....	46
Bibliografia.....	47

## Índice de figuras

Figura 1 - Articulação sinovial saudável.....	3
Figura 2 - Conexões entre as fibras nervosas aferentes e o corno dorsal da medula espinal .....	17
Figura 3 - Radiografia da normal (A) e osteoartrítica (B) cabeça femoral.....	19
Figura 4 - Joelho normal (lado esquerdo) e joelho com OA (lado direito) com as diferentes alterações estruturais e potenciais agentes candidatos a DMOADs.....	33
Figura 5 - Esquema da auto-montagem das nanopartículas e conjugação proteica ...	39
Figura 6 - Nanopartículas de IL-1Ra e IL-1Ra solúvel no espaço intra-articular. Imagens IVIS (A) e fluorescência em função do tempo de <i>follow-up</i> (B) de nanopartículas de IL-1Ra e IL-1Ra solúvel .....	40
Figura 7 - Concentração plasmática <i>versus</i> perfil de tempo das SLN (formulação DSA2) e fármaco não encapsulado .....	41
Figura 8 - Efeitos do fármaco associados às SLN na excreção fecal em termos de score de diarreia, *p < 0.05 com-parado ao fármaco não encapsulado.....	41
Figura 9 - Análise cronológica dos efeitos de nanocápsulas contendo meloxicam (NC-M) e meloxicam livre (ML) na primeira (A) e segunda (B) fases e edema induzido (C) nas injeções de formalina nos murganhos .....	42
Figura 10 - Microscopia electrónica de varrimento de nanopartículas revestidas com ácido hialurónico.....	43
Figura 11 - Nanopartícula polimérica catiónica e mecanismo de retenção.....	45

**Índice de tabelas**

Tabela 1 - Diferenças entre o envelhecimento da cartilagem articular e a degeneração da cartilagem articular..... 6

Tabela 2 - Locus associados à OA com nível de significância ..... 10

## Introdução

A osteoartrite (OA) é a forma de artrite mais comum em todo o mundo, sendo responsável pela limitação na mobilidade dos doentes reumáticos. Da sintomatologia característica, a dor apresenta-se como o sintoma primário desta patologia e sobre o qual recaem, continuamente, um grande número de estudos a fim de compreender qual a sua génese e qual a melhor forma de a controlar.

Estima-se que aproximadamente, 27 milhões de americanos sofrem de OA clinicamente comprovada com base nos sintomas manifestados e alterações físicas observadas.<sup>1</sup> A extensão do envolvimento das articulações está fortemente dependente do factor idade, sendo menos provável antes dos 40 anos, passando a frequência para valores mais significativos com o aumento da idade, de tal forma que a maior parte dos idosos com 70 ou mais anos possuem evidências radiográficas de OA em algumas articulações. Dados de 2005, indicavam que aproximadamente 13,9% dos adultos europeus com 25 ou mais anos tinham um quadro clínico de OA numa das articulações, no mínimo, enquanto que 33,6% dos adultos com idades iguais ou superiores a 65 anos tinham garantidamente OA.<sup>2,3</sup> O desconforto gerado pela dor articular leva a uma procura de cuidados médicos por parte dos doentes cada vez mais frequente, e para a qual tem vindo a ser projectado um aumento da prevalência, da iniciativa dos doentes em reportar ao médico tais situações, de 22% em 2003 para 25% em 2030.<sup>4</sup> No estudo epidemiológico Reuma Census 2011-2013, 1º Inquérito Nacional Sobre Doenças Reumáticas em Portugal (designado por EpiReumaPt), foram pela primeira vez apresentados resultados sobre as diversas doenças reumáticas em Portugal. Deste estudo, com a participação de 10661 indivíduos, surge a evidência de que 12,4% da população sofre de osteoartrose do joelho, patologia que surge como a base para o desenvolvimento da OA.<sup>5,6</sup>

Caracterizada patologicamente por danos locais da cartilagem articular, centrada em áreas de suporte de carga, associada com formação de osso nas margens da articulação (osteofitose), alterações no osso subcondral, vários graus de leve sinovite e espessamento da cápsula articular, a OA é a mais comum das doenças reumatológicas onde se verificam alterações ao nível das articulações sinoviais. Esta pode aparecer em qualquer articulação do corpo, sendo que as mais vulgares a serem afectadas são as das mãos, joelhos, anca e coluna.<sup>2</sup> A juntar às alterações patológicas e radiográficas, o quadro clínico inclui dores articulares, curta duração de inactividade das articulações devido à rigidez, dores durante movimentos de curta extensão e ainda crepitação. Definitivamente as dores apresentam-se como o sintoma mais evidente



do desconforto desta classe de doentes, o que lhe atribui uma importância particularmente significativa. A OA é hoje vista como a principal causa da elevada taxa de dores articulares na população mais velha.<sup>7,8</sup> Ao longo do tempo, a dor torna-se mais constante, sendo descrita como “aborrecida, sofrida, latejante, pontuada, cada vez mais com pequenos episódios de maior intensidade, muitas vezes imprevisível, e emocionalmente desgastante”.<sup>9</sup>

O controlo da dor associada à OA está muito longe das necessidades dos doentes no que ao alívio da dor diz respeito, bem como às reacções adversas inerentes às terapêuticas existentes. Como já supracitado, o alívio da dor é o que faz os doentes procurarem cuidados médicos, no entanto os tratamentos existentes proporcionam um alívio moderado, na melhor das hipóteses. A eficácia dos agentes terapêuticos de primeira linha, tal como o paracetamol, são difíceis de distinguir da eficácia dos placebos, e as terapêuticas mais usadas à base de anti-inflamatórios não esteróides (AINEs) e opióides, têm um efeito considerado simples a moderado.<sup>10</sup> Novas abordagens terapêuticas têm fornecido novos horizontes na compreensão da fisiopatologia da OA. Agentes não-opióides, tais como os inibidores da recaptação de serotonina e noradrenalina (IRSN), demonstraram conseguir modular a dor musculoesquelética actuando ao nível do sistema nervoso central (SNC)<sup>11</sup>, seguindo-se igualmente relatos da eficácia da utilização da terapia com anticorpos puramente periféricos contra o factor de crescimento nervoso (*nerve growth factor*, NGF).<sup>12</sup> A segunda abordagem envolve fármacos como o sulfato de condroitina e glucosamina, sendo estes definidos, segundo a *Osteoarthritis Research Society International* (OARSI), como *disease-modifying OA drugs* (DMOADs), cujas funções passam por prevenir, retardar, estabilizar e reverter a progressão da OA.<sup>13</sup>

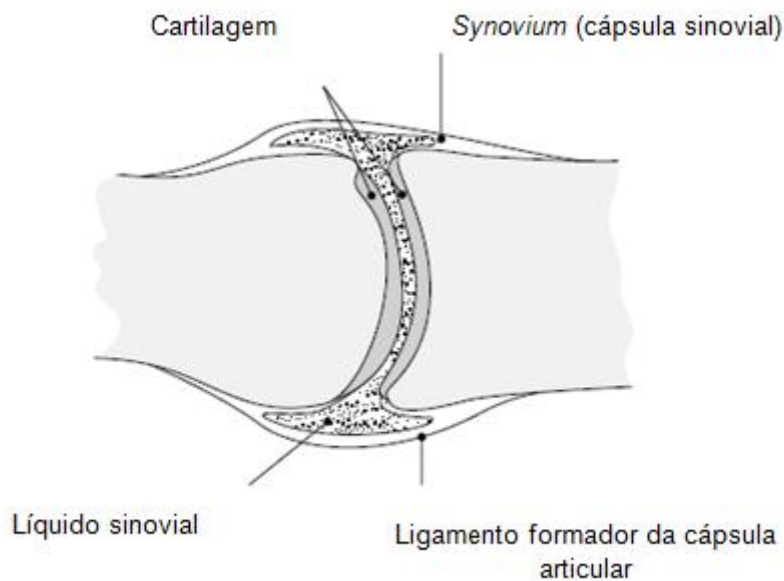
Deste modo, a presente monografia centra-se numa abordagem pormenorizada aos mecanismos envolvidos na dor articular, explorando os factores de risco associados à lesão articular e à dor articular, bem com a componente genética envolvida. Não descorando o foco principal da mesma monografia, a terapêutica clássica e os métodos inovadores, alguns ainda em estudo, serão alvo de uma descrição mais atenta, sendo dada à Nanotecnologia uma importância acrescida.

## Patogénese da OA

### Anatomia e degeneração articular

Actualmente considerada como a patologia crónica mais comum e potencialmente irreversível que afecta as articulações<sup>14</sup>, tem-se registado um crescente número de novos casos de OA, contribuindo para isso factores, tais como a predisposição genética, idade, obesidade, trauma e outras doenças sistémicas.

As articulações do joelho são as maiores e mais complexas articulações do corpo humano, desempenhando um papel fundamental no movimento horizontal, suportando o peso do corpo no andar ou correr, e no movimento vertical. Esta mesma articulação é dividida em duas articulações, uma entre o fémur e a tíbia e a outra entre o fémur e a rótula.<sup>15</sup> Juntamente com outras articulações, tais como as dos pulsos, tornozelos, ombros e anca, as articulações sinoviais são as que apresentam maior liberdade, permitindo uma grande variedade de movimentos. Uma articulação sinovial é constituída por três estruturas fundamentais: cartilagem, *synovium* (membrana sinovial/cápsula articular) e líquido sinovial.<sup>16</sup>



**Figura 1 - Articulação sinovial saudável.**<sup>16</sup>

A cartilagem é a estrutura que envolve as extremidades dos ossos. Camada lisa de hialina, a sua principal função passa por amortecer o impacto quando há movimento dos membros, superiores ou inferiores, dependendo da articulação. A propriedade de absorção do impacto deve-se à alta capacidade de retenção de água bem

como à estrutura e interações entre os componentes poliméricos que constituem o tecido cartilágneo.<sup>17</sup> Os principais constituintes da matriz cartilágnea são três classes de proteínas: colagénio (maioritariamente colagénio do tipo II); proteoglicanos (principalmente agreganos); e outras proteínas não-colagénias (proteínas de ligação, fibronectina, proteína oligomérica da matriz cartilágnea – COMP) e pequenos proteoglicanos (biglicano, decorina e fibromodulina). A capacidade de resistência à compressão e tracção, que caracteriza este tecido, deve-se às interações entre os proteoglicanos, altamente carregados negativamente, e o colagénio tipo II.<sup>16</sup> A envolver a articulação, está o líquido sinovial, que normalmente desempenha uma função biológica lubrificante, bem como de fornecimento de nutrientes e citocinas reguladoras. As moléculas presentes no líquido sinovial proporcionam, mediante as suas propriedades, uma redução de fricção e desgaste às superfícies das cartilagens. Este líquido está contido numa membrana sinovial conhecida por cápsula articular, cuja principal função é a contínua expulsão de hialuronanos de elevada massa molar<sup>16,18</sup>

O quadro clínico de dor articular e perda da morfologia e função da articulação deve-se à degeneração da cartilagem que reveste a articulação. A perda da cartilagem articular é provavelmente iniciada com uma lesão local provocando ruptura ou alteração da estrutura molecular e composição da matriz. As primeiras alterações da matriz incluem a perda de proteoglicanos e o aumento da concentração de água. Os danos ao nível do tecido estimulam os condrócitos de forma a que haja uma proliferação e restauração da cartilagem articular.<sup>19</sup> Por serem sensíveis a estímulos mecânicos e inflamatórios, quando activados, os condrócitos produzem mediadores inflamatórios, similares à resposta de uma lesão.<sup>20</sup> Da mesma forma, as células do osso subcondral geram uma profunda degradação da camada de cartilagem que as reveste.<sup>21</sup> Proteínas da matriz cartilágnea, tais como a fibronectina<sup>22</sup>, proteoglicanos ricos em leucina e colagénio<sup>23</sup>, são degradadas, passando os fragmentos destas a estimular, ainda mais, a destruição da matriz.<sup>20</sup>

### **Envelhecimento da cartilagem articular**

Embora as alterações estruturais e mecânicas da matriz estejam intimamente relacionadas com a progressiva alteração da função celular, pensa-se que a capacidade das células manterem o tecido saudável está dependente do factor idade, apesar desta relação ainda hoje não estar claramente definida.<sup>19</sup> As alterações na matriz cartilágnea relacionadas com a idade têm sido reportadas por vários autores, incutindo, cada vez mais, um papel chave no desenvolvimento da OA. O desgaste da cartilagem é consistente com uma perda gradual de matriz cartilágnea durante o envelhecimento

bem como uma decrescente hidratação e proliferação celular da mesma. Um estudo feito ao nível da cartilagem femoral comprovou que a diminuição da proliferação e do conteúdo em glicosaminoglicanos devido à idade, pode ter contribuído para o enfraquecimento do tecido.<sup>24</sup> Os agrecanos, moléculas com inúmeras cargas negativas dos sulfatos que as constituem, graças ao seu carácter hidrofílico, são responsáveis pela manutenção do elevado conteúdo de água (cerca de 70-80%) na cartilagem. Com as alterações sofridas pelo processo natural do envelhecimento articular, as alterações nos agrecanos provavelmente contribuem para a perda de resiliência e hidratação da cartilagem.<sup>25</sup>

O envelhecimento da matriz cartilágnea é propício à acumulação de produtos finais de glicação avançada, através da redução de açúcares, que por sua vez reagem com resíduos de lisina ou arginina num processo de glicação não enzimática. A acumulação destes produtos resulta num aumento da formação de ligações com as moléculas de colagénio. Estas ligações afectam as propriedades biomecânicas da cartilagem, resultando num aumento da rigidez, o que torna a cartilagem mais frágil e aumenta a probabilidade de quebra por fadiga.<sup>26</sup>

O processo de envelhecimento da cartilagem articular pode, em certos momentos, confundir-se com o processo de degeneração da mesma, no entanto, existem alterações que ilustram bem a diferença destes dois fenómenos envolvidos na patogénese da OA tal como descreve a Tabela 1

**Tabela 1 - Diferenças entre o envelhecimento da cartilagem articular e a degeneração da cartilagem articular.**<sup>19</sup>

	Envelhecimento	Degeneração
Estrutural	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Fibrilhação localizada</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Fibrilhação e fragmentação envolvendo o osso subcondral</li> <li>• Perda de tecido (diminuição da espessura cartilágnea e perda completa de algumas regiões)</li> <li>• Formação de tecido de reparação fibrocartilágneo</li> </ul>
Matriz	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Diminuição da concentração de água</li> <li>• Perda de grandes agregados de proteoglicanos</li> <li>• Aumento da concentração de decorina</li> <li>• Acumulação de moléculas degradadas (fragmentos de agreganos e proteínas de ligação)</li> <li>• Aumento das ligações cruzadas com colagénio</li> <li>• Aumento do diâmetro das fibrilas de colagénio e variabilidade nos diâmetros de fibrilas</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Aumento inicial do conteúdo em água</li> <li>• Ruptura da organização macromolecular colagenosa</li> <li>• Progressiva degradação e perda de proteoglicanos e hialurano</li> <li>• Degradação progressiva e perda de colagénio</li> <li>• Aumento da concentração de fibronectina</li> </ul>
Mecânica	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Diminuição da resistência à tracção</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Aumento da permeabilidade e perda da resistência à tracção e rigidez de compressão</li> </ul>
Celular	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Diminuição da densidade de condrócitos com crescimento esquelético</li> <li>• Alteração na actividade sintética (menor variabilidade de agreganos)</li> <li>• Diminuição da resposta anabólica aos factores de crescimento (IGF-I)</li> <li>• Diminuição da actividade sintética</li> <li>• Diminuição da actividade mitótica</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Aumento inicial nas actividades sintética e proliferativa</li> <li>• Perda de condrócitos</li> <li>• Eventual diminuição da actividade sintética</li> <li>• Aumento da actividade enzimática degradativa</li> <li>• Aparecimento de células semelhantes a fibroblastos em regiões de tecido reparador fibrocartilágneo</li> </ul>

### **Stress oxidativo e senescência dos condrócitos**

Lesões mecânicas na cartilagem resultam num aumento da produção de radicais livres de oxigénio de origem mitocondrial que por sua vez podem promover a morte dos condrócitos.<sup>27</sup> De igual forma, existe evidências de que citocinas inflamatórias, tais como a interleucina 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) e o factor de necrose tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) provocam danos no DNA mitocondrial contribuindo para a morte celular.<sup>28</sup> O papel do sistema imunitário no desenvolvimento e progressão da OA, é um dos principais responsáveis pelo patogénese, incidindo essencialmente no processo inflamatório.<sup>29</sup> Na cartilagem, o efeito das citocinas é manifestado pela perturbação do equilíbrio dos processos anabólicos e catabólicos. A partir do momento em que o contínuo dano molecular, devido ao stress mecânico ou actividade enzimática, é superior à actividade biossintética dos condrócitos articulares, o equilíbrio é quebrado, contribuindo para a progressiva degeneração da cartilagem articular.<sup>30</sup> Apesar do efeito agressor implícito nas citocinas, não deve ser subestimado o papel anti-inflamatório de algumas destas moléculas que podem modular a resposta inflamatória, actuando de forma a proteger o tecido lesado. Assim as citocinas podem ser divididas segundo a sua natureza inflamatória ou anti-inflamatória. As mais representativas das citocinas inflamatórias são as IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , IL-6, IL-15, IL-17 e IL-18, e das anti-inflamatórias as IL-4, IL-10 e IL-13.<sup>31</sup> A presença de mediadores inflamatórios solúveis, tal como as citocinas e quimiocinas<sup>1</sup>, encontram-se em concentrações elevadas ao nível do líquido sinovial, originando as sinovites características nos estados mais avançados de OA.<sup>20</sup> Além dos mediadores já citados, produzidos localmente pelas células das articulações, outros de origem sistémica, como as adipocinas, de origem no tecido adiposo, são libertados na corrente sanguínea até alcançarem a articulação, por via da vasculatura do osso subcondral. As adipocinas são maioritariamente libertadas do tecido adiposo abdominal.<sup>32</sup> A juntar ao factor idade, a obesidade, partilha da mesma importância enquanto factor de risco para o desenvolvimento de OA. Com o processo natural de envelhecimento do organismo tende-se a perder a massa muscular e a ganhar massa gorda, o que pode contribuir para a progressão da OA devido ao peso que é exercido sobre as articulações.<sup>33</sup> O primeiro estudo aleatorizado que foi realizado, com o intuito de analisar a associação entre a perda de peso e os efeitos benéficos para a carga exercida sobre os joelhos, demonstrou que ao fim de 18 meses a perda de 10% de peso, na população idosa levou a uma redução significativa da carga exercida sobre os joelhos.<sup>34</sup>

---

<sup>1</sup> As quimiocinas são um grupo de pequenos mediadores de polipéptidos (8-14 kDa), que atraem vários tipos de leucócitos para os locais de infecção ou inflamação.

O processo de envelhecimento dos condrócitos, a senescência, manifesta-se através da erosão dos telómeros, como resultado das sucessivas divisões celulares. Os telómeros são as sequências finais de DNA que são necessárias à replicação cromossomal. Os cromossomas presentes nas jovens células somáticas possuem longos telómeros com mais de 9 mil pares de bases (kbp), mas que vão sendo erodidos com uma taxa de 100-200 pares de bases a cada ciclo celular. Quando é atingido o mínimo de comprimento necessário à replicação do DNA (5-7,6 kbp), o normal ciclo celular é bloqueado, atingindo-se a referida senescência replicativa. Um dos principais indutores da senescência dos condrócitos são os radicais livres de oxigénio, que provêm do stress oxidativo gerado nas mitocôndrias.<sup>35</sup> O número de divisões a que cada célula pode chegar, depende do tipo de célula em questão. O termo de *Hayflick limit* define o limite a que normalmente uma célula, após sucessivas divisões, atinge o seu limite replicativo, cessando a sua capacidade de replicação. Este limite é aplicado, habitualmente, às células que não possuem a enzima telomerase, como é o caso dos condrócitos. Na ausência desta enzima, as extremidades da cadeia de DNA não são renovadas, atingindo a certo ponto, o limite de replicação da mesma cadeia. Estima-se que os fibroblastos humanos possam atingir, aproximadamente 60 duplicações, enquanto que o limite dos condrócitos está estimado para, aproximadamente 35 duplicações. Paralelamente, com o início da deterioração das funções celulares, tais como o declínio na síntese proteica, alteração das respostas aos factores de crescimento e aos longos períodos de replicação, algumas células não chegam a atingir os limites de *Hayflick*, contribuindo deste modo para uma diminuição proliferativa das células condrocíticas.<sup>19</sup>

### **Fenótipo, genótipos e classificação**

A manifestação clínica da OA é hoje vista como um amplo conjunto de acontecimentos e experiências, sendo que, para muitos, classificar a OA subdividindo-a seria o mais correcto. A realidade é que esta patologia não pode ser entendida como uma entidade única. Muitos investigadores pronunciaram-se, afirmando que esta tem de ser entendida como um grupo de vários distúrbios que convergem para o mesmo *endpoint* patológico, em vez de se lhe atribuir uma entidade única. Dessa forma muitos foram os esforços com o objectivo de se subdividir a OA consoante o número e distribuição das articulações afectadas (OA generalizada ou localizada) ou consoante a presença ou ausência de uma causa óbvia (OA primária ou secundária). No entanto, a opinião que parece ter mais credibilidade é a de que a OA é uma doença multifactorial com determinantes genéticas e ambientais.<sup>36</sup> Estudos epidemiológicos têm também

destacado as potenciais diferenças no grau de hereditariedade da OA entre diferentes articulações e entre géneros. Estes mesmos estudos parecem sugerir que a susceptibilidade genética pode ser mais relevante no sexo feminino do que no masculino, e que os genes podem ter um papel importante no desenvolvimento e progressão de um certo grupo de articulações quando comparadas com outras.<sup>37</sup> Inicialmente, a forma de identificar a susceptibilidade genética para a OA envolvia estudos genéticos a um pequeno painel de genes candidatos. Contudo, estes estudos geravam conclusões negativas com repercussões. Estes genes eram inicialmente subdivididos em duas categorias: genes que estavam mutados na classe de osteocondrodysplasia das displasias esqueléticas e genes que codificam proteínas reguladoras da densidade óssea. O mais representativo da primeira categoria é o gene *COL2A1* (12q12-q13.1) que codifica para a síntese do colagénio tipo II, o principal componente colagenoso da matriz cartilágnea articular. Outros genes relevantes são os de moléculas que fazem parte da matriz cartilágnea como o colagénio tipo IX e XI, COMP, e matrilina-3. Na segunda categoria, o gene que se faz representar como o mais importante é o *VDR*, que é responsável por codificar o receptor da vitamina D.<sup>36,38</sup> As falhas inerentes a estes estudos promoveram a utilização de uma abordagem diferente, que não fazia qualquer previsão sobre a natureza dos genes que codificavam para a susceptibilidade, os estudos *genome-wide linkage*. O primeiro estudo *genome-wide linkage* realizado para a OA foi publicado por um grupo da Universidade de Oxford, que conseguiu identificar, no cromossoma 11 do genoma humano, uma região que é, provavelmente, o *locus* responsável pela susceptibilidade à OA.<sup>39</sup> A crença de que a OA tem uma componente genética associada, levou alguns investigadores a usar novas técnicas de pesquisa que fornecessem informações mais credíveis. A abordagem mais recente, e para a qual se tem obtido resultados satisfatórios, são os estudos de associação genética, mais conhecidos por *Genome Wide Association Studies* (GWAS). A aplicação destes estudos permitiu identificar centenas de *locus* associados com doenças complexas e a identificação de 11 *locus* associados com a OA (Tabela 2).<sup>40</sup>



Tabela 2 - Locus associados à OA com nível de significância.<sup>40</sup>

Gene*	Articulação**	Género	População***
<i>GDF5</i>	Joelho	Ambos	Europeu e Asiático
<i>HBP1 (7q22)</i>	Joelho	Ambos	Europeu
<i>MCF2L</i>	Joelho + Anca	Ambos	Europeu
<i>DVWA</i>	Joelho	Ambos	Asiático
<i>HLA classe II/III-BTNL2</i>	Joelho	Ambos	Asiático
<i>GNL3/GLT8D1</i>	Joelho + ST Anca	Ambos	Europeu
<i>ASTN2</i>	ST Anca	Mulheres	Europeu
<i>FILIP1/SEN6</i>	Anca	Ambos	Europeu
<i>KLHDC5/PTHLH</i>	Anca	Ambos	Europeu
<i>CHST11</i>	ST Anca	Ambos	Europeu
<i>DOT1L</i>	Anca	Homens	Europeu

\* *BTNL2* = *butyrophilin-like 2*, *GNL3* = *guanine nucleotide binding protein-like 3 (nuclear)*, *GLT8D1* = *glycosyltransferase 8 domain containing 1*, *ASTN2* = *astrotactin 2*, *FILIP1* = *filamin A interacting protein 1*, *SEN6* = *SUMO1/sentrin specific peptidase 6*, *KLHDC5* = *kelch domain containing 5*, *CHST11* = *carbohydrate (chondroitin 4) sulfotransferase 11*, *ST* = *substituição total*

\*\* Articulação ou conjunto de articulações em que os estudos GWAS foram reportados.

\*\*\* Muitos *locus* da OA não foram estudados em Asiáticos ou em outros grupos étnicos além dos Europeus.

## Dor Articular

### Experiência de dor

Segundo a Associação Internacional para o Estudo da Dor, a dor é definida como “uma desagradável experiência sensorial e emocional associada com um actual ou potencial dano tecidual, ou descrita em termos de tal dano.”<sup>41</sup> Este fenómeno complexo é uma experiência universal, mas única em cada indivíduo, influenciada por factores biológicos, psicológicos e sociais. A dor, aguda ou crónica, é uma das mais frequentes razões para as visitas dos doentes aos médicos; das mais comuns razões para a toma de medicação; e uma das principais causas para a incapacidade laboral. A cronicidade afecta o funcionamento físico e mental, a qualidade de vida e a produtividade. Não menos importante é o impacto financeiro que os indivíduos afectados têm de suportar, bem como as suas famílias, os seus amigos, a sua comunidade e uma nação no seu todo. Estima-se que o custo económico anual da dor crónica nos adultos, incluindo despesas nos cuidados de saúde e perda de produtividade, ronda os 560-630 mil milhões de dólares.<sup>42</sup> A dor proporciona um comportamento que evita situações que possam gerar dano para os tecidos e impõe imobilização dos tecidos lesados, favorecendo a cicatrização. Assim, a dor torna-se vital para o organismo graças ao seu papel protector, sinalizando o indivíduo da ameaça. Contudo, uma vez cessando este papel protector, isto é, numa situação de dor crónica, é considerada ineficaz enquanto mecanismo de alerta.<sup>11,43</sup>

A experiência da dor nos indivíduos com OA têm sido avaliadas através de uma série de esforços de pesquisa qualitativa. O primeiro estudo qualitativo que se focou explicitamente na dor e angústia relatada, bem como nas mudanças de dor ao longo do tempo, afirmava que os doentes com OA nos joelhos e anca identificavam dois tipos distintos de dor. Um deles era de uma dor intermitente, geralmente severa ou intensa; o outro tipo, de uma dor persistente.<sup>9</sup> Mais do que os distintos episódios de dor relatados, a intensidade com que esta se manifesta no dia-a-dia das pessoas varia amplamente, embora a razão para esta variação não seja bem compreendida.<sup>44</sup> Um estudo que procurava avaliar a qualidade de vida destes doentes baseou-se na utilização de marcadores neuropáticos manifestados por doentes, com OA nos joelhos, sendo que um terço da população amostral descrevia sensações como, ardor, formigueliro, dormência, “alfinetes e agulhas”, para caracterizar os sintomas do joelho.<sup>45</sup>

Fisiologicamente a dor assemelha-se à nocicepção, ocorrendo quando os neurónios nociceptivos aferentes, que inervam os tecidos, são activados por um estí-

mulo nocivo de natureza mecânica, térmica ou química.<sup>46</sup> A cartilagem é um tecido não inervado, portanto, o quer que seja que contribua para a lesão da articulação, a dor subsequente não é gerada directamente deste tecido. Tecidos como o osso subcondral, o perióstio, o *synovium*, os ligamentos e a cápsula articular são, todos eles, ricamente inervados e possuem terminações nervosas que podem ser a fonte dos estímulos nociceptivos na OA.<sup>47</sup>

### **Factores de risco**

Como já mencionado, a natureza da dor na OA apresenta uma dimensão multifactorial. Muitos têm sido os esforços no sentido de estabelecer quais os factores responsáveis por desencadear esta patologia, o que permitiu afirmar que provém de uma base biológica, psicológica e social.

A questão que mais tem intrigado no estudo da OA tem sido a relação entre os resultados radiográficos das articulações e a dor manifestada pelos doentes. A extensão com que as alterações estruturais articulares na OA contribuem para a experiência da dor tem sido alvo de muita controvérsia. A discordância que se tem imposto deve-se às fracas correlações entre a severidade radiográfica da OA e a presença ou severidade da dor, embora esta discordância seja menor com os estados mais severos da doença.<sup>48-51</sup> Resultados de uma revisão sobre esta discordância demonstraram que 15-76% dos doentes com dores nos joelhos tinham evidências radiográficas de OA, e que 15-81% dos doentes com evidências radiográficas de OA tinham dores nos joelhos.<sup>52</sup>

A juntar às pesquisas supracitadas, outros factores parecem contribuir para o desenvolvimento e progressão da OA. A predisposição genética<sup>40</sup>, a experiência prévia<sup>53</sup>, o humor actual<sup>54</sup>, o ambiente sociocultural<sup>55</sup>, o *catastrophizing*<sup>56</sup> (conjunto de processos negativos emocionais e cognitivos<sup>57</sup>), são alguns dos exemplos. Os factores psicológicos estão bem definidos como estando correlacionados com a dor na OA, sendo dada grande atenção aos episódios de depressão e ansiedade.<sup>58</sup> Não menos importantes são, também já mencionados nesta monografia, os factores idade<sup>19</sup> e obesidade.<sup>59</sup>

### **Mecanismos da dor**

A dor crónica na OA está associada com alterações ao nível do sistema nervoso central (SNC). Estas mudanças são reversíveis, o que reflete a plasticidade do SNC e a exigência para os contínuos *inputs* a partir da periferia. Evidências atuais

suportam a ideia de que a dor na OA é gerada e mantida através de *inputs* nociceptivos contínuos de origem nas articulações.<sup>11</sup>

Como já foi definido, o fenómeno da nocicepção é um processo pelo qual estímulos intensos de natureza térmica, mecânica ou química são detectados por uma subpopulação de fibras nervosas periféricas, designadas de receptores nociceptivos ou nociceptores. Os nociceptores são células pseudo-unipolares, com um axónio que se estende a partir do corpo celular que está localizado nos gânglios da raiz dorsal (GRD) e se divide em dois terminais. O terminal periférico inerva os tecidos periféricos e o terminal central prolonga-se no corno dorsal da espinal medula. Estes receptores quando detectam um determinado estímulo são activados desencadeando um conjunto de canais de sódio e potássio dependentes de voltagem que são essenciais para gerar e propagar os potenciais de acção.<sup>46</sup> Existem duas classes de nociceptores. A primeira classe é composta por nociceptores aferentes mielinizados de diâmetro médio (A $\delta$ ), responsáveis pela sensação de “primeira” dor ou dor rápida. Estes diferem consideravelmente dos aferentes mielinizados de diâmetro grande e das fibras A $\beta$  que respondem à estimulação mecânica inócua (toque leve). A outra classe inclui fibras “C” não-mielinizadas de pequeno diâmetro que transmitem fracamente a dor localizada, “segunda” dor ou dor lenta.<sup>60</sup>

A partir de estudos electrofisiológicos foi possível dividir os nociceptores A $\delta$  em dois grupos principais, tendo o primeiro grupo os nociceptores A $\delta$  tipo I com elevados limiares mecânicos (HTM: *high-threshold mechanical nociceptors*), que respondem a ambos os estímulos mecânicos e químicos, mas com limiares de calor relativamente maiores (>50°C). Caso, o estímulo do calor seja mantido, estes aferentes começarão a responder a temperaturas mais baixas que aquelas que definem os seus limiares, ou seja, os limiares diminuem, fruto da sensibilização. O segundo grupo tem os nociceptores A $\delta$  tipo II que apresentam limiares de calor mais baixos, mas limiares mecânicos mais elevados. A actividade destes aferentes, quase certamente, medeiam a “primeira” dor aguda resultado do estímulo térmico.<sup>46</sup>

A heterogeneidade das fibras nervosas não se estende somente aos nociceptores A $\delta$ . As fibras C não-mielinizadas também possuem aferentes sensíveis a estímulos mecânicos e ao calor.<sup>61</sup>

### **Activação e sensibilização das articulações**

A articulação é um órgão densamente inervado, e esta inervação sensorial é orientada predominantemente para a propriocepção e nocicepção, indicando qual o

posicionamento vital e a consciência dos movimentos potencialmente prejudiciais.<sup>11</sup> Nos humanos, as ramificações articulares do nervo tibial que inervam a cápsula articular da parte posterior do joelho contêm 70-80% de fibras C não-mielinizadas e nervos simpáticos.<sup>62</sup> Os nociceptores são abundantes em diferentes estruturas do joelho, tais como a cápsula articular, ligamentos, periósteo, menisco, osso subcondral e *synovium*.<sup>11</sup> Um estudo reportou, com base num mapeamento das sensação de dor das estruturas intra-articulares, que as zonas mais sensíveis são o *synovium* anterior, corpo adiposo infrapatelar (localizado abaixo da rótula) e a cápsula articular.<sup>63</sup>

A associação entre as observações radiográficas de OA e as dores manifestadas por doentes com OA continuam, como já foi mencionado anteriormente, a ser uma preocupação e fruto de muita investigação. Uma experiência feita com base na utilização de imagens de ressonância magnética (MRI: *magnetic resonance imaging*) demonstrou que os estados mais dolorosos de OA nos joelhos exibiam maiores taxas de perda da cartilagem do que os joelhos sem dor associada, quando analisadas longitudinalmente.<sup>64</sup> A aplicação da MRI para uma análise fisiológica profunda da cartilagem articular<sup>65</sup>, levou a que mesma técnica fosse usada para detectar características que tinham sido relacionadas com a dor do joelho, tais como, as lesões da medula óssea, o desgaste do osso subarticular e a sinovite.<sup>66-68</sup>

O facto de se manifestar dor nas diferentes estruturas intra-articulares levamos a concluir que a OA é uma doença da totalidade da articulação e não somente da cartilagem. Isto implica que, durante a progressão da OA, os nociceptores estão expostos às alterações do ambiente bioquímico dos diferentes tecidos articulares<sup>20</sup>, o que por sua vez pode contribuir para a activação e sensibilização articular.

A estimulação mecânica, que passa por um processo de conversão do estímulo mecânico para sinais eléctricos, é ainda hoje pouco entendida. São poucos os estudos que procuram explicar como a dor mecânica é sentida pelas articulações. Em 2005, Bernd Heppelman e Jason J. McDougall realizaram um estudo com uma abordagem electrofisiológica para demonstrar a presença de canais iónicos nos nociceptores das articulações dos joelhos de ratos, sugerindo que estes canais poderiam ter um papel importante na sensação da dor.<sup>69</sup> Estudos mais recentes de Jason J. McDougall, agora em colaboração com Niklas Schuelert, demonstraram que os canais de sódio dependentes de voltagem Nav1.8 participavam no processo de sensação mecânica na articulação.<sup>70</sup> Estes canais têm uma distribuição restrita aos neurónios aferentes e a maior parte dos aferentes que os possuem transmitem sinais nociceptivos para as áreas de processamento da dor na espinal medula.<sup>71</sup>

Os nociceptores têm a particularidade de expressarem uma gama alargada de receptores, para determinados ligandos, que podem alterar as propriedades dos neurónios de tal forma que diminui os limites estabelecidos para ser gerado um potencial de acção. A este fenómeno designa-se de sensibilização. As citocinas, as quimioquinas, os neuropéptidos e as prostaglandinas, são alguns dos exemplos de ligandos responsáveis pela sensibilização periférica, tornando o movimento articular doloroso, dentro do intervalo normal. A alodinia mecânica, fruto desta sensibilização periférica, é uma sensação dolorosa causada por estímulos inócuos, como um simples toque. Ao contrário da hiperalgesia inflamatória, à qual se atribui um papel protector, esta não apresenta qualquer função biológica.<sup>72</sup> Como já foi relatado na secção do stress oxidativo e senescência dos condrócitos, existem agentes pro-inflamatórios, ao nível da articulação, capazes de sensibilizar os neurónios aferentes. Novos esforços têm sido aplicados afim de se determinarem quais as citocinas específicas que sensibilizam os neurónios. Injecções intra-articulares de TNF e IL-6, segundo dois estudos experimentais, demonstraram a capacidade destas citocinas de causar hipersensibilidade mecânica prolongada.<sup>73,74</sup> A partir do mesmo método, a sensibilização dos nociceptores articulares aos estímulos mecânicos foi demonstrada para a IL-17<sup>75</sup>, no entanto é sobre as citocinas pro-inflamatórias IL-1 $\beta$  e TNF que mais se tem incidido o estudo. Estas últimas podem afectar directamente os neurónios sensoriais e também podem desencadear a hiperalgesia por via de outros mediadores.

O factor de crescimento nervoso (NGF: *nerve growth factor*) é um factor de crescimento que pertence a uma família de factores de crescimento nervoso, as neurotrofinas. Como as outras neurotrofinas, o NGF é capaz de se ligar a dois tipos de receptores estruturalmente diferentes (p75NTR e TrkA), tendo a função de regular a sobrevivência neuronal, diferenciação e crescimento.<sup>76</sup> O NGF comporta-se com o principal contribuinte para a hipersensibilidade periférica, isto, quando os seus níveis locais estão aumentados devido ao processo inflamatório da OA.<sup>77</sup> Um estudo experimental, no qual se recorreu a injecções de NGF em humanos, demonstrou que poderia ser gerada dor a partir de NGF.<sup>78</sup> A sensação de dor é explicada com a ligação de NGF aos seus receptores de alta afinidade TrkA nos nociceptores periféricos, causando uma rápida potenciação dos canais iónicos termosensitivos TRPV1 (*transiente receptor potential cation channel, subfamily V, member 1*). Estes canais, sensíveis também ao calor e à capsaicina<sup>79</sup>, sofrem sensibilização quando são activados, contribuindo para a hipersensibilidade à dor associada a lesão tecidual.<sup>80</sup> Nas células mastócitas também são expressos receptores TrkA, aos quais o NGF se vai ligar, promovendo a produção de moléculas pro-inflamatórias adicionais mediadas pelas células

mastócitas.<sup>81</sup> O NGF pode ser produzido na cartilagem articular, menisco e *synovium*, tendo sido reportados elevados níveis deste no líquido sinovial em doentes com artrites.<sup>82,83</sup> Uma vez estabelecido o papel no desenvolvimento da dor por parte do NGF, muitos têm sido os esforços no sentido de contrariar a acção desta neurotrofina com base numa acção antagonista como, por exemplo, os anticorpos NGF. Todavia, os resultados existentes fundamentam-se em modelos pré-clínicos, sendo ainda poucos os ensaios clínicos efectuados neste âmbito.

A degradação e remodelação dos tecidos articulares é o processo mais associado à OA, tendo sido já mencionado que a certo momento os processos catabólicos superiorizam os anabólicos, desregulando o equilíbrio do ambiente articular. A cartilagem é irrigada através dos vasos sanguíneos provenientes do osso subcondral. Visto ser um tecido aneural, não se apresenta como a fonte da dor artrítica, no entanto, com a degradação contínua desta última, as fibras não-mielinizadas C e alguns nervos simpáticos acompanham os vasos provenientes do osso subcondral e no menisco, atingindo a cartilagem. Assim, pensa-se que a vascularização osteocondral e meniscal possa ser a fonte da dor artrítica e, deste modo, um alvo para uma terapia analgésica.<sup>84</sup>

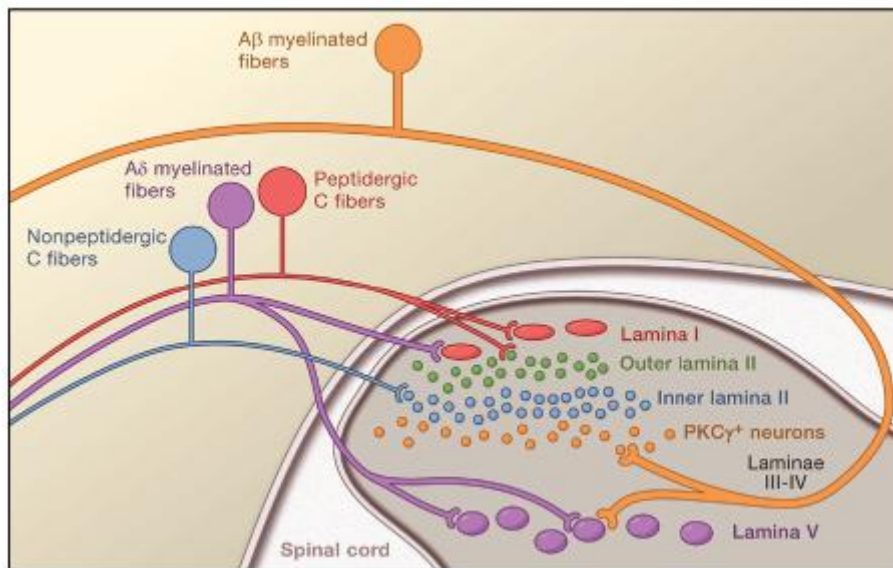
A activação também se faz sentir nos GRD onde residem pequenas células gliais e macrófagos, cuja interacção pode promover a transição da dor aguda a crónica. Num estudo demonstrou-se que a expressão de quimiocina CCL2 (*CC-chemokine ligand 2*) e do seu receptor CCR2 (*CC-chemokine receptor 2*) estavam aumentadas no GRD ao fim de oito semanas após cirurgia. Neste mesmo estudo, verificou-se o aumento da infiltração de macrófagos no GRD e o aparecimento de comportamentos de dor.<sup>85</sup> A evidência de que estruturas como, o GRD, as células gliais, os neurónios e as células do sistema imunitário, estão envolvidas na modulação da dor, como um todo, é cada vez maior.<sup>86</sup>

### **Sensibilização central: mecanismos espinhais**

Uma vez vistos os mecanismos envolvidos na activação e sensibilização periférica, importa agora compreender como é que os *inputs* gerados se comportam a nível central. Os contínuos *inputs* chegam ao corno dorsal através dos neurónios aferentes, gerando uma hipersensibilidade prolongada de circuitos de dor no SNC. A este fenómeno atribui-se a designação de sensibilização central.<sup>87</sup>

As diferentes fibras nervosas são projectadas no corno dorsal estabelecendo ligações sinápticas com interneurónios (Figura 2), também designados de neurónios

de projecção, os quais transmitem informação ao córtex somatossensorial por via do tálamo, providenciando a informação sobre a localização e intensidade dos estímulos dolorosos.<sup>46</sup>



**Figura 2 - Conexões entre as fibras nervosas aferentes e o corno dorsal da medula espinal.**<sup>46</sup>

A sensibilização central é o resultado de uma enorme plasticidade do SNC, lidando com aumentos de actividade neuronal espontânea, limites de activação reduzidos, expansão do campo receptivo, o que se manifesta em situações de hiperalgesia (sensibilidade aumentada a estímulos nocivos) e alodinia (interpretação de estímulos não-nocivos como dolorosos).<sup>87</sup> No entanto os mecanismos exactos de sensibilização central, ainda hoje não são conhecidos.

### **Vias ascendentes e processamento supra-espinhal**

A partir do corno dorsal os interneurónios transmitem os sinais ao tálamo e tronco cerebral. Os interneurónios que se encontram no interior das lâminas I e V constituem os principais *outputs* do corno dorsal em direcção ao cérebro.<sup>46</sup> A forma como estes sinais são processados difere substancialmente, não apenas na dor aguda ou crónica, mas também entre os diferentes estados de dor crónica.<sup>11</sup> Segundo alguns investigadores, a razão para esta heterogeneidade no processamento dos sinais deve-se à activação do córtex pré-frontal. Esta zona, responsável pelos comportamentos emocionais, demonstrou padrões distintos de actividade cerebral em diferentes tipos de tipos de dor crónica, onde a OA estava incluída.<sup>88</sup> Estes resultados, levaram a concluir que a dor crónica espontânea envolve igualmente o sentido das emoções.



### **Vias descendentes**

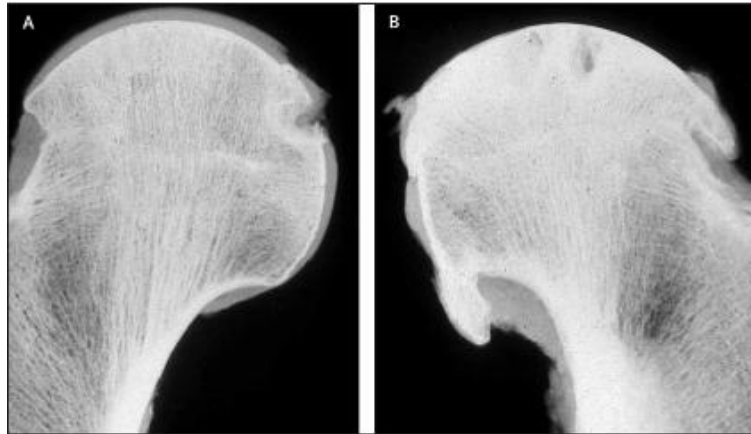
Quando a informação é processada são gerados sinais que se destinam a neurónios eferentes. A resposta ao estímulo inicial provém do hipotálamo, amígdala e córtex cingulado anterior rostral, radiando para a substância cinzenta periaqueductal (PAG: *periaqueductal grey*) no mesencéfalo e para a medula ventromedial rostral (RVM: *rostral ventromedial medulla*) no tronco cerebral. De seguida, os sinais seguem novamente por interneurónios localizados no corno dorsal. As vias descendentes inibitórias modelam a resposta à dor através da libertação de noradrenalina e serotonina (5HT). Os neurónios da RVM são sensíveis ao ópio, sendo as vias descendentes inibidas pela morfina, o que torna esta uma alternativa à terapêutica da dor na OA.<sup>11</sup>

### **Avaliação da dor articular**

A dor articular apresenta-se como o sintoma principal da OA. Para além da dor, a idade avançada, a rigidez, os movimentos reduzidos, o inchaço local e a crepitação são características que permitem diagnosticar a OA. Na prática, o principal problema dos clínicos passa por diferenciar a dor associada à OA das outras três causas comuns de dor articular regional ou generalizada na população idosa. As três causas são a dor referida, as condições periarticulares e a somatização.<sup>36</sup>

A verificação da severidade da OA envolve uma avaliação quer às articulações, quer ao doente. O exame radiográfico é, sem sobre de dúvidas, o técnica de diagnóstico mais usada pelos clínicos quando se desconfia de OA. Contudo, apesar da sua grande utilização, a correlação entre os problemas clínicos e a dor é fraca, atribuindo um valor discutível ao exame. A situação mais comum é a de que os exames radiográficos muitas vez convencem as pessoas da degeneração das suas articulações, quando na realidade as alterações radiográficas são irrelevantes para os seus problemas actuais.

Informações como as da Figura 3 são um exemplo da utilidade que os exames radiográficos têm conjuntamente com outros métodos estandardizados de diagnóstico. A combinação da informação obtida permite a um cirurgião avaliar se o método de intervenção mais eficaz passa por uma osteotomia ou se por substituição total da articulação.<sup>36</sup>



**Figura 3 - Radiografia da normal (A) e osteoartítica (B) cabeça femoral.<sup>36</sup>**

A variação da intensidade da dor, frequência, padrão e qualidade da OA são alguns dos pontos que definem a experiência da dor, o que faz com que uma simples pergunta sobre a dor seja improvável de abranger toda a envolvimento da experiência da dor. As diferenças nos descritores utilizados para avaliar a dor podem suscitar respostas diferentes, da mesma forma que a duração dos períodos ao longo da qual a dor é avaliada podem originar viés de memória. Com o intuito de transpor estes entraves foram idealizados questionários uniformes, estandardizados e válidos que deveriam ser usados para avaliar a dor e possibilitar uma fenotipagem mais precisa, bem como facilitar a comparação entre estudos, estudos de associação genética e desenvolvimento de protocolos de ensaio de fármacos.<sup>43</sup>

Para a avaliação da dor osteoartítica nos joelhos, os métodos mais comuns são a escala visual analógica (VAS: *visual analog scale*)<sup>89</sup>, escala de avaliação verbal (VRS: *verbal rating scales*) e escala de avaliação numérica (NRS: *numerical rating scale*) na avaliação da intensidade da dor<sup>90</sup>; uma simples pergunta sobre a presença de dor ou sensação de rigidez em volta do joelho num período específico de tempo; e ainda, a subescala *Western Ontario and McMaster Universities Arthritis Index (WOMAC)*<sup>91</sup> ou o *Knee injury and Osteoarthritis Outcome Score (KOOS)*<sup>92</sup>. No entanto devida à complexa experiência da dor das pessoas que vivem com OA, o uso destes métodos de avaliação não é suficientemente preciso. A *Osteoarthritis Research Society International/Outcome Measures in Rheumatology (OARSI/OMERACT)* desenvolveu uma nova medida baseada em evidências qualitativas. Este novo método, *Intermittent and Constant OA Pain (ICOAP)*, avalia várias perspectivas da dor.<sup>93</sup>

Tendo em conta a natureza multidimensional da dor, a *Initiative on Methods, Measurement, and Pain Assessment in Clinical Trials (IMMPACT)* recomendou seis domínios centrais e medidas associadas que devem ser considerados quando se

estuda qualquer tipo de dor crónica em ensaios clínicos. Segundo a IMMPACT devem ser analisados os parâmetros da dor (intensidade e uso de medicação), actividade física, actividade emocional, a taxa de melhoria e satisfação com os tratamentos, sintomas e efeitos adversos, e a disposição do doente.<sup>94</sup>

## Tratamentos

A dor persistente que acompanha o dia a dia das pessoas com OA, faz desta o motivo principal pela procura de cuidados de saúde. Periodicamente, inúmeras revisões são realizadas às *guidelines* e/ou recomendações existentes para a gestão da dor articular na OA. Entidades como a *American College of Rheumatology* (ACR), *American Geriatrics Society* (AGS), *The European League Against Rheumatism* (EULAR), *UK National Institute for Health and Clinical Excellence* (NICE), *American Academy of Orthopedic Surgeons* (AAOS) e *Osteoarthritis Research Society International* (OARSI) actualizaram e publicaram as suas *guidelines* com base nos resultados obtidos a partir de ensaios clínicos. As diferentes recomendações entre as diversas instituições demonstram uma heterogeneidade de estratégias terapêuticas, fruto dos distintos rigores metodológicos e de qualidade, abordando métodos farmacológicos e não farmacológicos.<sup>10,95–100</sup>

Múltiplas intervenções têm sido avaliadas para se conseguir gerir a dor articular associada à OA. Nos últimos anos, o grande foco tem recaído sobre estratégias como a perda de peso, o exercício, a acupuntura, o paracetamol, os AINEs, os opióides e os antidepressivos, particularmente, inibidores da recaptação de serotonina e noradrenalina, bem como terapias intra-articulares com glucocorticóides e preparações de hialuronos.<sup>11</sup> Novas abordagens como a utilização de anticorpos NGF, células estaminais ou mesmo os DMOADs são alguns dos exemplos dos tratamentos inovadores que procuram chegar mais longe que os tratamentos clássicos.

A panóplia de tratamentos que são hoje alternativa para o controlo da dor articular são consequência das muitas barreiras que têm se apresentam às diversas abordagens terapêuticas. Muitas dessas barreiras estão inteiramente associadas às mudanças fisiológicas relacionadas com o envelhecimento do organismo resultando na alteração da absorção bem como diminuição da excreção renal dos fármacos. Deficiência nas capacidades cognitivas e sensoriais, polimedicação e comorbilidades são outros dos exemplos de algumas barreiras.<sup>101</sup>

Uma vez que o controlo da dor articular não é um processo linear, têm sido estabelecidos pontos chave que podem aumentar o sucesso na abordagem terapêutica dos doentes com OA. Determinar as comorbilidades dos doentes, o estado cognitivo e funcional, os objectivos terapêuticos e expectativas, e ainda garantir um apoio social e familiar são a base do tratamento. De seguida procurar uma abordagem diversificada incluindo tratamentos farmacológicos e não-farmacológicos, bem como processos de reabilitação física e ocupacional. O terceiro ponto passa por desenvolver e

enriquecer uma aliança entre o doente e o médico que o acompanha, de modo a que o médico possa responder prontamente e com segurança aos pedidos do doente. O doente também tem de estar disposto a rever as suas terapêuticas que poderão ser susceptíveis a modificações. É igualmente bem como é necessário envolver e contratar cuidadores e procurar outros recursos que possam ajudar a reforçar a adesão aos tratamentos. Por fim, e não menos importante, é imprescindível reforçar os resultados positivos em cada visita.<sup>102</sup>

Na presente secção desta monografia a atenção incidirá exclusivamente nas diferentes abordagens terapêuticas existentes, passando primariamente pelos métodos clássicos, onde serão abordadas as terapêuticas farmacológicas, seguindo-se os métodos cirúrgicos, os métodos físicos, os métodos inovadores e, por fim, a Nanotecnologia.

## **Tratamentos Clássicos**

### **Tratamentos farmacológicos**

#### **Paracetamol**

É unânime entre as diferentes *guidelines* da OARSI, AAOS, NICE, EULAR e ACR que o paracetamol, ou acetaminofeno, é o agente de primeira linha no combate às dores. Esta recomendação analgésica é baseada em titulações de dose que podem ir até um máximo de 4 g por dia. O limite definido como dose máxima diária deriva dos dados clínicos que demonstraram hepatotoxicidade para doses superiores aos 4 g por dia.<sup>103</sup> O seu perfil de segurança favorável justifica a permanência deste fármaco como primeira linha de tratamento para adultos idosos com dores leves a moderadas.<sup>104</sup> Embora o perfil de segurança seja bom, quando comparado com outros analgésicos usados, o uso de paracetamol continua a ser a principal causa de hospitalizações por falência hepática. A composição qualitativa e quantitativa de certos medicamentos de venda livre, os conhecidos *over-the-counter* (OTC) é negligenciada por muitos dos utilizadores destes medicamentos de fácil acesso. A realidade é que mais de 600 OTCs têm na sua composição paracetamol, o que não surpreende que possam ser atingidas não intencionalmente doses tóxicas, o que justifica os internamentos por hepatotoxicidade.<sup>105</sup> Contudo, estudos recentes demonstraram que a toxicidade do paracetamol se estendia para além do fígado. Relatos de complicações na parte superior do trato gastrointestinal (GI) e o aumento de risco de complicações cardiovascula-

res (CV) são alguns dos exemplos. No entanto, o paracetamol continua a ser, em baixas doses, uma opção analgésica para muitos doentes, especialmente os idosos.<sup>106</sup>

Combinações de paracetamol com tramadol ou diclofenac, também têm sido usadas a fim de controlar as dores que acompanham diferentes condições patológicas, incluindo a OA. Um estudo comparou as combinações paracetamol-tramadol e paracetamol-diclofenac, em doses fixas, demonstrando que a última combinação originou uma redução significativa da dor bem como ocorrência de menos efeitos adversos que a primeira.<sup>107</sup>

### **Anti-inflamatórios não esteróides**

Os anti-inflamatórios não esteróides (AINEs) são, para algumas das entidades já mencionadas, também agentes de primeira linha apesar de haver alguma controvérsia. Esta discordância deve-se essencialmente às preocupações de segurança e eficácia que remetem os AINEs para segundo plano como é o caso das *guidelines* da ACR, NICE e EULAR.<sup>106</sup>

A acção farmacológica destes fármacos passa por inibir as enzimas ciclooxigenase (COX) nos humanos, o que por sua vez reduz a produção de prostaglandinas (PG).<sup>108</sup> Estas últimas sensibilizam os nociceptores periféricos a estímulos dolorosos, resultando no aumento da sensibilidade à dor.<sup>109</sup> Nos doentes com OA, em estruturas como o *synovium*, o osso e os tecidos envolventes da articulação ocorre a produção de PG resultante do processo inflamatório.<sup>109</sup>

A utilização de AINEs como o ibuprofeno e naproxeno, é frequentemente recomendada como opções terapêuticas para a OA. Contudo, o uso regular destes pode reduzir os efeitos cardioprotectores das doses baixas de antiagregantes plaquetários como, por exemplo, o ácido acetilsalicílico.<sup>110</sup>

As principais limitações da utilização destes fármacos passa pelos riscos elevados de potenciais efeitos adversos GI, cardiovasculares e renais.<sup>111</sup> No caso dos inibidores selectivos da COX-2, como, por exemplo, o rofecoxib, celecoxib e etoricoxib, os problemas major associados à sua utilização são os efeitos nocivos ao nível do aparelho CV. Este sub-grupo de AINEs demonstrou, em estudos passados, que aumentam o risco de desenvolver problemas CV, o que tem gerado uma preocupação acrescida na reavaliação do seu benefício/risco.<sup>112</sup> Ao uso de todos os AINEs têm sido associados efeitos adversos renais dependentes da dose com diferentes etiologias. Não tendo uma influência tão acentuada como os efeitos adversos GI e CV, muitos

dos efeitos a nível renal são reversíveis.<sup>111</sup> A fim de reduzir a toxicidade sistémica dos AINEs, foi desenvolvida uma forma de administração dos mesmos fármacos baseada na absorção transdérmica de AINEs. Ensaios clínicos de geles de diclofenac sódico a 1% e soluções de diclofenac sódico a 1,5% em 45,5% de dimetilsufóxido (DMSO) demonstraram ser formulações eficazes no alívio da dor bem como uma menor incidência de efeitos adversos sistémicos. No entanto, os AINEs tópicos apenas figuram nas *guidelines* da NICE e AAOS como tratamento de primeira linha para a OA do joelho.<sup>113</sup> Uma vez descoberta a utilidade da via transepidérmica, novos desafios têm sido lançados na procura de novos sistemas de libertação de fármacos. A libertação do aceclofenac através de lipossomas, microemulsões e nanopartículas lipídicas, são alguns dos exemplos que procuram essencialmente transpor desvantagens como a absorção limitada e efeitos adversos sistémicos.<sup>114</sup> Alguns destes sistemas serão discutidos com maior detalhe na secção da Nanotecnologia.

### Opióides

A terapêutica opiácea é uma alternativa às terapêuticas com paracetamol e AINEs quando estas não são suficientes para controlar as dores articulares dos doentes com OA. Contudo, o uso de opióides é controverso devido ao uso indevido, abuso e vício, bem como outros efeitos adversos. Das *guidelines* que vigoram de momento no controlo da dor crónica da OA, apenas a AAOS não recomenda a utilização de uma terapêutica opióide. As restantes aceitam a utilização deste grupo farmacêutico para a controlar a dor, sempre com algumas reservas.<sup>106</sup> O uso de opióides para a dor não cancerígena tem aumentado drasticamente nos últimos 25 anos na América do Norte e tem sido acompanhada de um aumento significativo de dependência e mortes por sobredosagem.<sup>115</sup>

O tramadol é, provavelmente, o opióide mais usado no controlo da dor crónica. É conhecido como um “opióide fraco” devido à sua fraca afinidade para os receptores opióides- $\mu$ , receptores que são o principal alvo terapêutico dos analgésicos opióides. A nível mundial, o uso de tramadol corresponde a mais de 823 milhões de tratamentos diários. Esta ampla experiência clínica com formulações de libertação imediata e libertação prolongada, confirma a eficácia do efeito analgésico do tramadol em diferentes doenças, com dor associada, bem como a baixa incidência de efeitos adversos.<sup>116</sup> Contudo, a evidência da eficácia limitada a curto e a longo prazo, mais o perfil de efeitos adversos, apresentam-se como barreiras adicionais ao uso de tramadol e outros opióides.<sup>117</sup> As alternativas ao tramadol para o controlo da dor crónica incluem opióides como a di-hidrocodeína, oxicodona, morfina, di-hidromorfina, metadona, oxi-

morfina e fentanil transdérmico, todos eles com doses de iniciação bem estabelecidas.<sup>96</sup>

A realidade da terapêutica opióide continua a ser um tema controverso, como demonstra uma revisão sistemática a ensaios aleatorizados para múltiplos opióides utilizados no controlo de várias condições de dor crónica, onde existe uma evidência da segurança relativa do uso de tramadol na OA, algo que não acontece com os demais opióides que continuam a ter evidências positivas fracas, indeterminadas ou mesmo negativas.<sup>118</sup>

### **Inibidores da recaptção de serotonina e noradrenalina**

Reconhecidos como medicamentos adjuvantes ao tratamento analgésico comum, os inibidores da recaptção de serotonina e noradrenalina (IRSNs) fazem parte de um grupo de fármacos no qual ainda fazem parte os antidepressivos tricíclicos, anticonvulsivantes e a lidocaína tópica.<sup>102</sup>

Fármacos como a duloxetina, venlafaxina e milnacipran inibem a recaptção da serotonina e noradrenalina no SNC, tendo demonstrado eficácia no tratamento dos transtornos depressivos maior e de ansiedade geral. Uma vez que a serotonina e a noradrenalina estão ambas envolvidas na transmissão de sinais pelas vias descendentes no processamento da dor, a investigação sobre esta classe de fármacos tem sido alvo de atenção especial. A utilização *off-label* da duloxetina para o controlo da dor crónica, é a mais representativa das utilizações de antidepressivos na OA.<sup>119</sup>

A duloxetina é actualmente o único antidepressivo aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA) para o controlo da dor crónica musculoesquelética.<sup>120</sup> Segundo um estudo de meta-análise que avaliou a eficácia da duloxetina, demonstrou não haver diferenças entre os tratamentos farmacológicos orais clássicos no controlo da dor na OA, havendo mesmo superioridade quando comparado com o tramadol e hidromorfina.<sup>121</sup>

### **Outros agentes**

Na terapêutica farmacológica são ainda recomendados, mas com menor frequência, outros antidepressivos. O mais representativo dos antidepressivos tricíclicos usado na terapêutica da OA é a amitriptilina. Um estudo demonstrou que este fármaco reduziu a dor em 67% dos doentes em estudo.<sup>122</sup>



A utilização de anticonvulsivantes também é uma opção na terapêutica dos doentes com OA. A pregabalina, fármaco usado no controlo da dor neuropática, demonstrou ter utilidade também no controlo da dor de origem inflamatória, como é o caso da dor na OA.<sup>123</sup> No mesmo estudo da amitriptilina, citado anteriormente, a utilização de gabapentina apresenta-se como outra alternativa, não havendo diferenças no alívio da dor quando comparado com o antidepressivo tricíclico.<sup>122</sup>

Os agente tópicos como a capsaicina e a lidocaína a 5%, são outros fármacos que demonstraram ser eficazes no controlo da dor na OA. Segundo Weerachai Kosuwon e colaboradores, a utilização de um creme de capsaicina a 0,0125%, aplicado três vezes ao dia, contribuiu para o alívio significativo da dor leve a moderada na OA.<sup>124</sup> Analogamente, concluiu-se que a utilização de adesivos de lidocaína a 5% são bem tolerados pelos doentes com OA, não tendo sido reportados efeitos adversos sistémicos nem interacções entre fármacos quando administrado com analgésicos sistémicos.<sup>125</sup>

### **Injecções intra-articulares**

As injecções intra-articulares são uma opção terapêutica quando não se pretende avançar para uma método cirúrgico, bem como, quando os tratamentos clássicos são ineficazes. Corticosteróides, ácido hialurónico e produtos derivados do sangue são alguns dos exemplos das formulações intra-articulares existentes.

Existem actualmente 5 injectáveis corticosteróides que têm aprovação da FDA para injecções intra-articulares. Estas consistem em formulações de acetato de metilprednisolona, acetato de triancinolona, acetato de betametasona e fosfato sódico de betametasona, hexacetonido de triancinolona, e dexametasona. Embora os resultados dos estudos sejam inconclusivos, foi demonstrado que estas injecções proporcionam uma redução a curto prazo da dor osteoartrítica e que podem ser um tratamento complementar aos tratamentos principais no alívio das dores moderadas a severas.<sup>126</sup>

Outro exemplo é o ácido hialurónico. O ácido hialurónico é produzido ou a partir da crista de galo ou via fermentação bacteriana *in vitro*.<sup>127</sup> Os produtos injectáveis aprovados pela FDA são o hialuronato de sódio, Hylan G-F 20 e o hialuronano de elevado peso molecular. Normalmente as injecções variam de 1 a 5 injecções que devem ser repetidas ao fim de 6 meses caso o doente esteja satisfeito com o injecção previamente tomada.<sup>126</sup> Os produtos comerciais que se baseiam em injecções intra-articulares de ácido hialurónico são Hyalgan<sup>®</sup>, Artz<sup>®</sup>, Orthovisc<sup>®</sup>, Healon<sup>®</sup>, Opegan<sup>®</sup> e

Opelead®.<sup>128</sup> Estudos clínicos demonstraram que as injeções intra-articulares de ácido hialurónico são seguras para os doentes com OA nos joelhos, sendo os únicos efeitos adversos, com significância, reacções locais transitórias com taxas de ocorrência de 2 a 4%.<sup>129-132</sup> Em suma, as evidências das pesquisas neste âmbito demonstraram que as injeções de ácido hialurónico são seguras e podem ter eficácia e proporcionar uma redução na dor leve do joelho com OA até 24 semanas.<sup>126</sup>

Finalmente, injeções de plasma rico em plaquetas são produtos que permitem de uma forma simples, de baixo custo e minimamente invasiva obter uma concentração de muitos factores de crescimento e biomoléculas activas. O seu uso está associado com a redução da inflamação, alívio da dor, funções melhoradas e uma possível regeneração da cartilagem. Existem estudos que indicam que de facto as injeções de plasma rico em plaquetas são promissoras para o alívio da dor, melhoras das funções no joelho e qualidade de vida. No entanto, não existem dados que comprovem que possam causar a regeneração da cartilagem em doentes com substanciais e irreversíveis danos no osso e cartilagem.<sup>133-135</sup>

## **Tratamentos Cirúrgicos**

### **Artroplastia total do joelho**

A artroplastia total do joelho (ATJ), ou substituição total do joelho, é um método cirúrgico amplamente utilizado que tem melhorado significativamente a qualidade de vida dos doentes com OA sintomática nos joelhos.<sup>136</sup> Desde a década de 60 que este tipo de intervenção cirúrgica tem evoluído, passando por uma grande variedade de próteses utilizadas. As taxas de sobrevivência a 10 anos reportadas por diferentes estudos, após o procedimento cirúrgico, garantem taxas superiores a 90%. O sucesso das suas utilizações foi medido tendo em conta falhas que possam ocorrer como a remoção do implante devido a infecção ou revisão.<sup>137</sup> O ganho na qualidade de vida dos doentes com OA depende no entanto de uma profunda análise antes e após a substituição total do joelho. A avaliação da ATJ requer experiência prévia por parte do cirurgião e um profundo conhecimento das várias próteses disponíveis com os seus conceitos biomecânicos e as diferentes estratégias de implantação. Assim, os médicos cirurgiões fazem uma avaliação detalhada que inclui exames radiográficos (raios X, ressonância magnética, cintilografia e ultrassons) e bioquímicos (serologia e bacteriologia de aspirados do líquido sinovial) a fim de escolherem a prótese mais adequada à clínica do doente.<sup>138</sup>

### **Artroscopia**

A cirurgia artroscópica foi introduzida pela primeira vez nos joelhos degenerativos em 1934 por Burman, Finkelstein e Mayer. Contudo devido à limitação dos instrumentos na altura, este processo apenas permitia uma lavagem simples da articulação. Nomes como os de Magnuson e Haggart estão associados às primeiras técnicas de desbridamento que se baseavam em processos abertos (não artroscópicos)<sup>139,140</sup> No ano de 1990, Burks definiu o papel da artroscopia no tratamento da OA do joelho afirmando que esta permitia a identificação e tratamento de lesões locais, preservando a articulação.<sup>141</sup> Os procedimentos de artroscopia para a OA do joelho incluem lavagem, meniscectomia parcial, condroplastia, sinovectomia, remoção de corpos soltos, remoção de osteófitos e adesiólise, que são realizados em combinação dependendo do tipo de lesão articular.<sup>142,140</sup>

A eficácia da artroscopia no tratamento da OA dos joelhos é, no entanto, limitada. Da mesma forma como acontece na ATJ, para se obter resultados bem sucedidos no tratamento, é necessário recorrer à história clínica bem como a exames radiográficos do doente, para que se possa adaptar o tipo de procedimento de artroscopia adequado à sua situação clínica.<sup>142</sup>

### **Outros procedimentos cirúrgicos**

Não menos importantes, procedimentos cirúrgicos como a artrodese, o realinhamento e a osteoplastia, são alternativas quando a ATJ e as artroscopias não são viáveis, ou quando existem falhas na aplicação dos mesmos.<sup>143-147</sup>

### Tratamentos Físicos

A procura de uma melhor qualidade de vida e alívio da dor na OA, sem efeitos adversos, coloca os tratamentos não-farmacológicos como alternativa às terapêuticas farmacológicas. Nas *guidelines* da ACR, AAOS, OARSI, EULAR e NICE são recomendados tratamentos de reforço muscular e exercício aeróbico, educação para estilos de vida saudável e perda de peso em alternativa ao paracetamol e os demais fármacos usados na analgesia.<sup>10,95,97,99,100</sup> Tratamentos de estimulação eléctrica nervosa e térmicos também se apresentam como alternativas aos métodos farmacológicos e não-farmacológicos já mencionados.<sup>148</sup>

A acupuntura utiliza pequenas agulhas finas que são manipuladas pelas mãos a fim de gerarem uma punção em pontos anatómicos específicos. A punção que é gerada, pensa-se ser capaz de bloquear o fluxo das vias de energia natural designadas de meridianos.<sup>149</sup> Existe evidências que a acupuntura é uma intervenção segura para os doente com OA, nas quais foi reportada a redução da dor.<sup>150</sup>

No entanto, existe alguma controvérsia na sua recomendação pelas diferentes *guidelines*. Este tratamento é aconselhado pela OARSI como alternativa ao controlo da dor na OA. Segundo a AAOS, a acupuntura apresenta uma evidência inconclusiva, já a ACR apenas recomenda a acupuntura em doentes como dores moderadas a severas que são incapazes ou estão relutantes em avançar para um ATJ. As *guidelines* da EULAR e NICE, simplesmente não recomendam o uso da acupuntura.

O Tai Chi é outro tipo de exercício que combina movimentos suaves, meditação e respiração profunda.<sup>149</sup> O Tai Chi não é incluído como um tratamento não-farmacológico na maior parte das recentes *guidelines* para a OA no joelho. Contudo, a ACR inclui nas suas recomendações mais recentes a prática de Tai Chi como um tratamento não-farmacológico.<sup>95</sup> Num ensaio aleatorizado controlado, 40 doentes, com uma média de 65 anos e média de índice de massa corporal de 30 kg/m<sup>2</sup>, manifestaram redução da dor bem como melhoras na sua função física quando praticaram Tai Chi.<sup>151</sup> Apesar desta evidência positiva, mais estudos serão necessários para avaliar os mecanismos biológicos envolvidos e os benefícios da prática do Tai Chi na população em geral.

O Yoga combina a prática do exercício com a relaxamento e meditação. O principal foco desta técnica passa pelos exercícios de alongamento, respiração e relaxamento, procurando adquirir posturas correctas para o corpo. Um estudo recente, realizado numa população do sexo feminino, comprovou que a prática de Yoga parece

ser uma opção viável e segura pra quem sofre de OA nos joelhos, conduzindo a melhoras na sintomatologia e na função física.<sup>152</sup>

Outro tipo de tratamento não-farmacológico é a massagem. Este tipo de terapia envolve um contacto físico directo e manipulação de grupos musculares afectados, bem como músculos em situação de espasmo.<sup>149</sup> A aplicação das massagens como método não-farmacológico tem sido extensamente estudado. Em 2012, um estudo aleatorizado demonstrou a eficácia da terapia por massagens, em doentes com OA nos joelhos, provando que pode ser uma alternativa no controlo da dor osteoartrítica. Segundo este mesmo estudo, 60 minutos de tratamento de massagens suecas uma vez por semana, num protocolo de 8 semanas de tratamento para a OA nos joelhos, provou ser superior quando comparado com um tratamento de duração de apenas 30 minutos.<sup>153</sup> A potencialidade deste tipo de terapia parece ser promissora, no entanto, ainda não é definitiva, sendo necessário mais investigação.

Além disso, dos factores de risco para a OA já referidos, a obesidade apresenta-se como um dos principais factores de risco modificáveis.<sup>154,155</sup> As *guidelines* da ACR e EULAR recomendam a necessidade de perda de peso ao doentes com OA, obesos ou com excesso de peso.<sup>95,97</sup> Em 2006, Gary e colaboradores, submeterem 87 adultos idosos obesos (idades superiores a 60 anos e IMC superiores a 30 kg/m<sup>2</sup>) a um programa intensivo de perda de peso do qual constataram que, através de uma dieta deficiente em energia e com a prática de exercício físico, obtiveram melhoras na função física.<sup>156</sup>

A prática de exercício é recomendado por todas as *guidelines* clínicas como componente à gestão da dor osteoartrítica.<sup>10,95,97,99,100</sup> Segundo uma revisão de ensaios clínicos aleatorizados, a terapia de exercício reduz a dor e a incapacidade reportada pelo doentes com OA, mesmo não havendo dados que definam um regime óptimo de exercício.<sup>157</sup> Muitos são os tipo de exercício descritos na literatura, incluindo fortalecimento muscular, treino de resistência, alongamento e amplitude de movimento, condição aeróbica (ciclismo e caminhada), exercício neuromuscular, treino de equilíbrio e o Tai Chi, como já foi referenciado.<sup>158</sup> As recomendações da ACR consideram que as pessoas com OA nos joelhos e/ou anca devem participar em exercícios baseados na condição cardiovascular e resistência, bem como no exercício aquático.<sup>95</sup> Uma intervenção combinada de fortalecimento, flexibilidade e exercício aeróbico é, segundo uma revisão sistemática de 2013, a melhor forma para se conseguir melhoras nas limitações funcionais.<sup>159</sup> Ainda assim, continua a ser necessária uma investigação aprofundada no âmbito da prática de exercício para definir o efeito benéfico de cada tipo de

programas de exercício com diferentes intensidades e frequências de modo a se indicar o melhor quadro clínico de exercício para os indivíduos com OA.<sup>160</sup>

## **Tratamentos Inovadores**

### **Anticorpos NGF**

Como já foi referido, o NGF é parte integrante do processo inflamatório articular responsável pela dor crónica. De forma a contrariar a sua acção, uma nova abordagem baseada na utilização de anticorpos contra o NGF tem sido estudada como potencial abordagem terapêutica na OA. No ano de 2004, um estudo pré-clínico demonstrou que a terapia com anticorpos NGF podia inibir a dor cancerígena nos ossos, no entanto faltavam as evidências da sua eficácia nos ensaios em humanos.<sup>161</sup> No ano seguinte surgiram os primeiros relatos de ensaios clínicos em doentes com OA.<sup>11</sup> Somente em 2010, Lane e colaboradores, conseguiram publicar o primeiro ensaio clínico de um anticorpo monoclonal humanizado contra o NGF, o tanezumab. Neste estudo, 450 doentes com OA nos joelhos reportaram reduções significativas na dor, ao caminhar, quando lhes foi administrado diferentes doses do anti-corpo, o que revelou uma média de 45-62% na redução da dor quando comparado com a resposta placebo de 22%.<sup>12</sup> O fulranumab é outro dos anticorpos monoclonais que ainda hoje está a ser estudado em ensaios clínicos.<sup>162</sup>

O mecanismo envolvido na actividade do NGF tem sido extensamente estudado. Um aspecto importante mencionado nos estudos até hoje realizados é o facto dos anticorpos NGF não transporem a barreira hematoencefálica e assim apenas actuarem a nível periférico.<sup>11</sup>

Esta nova abordagem surge como uma possível alternativa a situações em que os doentes não podem ser medicados com AINEs, o que pode tornar esta uma terapêutica válida na OA.

### ***Disease modifying OA drugs***

As abordagens terapêuticas até agora mencionadas eram direccionadas para o controlo da sintomatologia da OA, umas mais seguras e eficazes que outras, e vice-versa. Um nova estratégia passa por controlar a progressão das modificações estruturais na OA. Fármacos modificadores da progressão da patologia, os DMOADs, têm como desafio primordial desacelerar a progressão da OA procurando tanto o benefício estrutural como clínico.

Visto a OA ser uma doença centrada na cartilagem articular, as substâncias que tendem a protegê-la durante o normal processo de deterioração são designadas de agentes “condroprotectores”. Quando existe associação entre o efeito condroprotector e um benefício clínico que possa alterar o curso da doença, então esses agentes designam-se de *disease modifying OA drugs* (DMOADs).<sup>163</sup> Os resultados da utilização destes agentes podem ir desde do atraso da progressão da doença, à completa paragem da sua progressão, à reversão da progressão ou mesmo à prevenção do desenvolvimento da doença.

Muitos estudos clínicos sugerem uma panóplia de agentes capazes de modificar a progressão da doença incluindo sulfato de glucosamina, sulfato de condroitina, hialuronato de sódio, doxiciclina, inibidores de metaloproteinases da matriz (MMP), bifosfonatos, calcitonina, diacereína e insaponificáveis de abacate e soja (ASUs).<sup>164</sup> Embora se tenha provado que alguns destes agentes retardaram a progressão estrutural, nem todos demonstraram benefícios na sintomatologia. Deste modo, as entidades reguladoras ainda não aprovaram nenhum destes agentes farmacológicos, por nenhum ter convencido ser eficaz na modificação da doença com efeitos clinicamente significativos. Os requisitos regulamentares exigem que as *guidelines* descrevam o processo de aprovação dos fármacos para a OA, o que inclui o tratamento sintomático, a modificação estrutural e a prevenção da doença. Assim a FDA e a Agência Europeia do Medicamento (EMA) recomendam medidas radiográficas do espaço articular como base para os ensaios clínicos de DMOADs.<sup>164</sup>

Os agentes que são ilustrados na Figura 4 são alguns dos exemplos dos estudos que se encontram em desenvolvimento. O facto da OA ser uma doença que envolve a totalidade das articulações sinoviais, o desenvolvimento de DMOADs é direccionado para os diferentes tecidos da articulação, tendo cada um alvo específico. Os bifosfonatos, a calcitonina e a proteína morfogénica óssea 7 (BMP7) são exemplos de potenciais DMOADs para a remodelação óssea. Já a inibição de moléculas como a IL-1 $\beta$ , as MMP, a catépsina K e a agrecanase, mais a utilização de BMP7 e o factor de crescimento fibroblástico 18 (FGF18) são alternativas em análise para contrariar o desgaste da cartilagem. Inibidores de TNF e IL-1, bem como antagonistas da bradiquina são vistos como promissores DMOADs no controlo da hipertrofia sinovial.<sup>164</sup>

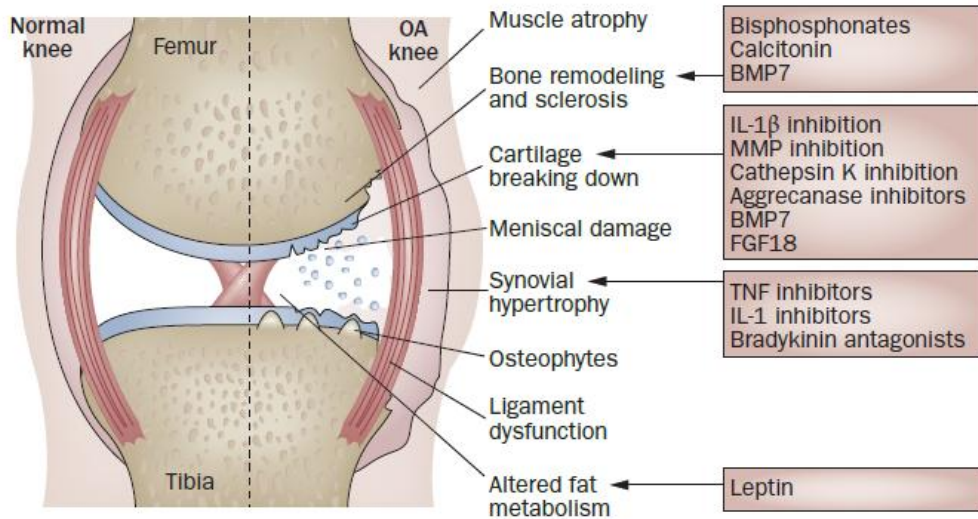


Figura 4 - Joelho normal (lado esquerdo) e joelho com OA (lado direito) com as diferentes alterações estruturais e potenciais agentes candidatos a DMOADs.<sup>164</sup>



## Nanotecnologia

A Nanotecnologia é hoje definida segundo a *National Nanotechnology Initiative* (NNI) como a manipulação e controlo da matéria de dimensões aproximadamente entre 1 e 100 nanómetros (nm), onde fenómenos únicos permitem novas aplicações não viáveis quando se trabalha com materiais a granel ou mesmo com átomos individuais ou moléculas.<sup>165</sup>

Com a introdução da terminologia “nano”, formulações já existentes, como os sistemas coloidais, renascem com a designação de nanossistemas.<sup>166,167</sup> A primeira descrição de um sistema de Nanotecnologia de libertação de fármacos surge na década de 60 com a apresentação de vesículas lipídicas, que mais tarde se tornariam conhecidas como lipossomas.<sup>168</sup> No final dos anos 70 foram apresentados os esforços de alguns investigadores em contrariar a cardiotoxicidade da doxorubicina por via da encapsulação em vesículas fosfolípídicas à nanoescala, daquele que viria a ser o primeiro nanofármaco a ser aprovado pela FDA.<sup>169,170</sup> Em 1976, é descrito pela primeira vez um sistema polimérico para a libertação de macromoléculas como as proteínas.<sup>171</sup> O primeiro lipossoma de circulação prolongada é descrito em 1987, sendo este estudo baseado na descoberta da utilização de Polietilenoglicol (PEG), em 1990, como um polímero responsável por aumentar o tempo de circulação dos lipossomas no organismo, bem como para as primeiras nanoesferas poliméricas biodegradáveis, em 1994.<sup>172-174</sup> Ainda durante a década de 80, três companhias americanas (*Vestar*, *The Liposome Company* e *Liposome Technology Inc.*) competem, umas com as outras, no desenvolvimento de três diferentes formulações lipossomais de uma antraciclina. Graças a esta investigação da tecnologia lipossomal, surge em 1995 o primeiro nanofármaco aprovado pela FDA com o nome de Doxil<sup>®</sup> (lipossomas de doxorubicina).<sup>175</sup>

Somente a partir do ano 2000 é que a terminologia nano se instalou na literatura dos lipossomas. Em 2012, Michael e colaboradores, fizeram uma avaliação do panorama dos produtos de nanomedicina aprovados e em fase de investigação, tendo identificado 67 nanodispositivos e 33 sistemas nanoterapêuticos comercializados.<sup>176</sup> Destacaram ainda que 25 dispositivos e 122 sistemas terapêuticos se encontram correntemente em desenvolvimento de um total de 789 ensaios clínicos em curso.<sup>176</sup> Num artigo de revisão recente, 43 produtos são mencionados como nanofarmacêuticos tendo as suas formulações sido publicadas ou referidas, no mínimo uma vez, em publicações de revisão ou comunicados de imprensa como nanofarmacêuticos, nanofármacos ou nanomedicamentos.<sup>177</sup> Segundo Riviera e colaboradores, os nanofarmacêuticos são definidos como produtos farmacêuticos à nanoescala, isto é, produtos farma-

cêuticos onde o nanomaterial desempenha o papel essencial ou adiciona funcionalidades ao composto anterior.<sup>178</sup> Para Volkmar Weissig, Tracy Pettinger e Nicole Murdock, a classificação como nanofarmacêutico tem de satisfazer dois critérios: a Nanotecnologia tem de desempenhar o papel principal no processo de fabrico e o nanomaterial utilizado tem de ser essencial para a actividade terapêutica ou conferir propriedades adicionais e únicas ao princípio activo.<sup>177</sup> A potencialidade da Nanotecnologia para revolucionar a medicina é hoje visível pela rápida ocorrência das inovações tecnológicas, o que faz deste ramo da tecnologia farmacêutica um fenómeno num profundo crescimento exponencial com o aumento do número de patentes.<sup>179</sup>

Nos tratamentos convencionais, o modo de acção passa por controlar a sintomatologia criada pelas doenças e os problemas que ocorrem ao nível dos tecidos. Quando um fármaco é avaliado para uso clínico, tanto a sua eficácia terapêutica como a sua toxicidade têm de ser tidas em conta. Alguns fármacos são fracamente solúveis em água, mas podem ser dissolvidos em solventes orgânicos, sendo estes últimos responsáveis, muitas vezes, por desencadear reacções adversas no organismo humano após a sua administração.<sup>180</sup> Este tipo de situações tem sido contornadas com aplicação da Nanotecnologia a alguns fármacos de forma a obter a máxima eficácia do fármaco. A introdução da Nanotecnologia pode ser entendida segundo a analogia feita à molécula de colesterol. A popular dicotomia que é empregue ao colesterol, como “bom” e “mau” colesterol, no fundo refere-se à mesma molécula de colesterol. A distinção é feita com base na ligação a complexos de lipoproteínas (transportadores) diferentes o que define se o colesterol irá actuar como agente benéfico ou como agente prejudicial, respectivamente, o colesterol ligado à lipoproteína de alta densidade (HDL) é o “bom” colesterol e o colesterol ligado à lipoproteína de baixa densidade (LDL) o “mau” colesterol.<sup>181</sup> O “transportador” certo para um determinado fármaco, poderá ser a diferença entre esse mesmo fármaco cumprir, ou não, os requisitos de eficácia e segurança. Assim, propriedades chave como a tendência para a agregação, tamanho de partícula, morfologia, carga eléctrica superficial, cristalinidade, perfis de libertação do fármaco, biocompatibilidade e biodegradabilidade devem estar presentes e optimizadas nas partículas que vão permitir a distribuição do fármaco no organismo.<sup>181</sup>

Mediante a composição dos nanossistemas, estes podem apresentar diferentes de mecanismos de acção, que em última instância vão influenciar as farmacocinéticas dos fármacos encapsulados.

As nanopartículas devido ao tamanho conseguem alcançar a célula alvo de uma forma eficaz. Uma das explicações para este facto relaciona-se com o efeito da elevada permeabilidade e retenção (EPR) e que resulta da relativa facilidade de extravasamento de macromoléculas ou nanopartículas através dos vasos sanguíneos.<sup>182</sup> Outra explicação passa pela capacidade das nanopartículas dissimularem o sistema mononuclear fagocítico (MPS: *mononuclear phagocytic system*), ao qual se designou como *targeting mononuclear phagocytic system*. De forma resumida, quando as nanopartículas atingem a circulação sistémica, estas ligam-se a proteínas transportadoras como a albumina, fibrinogénio e globulinas e a opsonização é seguida de fagocitose pelas células do sistema mononuclear fagocítico como, por exemplo, os macrófagos.<sup>183,184</sup> A forma de contrariar o MPS depende, por exemplo, da ausência ou presença de cadeias de PEG na superfície do nanossistema.<sup>185</sup> A formulação AmBisome<sup>®</sup> é um exemplo de lipossoma com o mecanismo *targeting mononuclear phagocytic system*.<sup>177</sup> O terceiro, e último, mecanismo é baseado nas características das nanopartículas, por exemplo, quando se pretende uma libertação lenta e contínua de fármaco. Um exemplo de libertação controlada do fármaco é o DepoDur<sup>®</sup>.<sup>177</sup>

### **Tipos de nanossistemas na clínica**

Actualmente são muitos os nanossistemas que, após aprovação da FDA, foram introduzidos no mercado destinados a ser utilizados em terapêuticas específicas. Lipossomas, formulações lipídicas não-lipossomais, proteínas, polipéptidos e aptâmeros PEGuilados, nanoformulações poliméricas, conjugados de proteína-fármaco, nanoformulações surfactantes, nanoformulações metálicas e virossomas são alguns dos exemplos de nanossistemas no mercado que serão resumidamente abordados neste subcapítulo, destacando os nanossistemas aplicados às dor articular.<sup>177</sup>

Os lipossomas foram dos primeiros nanossistemas a surgir na indústria farmacêutica, apesar de, até ao ano de 2000, estes serem conhecidos apenas como vesículas lipídicas, e não como lipossomas. Baseado no método de preparação, estes nanossistemas podem ter tamanhos que vão desde os 25 aos 1000 nm, no entanto, as preparações lipossomais mais frequentemente usadas exibem tamanhos na ordem dos 50 a 200 nm. Estes nanossistemas são usados como transportadores de fármacos de carácter hidrofílico, encapsulando-os no meio aquoso interno, bem como moléculas

hidrofóbicas nas bicamadas fosfolipídicas. Para que os lipossomas sejam adequados para aplicações terapêuticas, a distribuição do seu tamanho tem de ser controlada para que possam facilmente passar, repetidamente, sob elevada pressão, através das membranas com poros de tamanhos definidos.<sup>177</sup> O primeiro fármaco lipossomal aprovado pela FDA, o Doxil<sup>®</sup>, tem também na sua constituição, para além dos fosfolípidos e colesterol, cadeias de PEG à superfície. O PEG liga-se aos fosfolípidos na membrana lipossomal através de uma reacção química de conjugação simples com o objectivo de prolongar a tempo de circulação do lipossoma na circulação sanguínea.<sup>175</sup> Toda a informação que foi discutida nos lipossomas aplica-se também às nanoformulações lipídicas não-lipossomais com a excepção de não serem constituídas por uma bicamada fosfolipídica. Na realidade, através de imagens de microscopia electrónica é possível visualizar que estas estruturas são compostas por uma única camada e não por uma bicamada lipídica. A nanoformulação Amphotec<sup>®</sup> é o exemplo mais conhecido deste tipo de nanossistema.<sup>177,186</sup> A introdução de PEG nas nanoformulações de macromoléculas biologicamente activas (proteínas e polipéptidos peguizados), geralmente, aumenta os seus raios hidrodinâmicos, prolonga o seu tempo em circulação, diminui as proteólises, diminui as excreções renais, e impede que as macromoléculas, sejam detectadas pelo sistema imunitário, sem obstruir o local de interacção.<sup>187</sup> Esta técnica é muito aplicada a terapêuticas à base de interferões, como são os casos dos nanoformulações Pegasys<sup>®</sup> e Pegintron<sup>®</sup>.<sup>177</sup> As nanoformulações poliméricas são outro tipo de nanossistemas que compreendem um vasto e heterogéneo grupo de terapêuticas à nanoescala. Os fármacos são incorporados em formulações com diferentes combinações de polímeros, resultando na alteração das propriedades farmacocinéticas. Os principais mecanismos envolvidos são o EPR e o MPS, destacando-se nanoformulações como a Eligard<sup>®</sup>, Genexol<sup>®</sup>, Opaxio<sup>®</sup> e Zinostatin Stimalamer<sup>®</sup>. Os conjugados de proteína-fármaco não são mais do que formulações que tiram proveito da capacidade que as proteínas têm em transportar diferentes moléculas ao nível da circulação sanguínea. A albumina, principal proteína presente no sangue humano, tem sido alvo de um foco especial com vista a melhorar os perfis farmacocinéticos de muitos fármacos, e a realidade é que já são muitos os ensaios clínicos que procuram terapêuticas com a participação desta proteína.<sup>188</sup> O protótipo destas nanoformulações é, sem dúvida, o Abraxane<sup>®</sup>, um conjugado de albumina com paclitaxel para o tratamento do cancro metastático da mama.<sup>177</sup> As nanoformulações baseadas em surfactantes Fungizone<sup>®</sup>, Diprivan<sup>®</sup> e Estrasorb<sup>®</sup> são alguns dos exemplos deste tipo de formulações que veiculam os respectivos fármacos sob a forma de dispersões micelares. Os nanocristais são os únicos nanossistemas que são 100% compostos por fármacos insolúveis em água sem qualquer adição de excipientes ou outro qualquer sistema de

veiculação.<sup>177</sup> Os virossomas são outro exemplo de nanossistemas. A capacidade evolutiva dos vírus levou a ciência a tentar tirar partido das suas capacidades em infectar células para o sucesso da terapia genética. Em 1990, a NIH aprovou a primeira transferência de genes nos humanos. Mas, a primeira terapêutica genética foi aprovada, em 2003, na China e Filipinas pela *State Food and Drug Administration* da China. A Gendicine<sup>®</sup>, é uma terapêutica genética da proteína recombinante Ad-p53 para as células escamosas do carcinoma da cabeça e pescoço.<sup>189</sup> Feridex<sup>®</sup>, Feraheme<sup>®</sup> e NanoTherm<sup>®</sup> são os nanossistemas metálicos aprovados pela FDA, os dois primeiros, tendo a produção de Feridex<sup>®</sup> cessado em 2008. O Feraheme<sup>®</sup> é hoje uma alternativa para o tratamento da anemia ferropénica, uma vez que estes nanossistemas libertam o ferro dentro dos macrófagos do MPS. Posteriormente, o ferro entra para reservas intracelulares de ferro ou é transferido pela transferrina plasmática.<sup>177</sup>

### **Nanossistemas aplicados à dor articular**

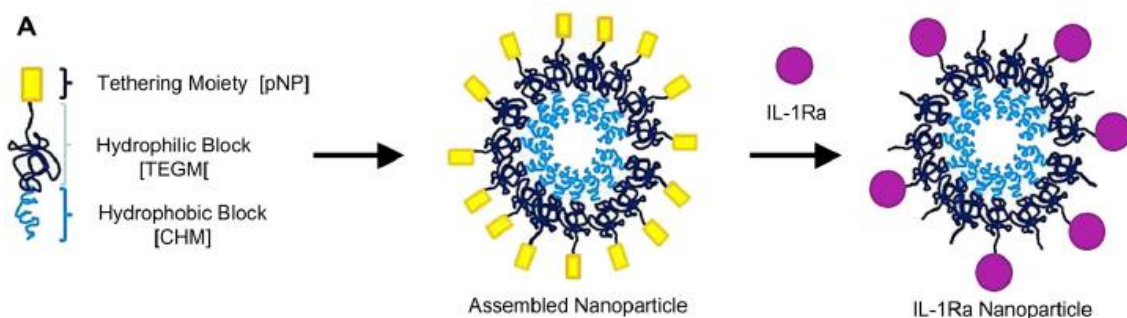
Um estudo em 2002 realizado por L.Cai e colaboradores demonstrou as potencialidades da libertação retardada de insulina numa formulação com aplicabilidade no tratamento da OA. Segundo os resultados deste estudo, a insulina apresenta efeitos positivos no metabolismo da matriz em condrócitos isolados e em amostras de cartilagem articular de porcos, vacas e humanos. Esta proteína é capaz de estimular a síntese de proteoglicanos bem como contrariar a acção da IL-1, inibir a libertação de PGs e produção de óxido nítrico (ON). Devido ao reduzido tempo de semi-vida da insulina no corpo humano e à sua estabilidade diminuir drasticamente na presença da cartilagem articular, os autores deste estudo propuseram-se a desenvolver uma formulação de insulina estabilizada. Assim, criaram microsferas de ácido poliláctico-co-glicólico (PLGA) contendo insulina que demonstraram ser eficazes nos testes *in vitro* e *in vivo*.<sup>190</sup> Apesar das formulações sintetizadas não serem à nanoescala, este estudo provou ser possível encapsular proteínas como a insulina e beneficiar das suas propriedades biológicas para o tratamento da OA e, conseqüentemente, da dor articular.

Em 2005 Xiaoling Zhang e colaboradores, realizaram um estudo com base no papel fisiopatológico da IL-1 $\beta$  no qual se propuseram a explorar a eficácia na terapia genética de nanopartículas de quitosano contendo genes de um antagonista dos receptores da IL-1 (IL-1Ra) ou genes de IL-10 (interleucina anti-inflamatória) nos joelhos de coelhos com OA. Neste estudo pretendiam examinar o local da expressão transgénica e eficiência da transducção de genes, bem como a eficiência da terapia genética *in vivo* através da libertação directa de nanopartículas quitosano-DNA como nova abordagem terapêutica para controlar a progressão da doença. Com isto, foi

demonstrado que eram detectáveis níveis de expressão de IL-1Ra com a persistência dos plasmídeos, no mínimo duas semanas, após injeções de nanopartículas de quitosano-IL-1Ra. Com base nos resultados do estudo, o uso de nanopartículas de quitosano-IL-1Ra demonstrou ser capaz de reduzir a degradação cartilágnea e retardar a progressão das alterações estruturais na OA.<sup>191</sup>

Há muito tempo que é unânime a particularidade de personalizar as nanopartículas para que estas possam aumentar o tempo de retenção de fármacos nos locais de acção. Um estudo publicado em fevereiro 2008 por Dominique A. Rothenfluh e *et al* demonstrou a produção de nanopartículas de poli (sulfureto de propileno) (PPS) e funcionalizadas com *Pluronic*<sup>®</sup> à superfície das nanopartículas. Após análise de péptidos candidatos, os autores descobriram que o ligando específico para a cartilagem articular capaz de se ligar aos componentes da matriz, como o colagénio II  $\alpha 1$ , foi o WYRGRL. Assim, a imobilização deste ligando nas nanopartículas de PPS, com diâmetro de 38 nm, levou ao aumento em 72 vezes na vectorização destas ao compartimento extracelular da cartilagem articular em ratos.<sup>192</sup>

Já em 2012, Rachel E. Whitmire e colaboradores, como base na fisiopatologia da OA propuseram-se a desenvolver nanopartículas de IL-1Ra. Os objectivos deste estudo passavam por desenvolver e caracterizar um novo copolímero em bloco que assentasse nas nanopartículas e que eficientemente acoplasse a proteína IL-1Ra ao nível da superfície. Estas nanopartículas foram desenhadas de forma a contrariar o seu carácter hidrofílico, baixa eficiência de encapsulação de fármacos e as condições químicas severas durante o processamento da partícula (Figura 5).



**Figura 5 - Esquema da auto-montagem das nanopartículas e conjugação proteica.**<sup>193</sup>

Apesar de as nanopartículas de IL-1Ra inibirem a sinalização mediada para a IL-1 com uma intensidade semelhante à IL-1Ra solúvel, ao fim de 14 dias foi possível avaliar através de imagens IVIS que as nanopartículas aumentaram significativamente o tempo de retenção da IL-1Ra nos joelhos dos ratos com um tempo de semi-vida maior ( $3,01 \pm 0,09$  dias) quando comparado com o tempo de semi-vida do IL-1Ra

solúvel ( $0,96 \pm 0,08$  dias) (Figura 6), sem induzirem quaisquer alterações degenerativas na estrutura ou composição da cartilagem.<sup>193</sup>

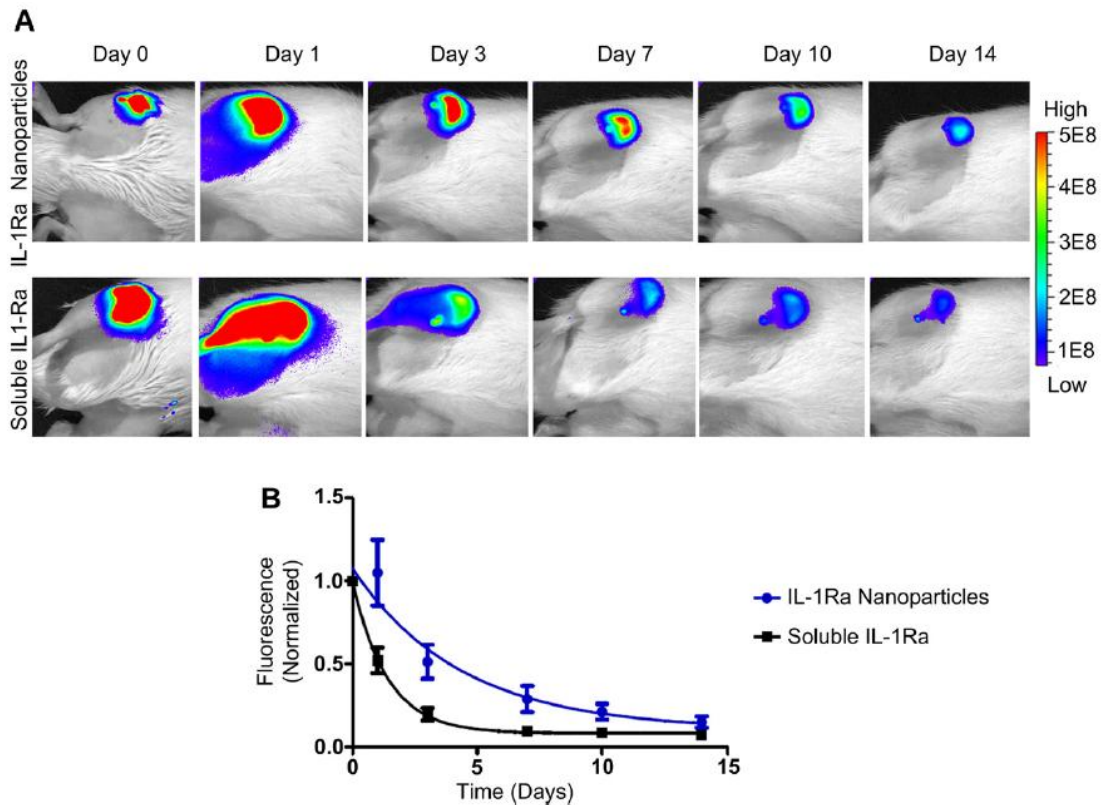


Figura 6 - Nanopartículas de IL-1Ra e IL-1Ra solúvel no espaço intra-articular. Imagens IVIS (A) e fluorescência em função do tempo de *follow-up* (B) de nanopartículas de IL-1Ra e IL-1Ra solúvel.<sup>193</sup>

No ano de 2013, Achint Jain e colaboradores, desenvolveram nanopartículas de diacereína com o objectivo de melhorar a biodisponibilidade e reduzir os seus efeitos adversos do fármaco. Este fármaco é um agente condroprotector do grupo dos DMOADs que é inteiramente convertido no seu metabolito *rhein* antes de atingir a circulação sistémica. O modo de acção deste metabolito passa por inibir selectivamente a síntese de IL-1 e baixar a regulação da produção de ON. Os efeitos adversos geralmente associados, como a diarreia, e a sua baixa biodisponibilidade foram a base para o desenvolvimento de nanopartículas lipídicas sólidas (SLN) Nos ensaios *in vivo* deste estudo foram constituídos dois grupos de ratos ( $n=6$ ) e doseados com o fármaco puro disperso em carboximetilcelulose (CMC) e as SLN de diacereína, uma vez por dia, durante 7 semanas com doses 15 mg/kg de peso corporal. Os resultados obtidos comprovaram que as SLN conduziram a uma menor incidência de efeitos adversos, conforme demonstram as Figuras 7 e 8.<sup>194</sup>

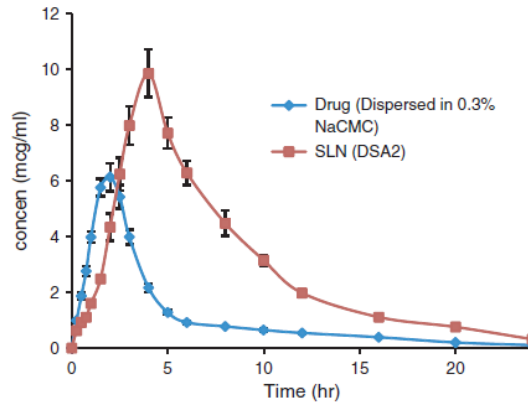


Figura 7 - Concentração plasmática versus perfil de tempo das SLN (formulação DSA2) e fármaco não encapsulado.<sup>194</sup>

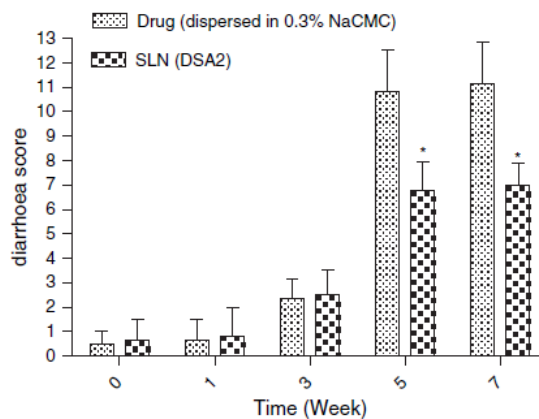


Figura 8 - Efeitos do fármaco associados às SLN na excreção fecal em termos de score de diarreia, \* $p < 0.05$  com-comparado ao fármaco não encapsulado.<sup>194</sup>

No presente ano, Benoino T. Villalba e colaboradores, contribuíram com mais um avanço na procura de novas formulações terapêuticas no âmbito da Nanotecnologia. Estes propuseram-se a avaliar os efeitos anti-noceptivos e anti-edematogénicos de nanocápsulas contendo meloxicam em diferentes modelos de nociceção. Nos ensaios *in vivo* foram randomizados três grupos de murganhos adultos (7 a 8 animais), nos quais, o grupo I recebeu nanocápsulas vazias (NC-B) e os grupos II e III doseados com nanocápsulas contendo meloxicam (NC-M) e meloxicam livre (ML), respectivamente, em doses de 5 mg/kg pela via oral. Após os pré-tratamentos com NB, NM e ML foram induzidos edema e nociceção nas orelhas, patas e cauda. Na Figura 9 são ilustrados alguns dos resultados obtidos. Os resultados indicaram que a administração oral de NC-M, a baixas doses, produziram anti-nociceção significativa e respostas anti-inflamatórias e anti-edematogénicas nos diferentes modelos de nociceção, quando comparados com o ML, sem modificarem a actividade locomotora dos murganhos.<sup>195</sup>



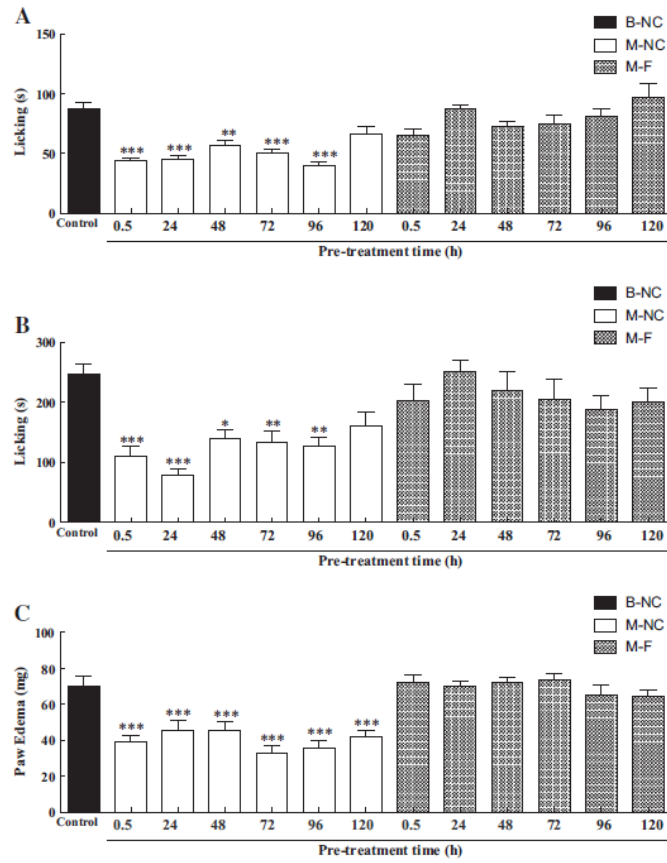
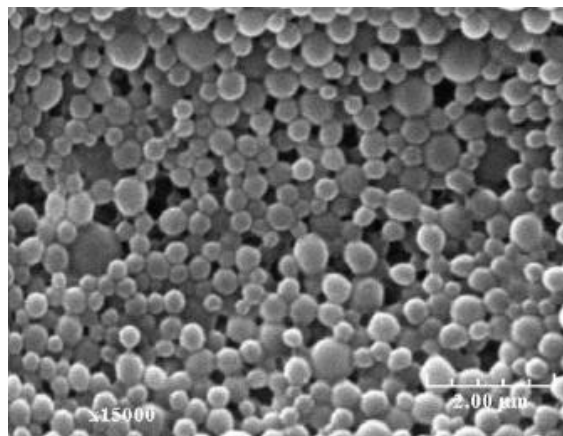


Figura 9 - Análise cronológica dos efeitos de nanocápsulas contendo meloxicam (NC-M) e meloxicam livre (ML) na primeira (A) e segunda (B) fases e edema induzido (C) nas injeções de formalina nos murganhos. <sup>195</sup>

### Nanotecnologia e o ácido hialurónico

O AH é um polissacarídeo linear biodegradável, biocompatível, não-tóxico, não-imunogénico e não-inflamatório, o que faz desta biomolécula uma das mais usadas para aplicações médicas tais como o tratamento das artrites, cirurgias oculares, aumento de tecidos, entre outras. As suas propriedades físico-químicas e funções biológicas excelentes têm permitido que o AH seja comercializado com sucesso em diferentes formas formulações terapêuticas, conforme referido anteriormente. Apesar dos muitos esforços da investigação em desenvolver novos sistemas de veiculação de AH, existe apenas um sistema de libertação de fármacos disponível no mercado usando o AH, o Declage®.<sup>196</sup> A Declage® é uma formulação de libertação prolongada de um recombinante da hormona de crescimento humana (SR-rhGH), produzida pela coreana *LG Life Sciences Ltd*, que usa micropartículas de hialuronato de sódio desenvolvidas para ser administradas semanalmente.<sup>197,198</sup>

Hamed Laroui e colaboradores, descreveram em 2007 a síntese e caracterização de nanopartículas de PLA revestidas com AH (Figura 10) e contendo macromoléculas solúveis em água como a condroitina e AH, ambos com efeitos positivos na reparação da cartilagem. Devido à alta afinidade do AH para os receptores CD44 presentes nos condrócitos, espera-se que as nanopartículas, quando injectadas directamente na cavidade articular, poderiam de forma passiva e activa alcançar os condrócitos. O método de preparação consistia numa dupla emulsificação e evaporação do solvente em que o surfactante da emulsão secundária era um copolímero anfifílico. Neste estudo foram preparados e usados dois derivados anfifílicos do AH. Os resultados da análise de citotoxicidade demonstraram que a viabilidade das células não foi afectada e que as nanopartículas revestidas de AH foram capturadas pelos condrócitos e, em menor extensão, pelos sinoviócitos.<sup>199</sup>



**Figura 10 - Microscopia electrónica de varrimento de nanopartículas revestidas com ácido hialurónico.**<sup>199</sup>

Em 2010, Hervé Zille e colaboradores avaliaram a toxicidade de nanopartículas de PLA ou ácido poliláctico-co-glicólico (PLGA), revestidas por AH anfílico quimicamente esterificado, que seriam usadas como sistemas de veiculação de fármacos para injecções intra-articulares no tratamento da artrite e/ou OA. As nanopartículas foram produzidas através de um processo de emulsificação e evaporação do solvente como descrito anteriormente.<sup>199</sup> Os estudos *in vitro* demonstraram que estas nanopartículas foram internalizadas quer pelos condrócitos como pelos sinoviócitos, sendo mais prevalente nos condrócitos. Estas nanopartículas não estimularam a expressão de mediadores inflamatórios como o TNF- $\alpha$  e a IL- $\beta$  depois de 72h de contacto com os sinoviócitos e não provocaram morte celular. Com base nestes estudos preliminares, foram realizadas injecções intra-articulares em ambos os joelhos de ratos, sendo dada uma segunda injecção, com a mesma concentração, 7 dias depois em apenas um dos joelhos. Os resultados demonstraram que estas nanopartículas não foram tóxicas para os tecidos das articulações.<sup>200</sup>

Num estudo de 2011, Hua-Ding Lu e outros investigadores do departamento de ortopedia do *Third Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University*, descreveram a aplicação de nanopartículas híbridas de ácido hialurónico/quitosano (HA/CS) como novo vector não-viral de genes capaz de transferir genes exógenos para condrócitos primários no tratamento das patologias articulares. Os resultados do estudo evidenciaram que a eficácia do processo de transfecção das nanopartículas de HA/CS-plasmídeo foi significativamente maior do que quando realizada com nanopartículas de CS-plasmídeo sob as mesmas condições. A média de viabilidade celular das nanopartículas HA/CS-plasmídeo foi superior a 90%. Segundo os mesmos autores, esta abordagem sugeriu ser segura e efectiva na vectorização de genes para os condrócitos e que mais estudos devem ser realizados neste âmbito para que se consiga tratar as doenças articulares como a OA.<sup>201</sup>

Em 2012, Michael Morgen e colaboradores, avaliaram a capacidade de interacção de nanopartículas poliméricas aniónicas com o AH de modo a formar hidrogéis ionicamente reticulados, aumentando o tempo de retenção na cavidade sinovial de fármacos intra-articulares para a OA (Figura 11). Os resultados dos diferentes testes demonstraram que são formadas estruturas filamentosas descontínuas quando são adicionadas nanopartículas baseadas em Eudragit RL100 ou em dextranos cationicamente modificados ao líquido sinovial humano. Segundo este estudo, a selecção dos polímeros da superfície e núcleo podem ser adaptados para maximizar a segurança sem prejudicar a associação iónica necessária para otimizar a retenção das nanopartículas no tecido alvo.<sup>202</sup>

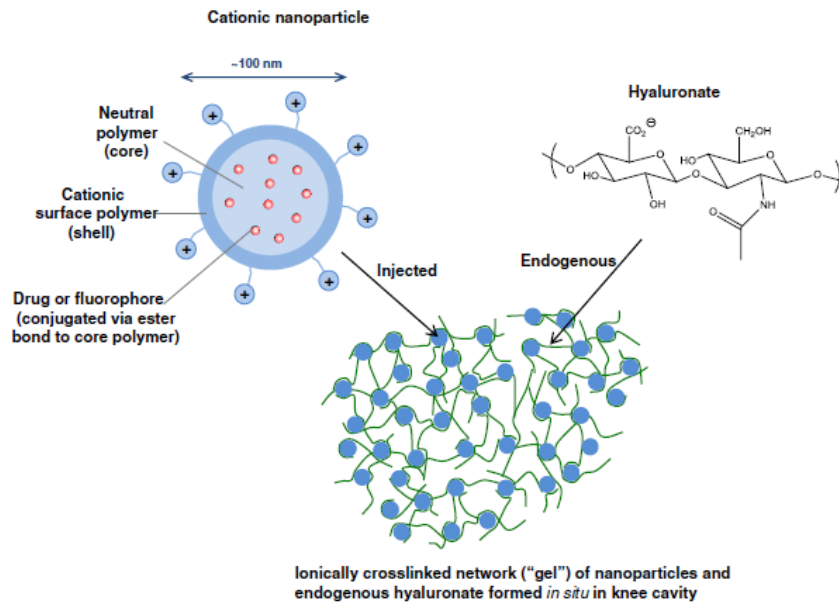


Figura 11 - Nanopartícula polimérica catiónica e mecanismo de retenção.<sup>202</sup>

No mesmo ano, Sinéad M. Ryan e colaboradores, demonstraram que a calcitonina de salmão (sCT) e o AH encapsulados em nanopartículas de 100-200 nm de quitosano, reduziram o diâmetro do edema induzido nos joelhos de modelos de ratos K/BxN após uma administração intra-articular. A sCT e o AH reduzem a expressão do mRNA dos receptores nucleares NR4A2, biomarcadores responsáveis pela regulação e potenciação da inflamação. De forma isolada ou combinada com o AH, a sCT demonstrou ser capaz de reduzir a inflamação e preservar o osso e a arquitetura da cartilagem, fenômenos associados ao *down-regulation* na expressão de NR4A nas articulações lesadas. Para os autores estas evidências carecem de mais informação, bem como serem aplicadas a diferentes modelos animais, de forma a ser optimizadas e a respectiva capacidade anti-inflamatória ser confirmada.<sup>203</sup>

## Conclusão

A dor articular continua a ser uma preocupação com dimensão a nível mundial, sendo constante a procura de cuidados de saúde pelo doentes com OA. A cavidade articular é uma estrutura dinâmica e aberta, estando sujeita a contínuos factores agressores. O equilíbrio entre os processos anabólicos e catabólicos que garantem a homeostasia do ambiente articular tendem a degradar-se e com isso a ser cada vez menor a capacidade de regeneração dos tecidos articulares. Para isso contribuem o stress oxidativo e senescência dos condrócitos enquanto principais agressores, não desvalorizando a contribuição da componente genética. A realidade é que esta contínua agressão às estruturas articulares, principalmente à cartilagem, tem a dor como o sintoma mais referido pelos doentes e para o qual são também mencionados os maiores relatos de desconforto.

Os mecanismos da dor são hoje melhor compreendidos o que permite que novas abordagens e terapêuticas *off-label* sejam hipóteses válidas no controlo da dor. O paracetamol e AINEs continuam a ser os principais agentes de primeira linha apesar dos efeitos adversos sobejamente conhecidos. As terapêuticas opióides continuam a ser um tema com alguma reserva. A utilização de antidepressivos e anticonvulsivantes aparecem como alternativas terapêuticas. Os métodos cirúrgicos como a artroplastia total do joelho e artroscopias continuam a ser alternativas terapêuticas apesar do seu carácter invasivo. Porém a profunda compreensão da anatomia e fisiopatologia da OA permitiu que novos estudos surgissem.

Com uma enorme potencialidade de aplicação surge, na última década mais forte que nunca, a Nanotecnologia como umas das principais áreas a serem exploradas. A particularidade de se poder administrar materiais biocompatíveis e com perfis de segurança claramente melhores que os métodos clássicos, faz desta tecnologia o foco dos principais ensaios clínicos actuais. A combinação dos seus fundamentos teóricos às propriedades e funções, por exemplo, do ácido hialurónico, é hoje alvo de uma profunda atenção e interesse por parte dos investigadores que se dedicam à procura de soluções no tratamento da AO.

## Bibliografia

1. Lawrence RC, Felson DT, Helmick CG, et al. Estimates of the prevalence of arthritis and other rheumatic conditions in the United States. Part II. *Arthritis Rheum*. 2008;58(1):26–35. doi:10.1002/art.23176.
2. Petersson IF. Occurrence of osteoarthritis of the peripheral joints in European populations. *Ann Rheum Dis*. 1996;55(9):659–61. Disponível em: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1010270&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>. Acedido a 13 de agosto de 2014.
3. CDC - Arthritis - Basics - Definition - Osteoarthritis. Disponível em: <http://www.cdc.gov/arthritis/basics/osteoarthritis.htm>. Acedido a 13 de agosto de 2014.
4. Zhang S. SciVerse ScienceDirect Recent changes in evidence-based , non-pharmacological treatment recommendations for acupuncture and Tai Chi for knee osteoarthritis. 2013;2:158–159.
5. Doenças | SPR - Sociedade Portuguesa de Reumatologia :: Doenças. Disponível em: <http://www.spreatologia.pt/doencas/osteoartrose>. Acedido a 4 de outubro de 2014.
6. Resultados EpiReumaPt. Disponível em: <http://www.reumacensus.org/pdf/epireumapt-resultados.pdf>. Acedido a 4 de outubro de 2014.
7. Peat G, McCarney R, Croft P. Knee pain and osteoarthritis in older adults: a review of community burden and current use of primary health care. *Ann Rheum Dis*. 2001;60(2):91–7. Disponível em: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1753462&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>. Acedido a 21 março de 2014.
8. Linaker CH, Walker-Bone K, Palmer K, Cooper C. Frequency and impact of regional musculoskeletal disorders. *Baillieres Best Pract Res Clin Rheumatol*. 1999;13(2):197–215. doi:10.1053/berh.1999.0016.

9. Hawker G a, Stewart L, French MR, et al. Understanding the pain experience in hip and knee osteoarthritis--an OARSI/OMERACT initiative. *Osteoarthritis Cartilage*. 2008;16(4):415–22. doi:10.1016/j.joca.2007.12.017.
10. Zhang W, Nuki G, Moskowitz RW, et al. OARSI recommendations for the management of hip and knee osteoarthritis: part III: Changes in evidence following systematic cumulative update of research published through January 2009. *Osteoarthritis Cartilage*. 2010;18(4):476–99. doi:10.1016/j.joca.2010.01.013.
11. Malfait A-M, Schnitzer TJ. Towards a mechanism-based approach to pain management in osteoarthritis. *Nat Rev Rheumatol*. 2013;9(11):654–64. doi:10.1038/nrrheum.2013.138.
12. Lane NE, Schnitzer TJ, Birbara C a, et al. Tanezumab for the treatment of pain from osteoarthritis of the knee. *N Engl J Med*. 2010;363(16):1521–31. doi:10.1056/NEJMoa0901510.
13. Pharmacologic therapy for osteoarthritis —the era of disease modification. Disponível em: <http://libgen.org/scimag4/10.1038/nrrheum.2010.178.pdf>. Acedido a 19 de agosto de 2014.
14. Bijlsma JWJ, Berenbaum F, Lafeber FPJG. Osteoarthritis: an update with relevance for clinical practice. *Lancet*. 2011;377(9783):2115–26. doi:10.1016/S0140-6736(11)60243-2.
15. Blackburn TA, Craig E. Knee Anatomy: A Brief Review. *Phys Ther*. 1980;60:1556–1560.
16. Tamer TM. Hyaluronan and synovial joint: function, distribution and healing. *Interdiscip Toxicol*. 2013;6(3):111–25. doi:10.2478/intox-2013-0019.
17. Servaty R, Schiller J, Binder H, Arnold K. Hydration of polymeric components of cartilage — an infrared spectroscopic study on hyaluronic acid and chondroitin sulfate. *Int J Biol Macromol*. 2001;28(2):121–127. doi:10.1016/S0141-8130(00)00161-6.

18. Musumeci G, Castrogiovanni P, Leonardi R, et al. New perspectives for articular cartilage repair treatment through tissue engineering: A contemporary review. *World J Orthop.* 2014;5(2):80–8. doi:10.5312/wjo.v5.i2.80.
19. Martin JA, Buckwalter JA. Roles of articular cartilage aging and chondrocyte senescence in the pathogenesis of osteoarthritis. *Iowa Orthop J.* 2001;21:1–7. Disponível em: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1888191&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>. Acedido a 1 de setembro de 2014.
20. Loeser RF, Goldring SR, Scanzello CR, Goldring MB. Osteoarthritis: a disease of the joint as an organ. *Arthritis Rheum.* 2012;64(6):1697–707. doi:10.1002/art.34453.
21. Sanchez C, Pesesse L, Gabay O, et al. Regulation of subchondral bone osteoblast metabolism by cyclic compression. *Arthritis Rheum.* 2012;64(4):1193–203. doi:10.1002/art.33445.
22. Cartilage damaging activities of fibronectin fragments derived from cartilage and synovial fluid. Disponível em: [http://www.oarsijournal.com/article/S1063-4584\(98\)90116-9/pdf](http://www.oarsijournal.com/article/S1063-4584(98)90116-9/pdf). Acedido a 21 de agosto de 2014.
23. DeGroot J, Verzijl N, Wenting-van Wijk MJG, et al. Accumulation of advanced glycation end products as a molecular mechanism for aging as a risk factor in osteoarthritis. *Arthritis Rheum.* 2004;50(4):1207–15. doi:10.1002/art.20170.
24. Temple MM, Bae WC, Chen MQ, et al. Age- and site-associated biomechanical weakening of human articular cartilage of the femoral condyle. *Osteoarthritis Cartilage.* 2007;15(9):1042–52. doi:10.1016/j.joca.2007.03.005.
25. Loeser RF. Aging and osteoarthritis: the role of chondrocyte senescence and aging changes in the cartilage matrix. *Osteoarthritis Cartilage.* 2009;17(8):971–9. doi:10.1016/j.joca.2009.03.002.
26. Chen AC, Temple MM, Ng DM, et al. Induction of advanced glycation end products and alterations of the tensile properties of articular cartilage. *Arthritis Rheum.* 2002;46(12):3212–7. doi:10.1002/art.10627.



27. Goodwin W, McCabe D, Sauter E, et al. Rotenone prevents impact-induced chondrocyte death. *J Orthop Res*. 2010;28(8):1057–63. doi:10.1002/jor.21091.
28. Kim J, Xu M, Xo R, et al. Mitochondrial DNA damage is involved in apoptosis caused by pro-inflammatory cytokines in human OA chondrocytes. *Osteoarthritis Cartilage*. 2010;18(3):424–32. doi:10.1016/j.joca.2009.09.008.
29. Goldring MB, Otero M. Inflammation in osteoarthritis. *Curr Opin Rheumatol*. 2011;23(5):471–8. doi:10.1097/BOR.0b013e328349c2b1.
30. Mueller MB, Tuan RS. Anabolic/Catabolic balance in pathogenesis of osteoarthritis: identifying molecular targets. *PM R*. 2011;3(6 Suppl 1):S3–11. doi:10.1016/j.pmrj.2011.05.009.
31. Wojdasiewicz P, Poniatowski ŁA, Szukiewicz D. The role of inflammatory and anti-inflammatory cytokines in the pathogenesis of osteoarthritis. *Mediators Inflamm*. 2014;2014:561459. doi:10.1155/2014/561459.
32. Pottie P, Presle N, Terlain B, Netter P, Mainard D, Berenbaum F. Obesity and osteoarthritis: more complex than predicted! *Ann Rheum Dis*. 2006;65(11):1403–5. doi:10.1136/ard.2006.061994
33. Delmonico MJ, Harris TB, Visser M, et al. Longitudinal study of muscle strength, quality, and adipose tissue infiltration. *Am J Clin Nutr*. 2009;90(6):1579–85. doi:10.3945/ajcn.2009.28047.
34. Messier SP, Legault C, Loeser RF, et al. Does high weight loss in older adults with knee osteoarthritis affect bone-on-bone joint loads and muscle forces during walking? *Osteoarthritis Cartilage*. 2011;19(3):272–80. doi:10.1016/j.joca.2010.11.010.
35. Zglinicki T Von. Role of Oxidative Stress in Telomere Length Regulation and Replicative Senescence. *Ann N Y Acad Sci*. 2000. Disponível em: <http://libgen.org/scimag2/10.1111/j.1749-6632.2000.tb06639.x.pdf>. Acedido a 1 de setembro de 2014.
36. Dieppe P a, Lohmander LS. Pathogenesis and management of pain in osteoarthritis. *Lancet*. 2005;365(9463):965–73. doi:10.1016/S0140-6736(05)71086-2.

37. Loughlin J. Genome studies and linkage in primary osteoarthritis. *Rheum Dis Clin North Am*. 2002;28(1). Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0889857X03000711>. Acedido a 5 de setembro de 2014.
38. Loughlin J. Genetics of osteoarthritis and potential for drug development. *Curr Opin Pharmacol*. 2003;3(3):295–299. doi:10.1016/S1471-4892(03)00018-3.
39. Chapman K, Mustafa Z, Irlen C, et al. Osteoarthritis-susceptibility locus on chromosome 11q, detected by linkage. *Am J Hum Genet*. 1999;65(1):167–74. doi:10.1086/302465.
40. Gonzalez A. Osteoarthritis year 2013 in review: genetics and genomics. *Osteoarthritis Cartilage*. 2013:1443–1451. Disponível em: <http://libgen.org/scimag5/10.1016/j.joca.2013.07.001.pdf>. Acedido a 4 de setembro de 2014.
41. IASP Taxonomy - IASP. Disponível em: <http://www.iasp-pain.org/Education/Content.aspx?ItemNumber=1698#Pain>. Acedido a 6 de setembro de 2014.
42. National THE, Press A, Street F, Washington NW. *Committee on Advancing Pain Research , Care , and Education Board on Health Sciences Policy*.
43. Neogi T. The epidemiology and impact of pain in osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*. 2013;21(9):1145–53. doi:10.1016/j.joca.2013.03.018.
44. Allen KD, Coffman CJ, Golightly YM, Stechuchak KM, Keefe FJ. Daily pain variations among patients with hand, hip, and knee osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*. 2009;17(10):1275–82. doi:10.1016/j.joca.2009.03.021.
45. Hochman JR, French MR, Bermingham SL, Hawker G a. The nerve of osteoarthritis pain. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2010;62(7):1019–23. doi:10.1002/acr.20142.
46. Basbaum AI, Bautista DM, Scherrer G, Julius D. Cellular and molecular mechanisms of pain. *Cell*. 2009;139(2):267–84. doi:10.1016/j.cell.2009.09.028.

47. Foundation N. *Osteoarthritic Joint Pain.*; 2004. Disponível em: <http://books.google.com/books?hl=pt-PT&lr=&id=6IUloJy8h0oC&pgis=1>. Acedido a 8 de setembro de 2014.
48. Oiestad BE, Holm I, Engebretsen L, Risberg M a. The association between radiographic knee osteoarthritis and knee symptoms, function and quality of life 10-15 years after anterior cruciate ligament reconstruction. *Br J Sports Med.* 2011;45(7):583–8. doi:10.1136/bjism.2010.073130.
49. Neogi T, Felson D, Niu J, et al. Association between radiographic features of knee osteoarthritis and pain: results from two cohort studies. *BMJ.* 2009;339:b2844. doi:10.1136/bmj.b2844.
50. Szebenyi B, Hollander AP, Dieppe P, et al. Associations between pain, function, and radiographic features in osteoarthritis of the knee. *Arthritis Rheum.* 2006;54(1):230–5. doi:10.1002/art.21534.
51. Finan PH, Buenaver LF, Bounds SC, et al. Discordance between pain and radiographic severity in knee osteoarthritis: findings from quantitative sensory testing of central sensitization. *Arthritis Rheum.* 2013;65(2):363–72. doi:10.1002/art.34646.
52. Bedson J, Croft PR. The discordance between clinical and radiographic knee osteoarthritis: a systematic search and summary of the literature. *BMC Musculoskelet Disord.* 2008;9:116. doi:10.1186/1471-2474-9-116.
53. Colloca L, Benedetti F. How prior experience shapes placebo analgesia. *Pain.* 2006;124(1-2):126–33. doi:10.1016/j.pain.2006.04.005.
54. Villemure C, Slotnick BM, Bushnell MC. Effects of odors on pain perception: deciphering the roles of emotion and attention. *Pain.* 2003;106(1-2):101–108. doi:10.1016/S0304-3959(03)00297-5.
55. Giardino ND, Jensen MP, Turner J a, Ehde DM, Cardenas DD. Social environment moderates the association between catastrophizing and pain among persons with a spinal cord injury. *Pain.* 2003;106(1-2):19–25. doi:10.1016/S0304-3959(03)00226-4.

56. Edwards RR, Bingham CO, Bathon J, Haythornthwaite JA. Catastrophizing and pain in arthritis, fibromyalgia, and other rheumatic diseases. *Arthritis Rheum.* 2006;55(2):325–32. doi:10.1002/art.21865.
57. Sullivan MJ, Thorn B, Haythornthwaite J a, et al. Theoretical perspectives on the relation between catastrophizing and pain. *Clin J Pain.* 2001;17(1):52–64. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11289089>. Acedido a 8 de setembro de 2014
58. Parmelee PA, Harralson TL, McPherron JA, Schumacher HR. The structure of affective symptomatology in older adults with osteoarthritis. *Int J Geriatr Psychiatry.* 2013;28(4):393–401. doi:10.1002/gps.3837.
59. McMahon S, Koltzenburg M, Tracey I, Turk DC. *Wall & Melzack's Textbook of Pain: Expert Consult - Online.*; 2013. Disponível em: [http://books.google.com/books?hl=pt-PT&lr=&id=ok0\\_jlJ0w\\_wC&pgis=1](http://books.google.com/books?hl=pt-PT&lr=&id=ok0_jlJ0w_wC&pgis=1). Acedido a 9 de setembro de 2014.
60. Perl ER. Ideas about pain, a historical view. *Nat Rev Neurosci.* 2007;8(1):71–80. doi:10.1038/nrn2042.
61. Anne E. Hines, Henrik Birn, Peter Stubbe Tegbjaerg TS. Fiber Type Composition of Articular Branches of the Tibial Nerve at the Knee Joint in Man. *Anat Rec.* 1996;246:573–578. Disponível em: [http://onlinelibrary.wiley.com/sci-hub.org/doi/10.1002/\(SICI\)1097-0185\(199612\)246:4<573::AID-AR18>3.0.CO;2-L/abstract](http://onlinelibrary.wiley.com/sci-hub.org/doi/10.1002/(SICI)1097-0185(199612)246:4<573::AID-AR18>3.0.CO;2-L/abstract). Acedido a 10 de junho de 2014.
62. Dye SF, Vaupel GL, Dye CC. Conscious neurosensory mapping of the internal structures of the human knee without intraarticular anesthesia. *Am J Sports Med.* 1998;26(6):773–7. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9850777>. Acedido a 9 de setembro de 2014.
63. Eckstein F, Cotofana S, Wirth W, et al. Greater rates of cartilage loss in painful knees than in pain-free knees after adjustment for radiographic disease stage: data from the osteoarthritis initiative. *Arthritis Rheum.* 2011;63(8):2257–67. doi:10.1002/art.30414.

64. Choi J-A, Gold GE. MR imaging of articular cartilage physiology. *Magn Reson Imaging Clin N Am*. 2011;19(2):249–82. doi:10.1016/j.mric.2011.02.010.
65. Felson DT, Niu J, Guermazi A, et al. Correlation of the development of knee pain with enlarging bone marrow lesions on magnetic resonance imaging. *Arthritis Rheum*. 2007;56(9):2986–92. doi:10.1002/art.22851.
66. Reichenbach S, Guermazi a, Niu J, et al. Prevalence of bone attrition on knee radiographs and MRI in a community-based cohort. *Osteoarthritis Cartilage*. 2008;16(9):1005–10. doi:10.1016/j.joca.2008.02.001.
67. Scanzello CR, McKeon B, Swaim BH, et al. Synovial inflammation in patients undergoing arthroscopic meniscectomy: molecular characterization and relationship to symptoms. *Arthritis Rheum*. 2011;63(2):391–400. doi:10.1002/art.30137.
68. Heppelmann B, McDougall JJ. Inhibitory effect of amiloride and gadolinium on fine afferent nerves in the rat knee: evidence of mechanogated ion channels in joints. *Exp brain Res*. 2005;167(1):114–8. doi:10.1007/s00221-005-0040-z.
69. Schuelert N, McDougall JJ. Involvement of Nav 1.8 sodium ion channels in the transduction of mechanical pain in a rodent model of osteoarthritis. *Arthritis Res Ther*. 2012;14(1):R5. doi:10.1186/ar3553.
70. Djouhri L, Fang X, Okuse K, Wood JN, Berry CM, Lawson SN. The TTX-resistant sodium channel Nav1.8 (SNS/PN3): expression and correlation with membrane properties in rat nociceptive primary afferent neurons. *J Physiol*. 2003;550(Pt 3):739–52. doi:10.1113/jphysiol.2003.042127.
71. Lolignier S, Eijkelkamp N, Wood JN. Mechanical allodynia. *Pflugers Arch*. 2014. doi:10.1007/s00424-014-1532-0.
72. Richter F, Natura G, Löser S, Schmidt K, Viisanen H, Schaible H-G. Tumor necrosis factor causes persistent sensitization of joint nociceptors to mechanical stimuli in rats. *Arthritis Rheum*. 2010;62(12):3806–14. doi:10.1002/art.27715.
73. Brenn D, Richter F, Schaible H-G. Sensitization of unmyelinated sensory fibers of the joint nerve to mechanical stimuli by interleukin-6 in the rat: an

- inflammatory mechanism of joint pain. *Arthritis Rheum.* 2007;56(1):351–9. doi:10.1002/art.22282.
74. Richter F, Natura G, Ebbinghaus M, et al. Interleukin-17 sensitizes joint nociceptors to mechanical stimuli and contributes to arthritic pain through neuronal interleukin-17 receptors in rodents. *Arthritis Rheum.* 2012;64(12):4125–34. doi:10.1002/art.37695.
75. Wang W, Chen J, Guo X. The role of nerve growth factor and its receptors in tumorigenesis and cancer pain. *Biosci Trends.* 2014;8(2):68–74. doi:10.5582/bst.8.68.
76. Woolf CJ, Safieh-Garabedian B, Ma Q-P, Crilly P, Winter J. Nerve growth factor contributes to the generation of inflammatory sensory hypersensitivity. *Neuroscience.* 1994;62(2):327–331. doi:10.1016/0306-4522(94)90366-2.
77. Svensson P, Cairns BE, Wang K, Arendt-Nielsen L. Injection of nerve growth factor into human masseter muscle evokes long-lasting mechanical allodynia and hyperalgesia. *Pain.* 2003;104(1-2):241–247. doi:10.1016/S0304-3959(03)00012-5.
78. Chuang HH, Prescott ED, Kong H, et al. Bradykinin and nerve growth factor release the capsaicin receptor from PtdIns(4,5)P2-mediated inhibition. *Nature.* 2001;411(6840):957–62. doi:10.1038/35082088.
79. Huang J, Zhang X, McNaughton P a. Inflammatory pain: the cellular basis of heat hyperalgesia. *Curr Neuropharmacol.* 2006;4(3):197–206. Disponível em: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2430694&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>. Acedido a 10 de setembro de 2014.
80. Bullock ED, Johnson EM. Nerve Growth Factor Induces the Expression of Certain Cytokine Genes and bcl-2 in Mast Cells: POTENTIAL ROLE IN SURVIVAL PROMOTION. *J Biol Chem.* 1996;271(44):27500–27508. doi:10.1074/jbc.271.44.27500.
81. Manni L, Lundeberg T, Fiorito S, Bonini S, Vigneti E, Aloe L. Nerve growth factor release by human synovial fibroblasts prior to and following exposure to tumor necrosis factor-alpha, interleukin-1 beta and cholecystokinin-8: the possible role

- of NGF in the inflammatory response. *Clin Exp Rheumatol*. 2003;21(5):617–24. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14611111>.
82. Iannone F, De Bari C, Dell'Accio F, et al. Increased expression of nerve growth factor (NGF) and high affinity NGF receptor (p140 TrkA) in human osteoarthritic chondrocytes. *Rheumatology (Oxford)*. 2002;41(12):1413–8. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12468822>.
83. Mapp PI, Walsh DA. Mechanisms and targets of angiogenesis and nerve growth in osteoarthritis. *Nat Rev Rheumatol*. 2012;8(7):390–8. doi:10.1038/nrrheum.2012.80.
84. Miller RE, Tran PB, Das R, et al. CCR2 chemokine receptor signaling mediates pain in experimental osteoarthritis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012;109(50):20602–7. doi:10.1073/pnas.1209294110.
85. Ren K, Dubner R. Interactions between the immune and nervous systems in pain. *Nat Med*. 2010;16(11):1267–76. doi:10.1038/nm.2234.
86. Woolf CJ. Central sensitization: implications for the diagnosis and treatment of pain. *Pain*. 2011;152(3 Suppl):S2–15. doi:10.1016/j.pain.2010.09.030.
87. Apkarian a V, Baliki MN, Geha PY. Towards a theory of chronic pain. *Prog Neurobiol*. 2009;87(2):81–97. doi:10.1016/j.pneurobio.2008.09.018.
88. Paul-Dauphin a, Guillemin F, Virion JM, Briançon S. Bias and precision in visual analogue scales: a randomized controlled trial. *Am J Epidemiol*. 1999;150(10):1117–27. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10568628>. Acedido a 12 de setembro de 2014.
89. Hjerstad MJ, Fayers PM, Haugen DF, et al. Studies comparing Numerical Rating Scales, Verbal Rating Scales, and Visual Analogue Scales for assessment of pain intensity in adults: a systematic literature review. *J Pain Symptom Manage*. 2011;41(6):1073–93. doi:10.1016/j.jpainsymman.2010.08.016.
90. Woolacott NF, Corbett MS, Rice SJC. The use and reporting of WOMAC in the assessment of the benefit of physical therapies for the pain of osteoarthritis of

- the knee: findings from a systematic review of clinical trials. *Rheumatology (Oxford)*. 2012;51(8):1440–6. doi:10.1093/rheumatology/kes043.
91. Roos EM, Lohmander LS. The Knee injury and Osteoarthritis Outcome Score (KOOS): from joint injury to osteoarthritis. *Health Qual Life Outcomes*. 2003;1:64. doi:10.1186/1477-7525-1-64.
  92. Hawker GA, Davis AM, French MR, et al. Development and preliminary psychometric testing of a new OA pain measure--an OARSI/OMERACT initiative. *Osteoarthritis Cartilage*. 2008;16(4):409–14. doi:10.1016/j.joca.2007.12.015.
  93. Dworkin RH, Turk DC, Wyrwich KW, et al. Interpreting the clinical importance of treatment outcomes in chronic pain clinical trials: IMMPACT recommendations. *J Pain*. 2008;9(2):105–21. doi:10.1016/j.jpain.2007.09.005.
  94. Hochberg MC, Altman RD, April KT, et al. American College of Rheumatology 2012 recommendations for the use of nonpharmacologic and pharmacologic therapies in osteoarthritis of the hand, hip, and knee. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2012;64(4):465–474. doi:10.1002/acr.21596.
  95. Persons O. Pharmacological management of persistent pain in older persons. *Pain Med*. 2009;10(6):1062–83. doi:10.1111/j.1526-4637.2009.00699.x.
  96. Jordan KM. EULAR Recommendations 2003: an evidence based approach to the management of knee osteoarthritis: Report of a Task Force of the Standing Committee for International Clinical Studies Including Therapeutic Trials (ESCISIT). *Ann Rheum Dis*. 2003;62(12):1145–1155. doi:10.1136/ard.2003.011742.
  97. Zhang W, Doherty M, Arden N, et al. EULAR evidence based recommendations for the management of hip osteoarthritis: report of a task force of the EULAR Standing Committee for International Clinical Studies Including Therapeutics (ESCISIT). *Ann Rheum Dis*. 2005;64(5):669–81. doi:10.1136/ard.2004.028886.
  98. Practice C. Osteoarthritis Care and management in adults. 2014;(February).



99. Richmond J, Hunter D, Irrgang J, et al. American Academy of Orthopaedic Surgeons clinical practice guideline on the treatment of osteoarthritis (OA) of the knee. *J Bone Joint Surg Am.* 2010;92(4):990–3. doi:10.2106/JBJS.I.00982.
100. Reid MC, Bennett DA, Chen WG, et al. PAIN & AGING SECTION Review Article Improving the Pharmacologic Management of Pain in Older Adults : Identifying the Research. *Pain Med.* 2011;12:1336–1357.
101. Makris UE, Abrams RC, Gurland B, Reid MC. Management of Persistent Pain in the Older Patient. *Jama.* 2014;312(8):825. doi:10.1001/jama.2014.9405.
102. James LP, Mayeux PR, Hinson J a. Acetaminophen-induced hepatotoxicity. *Drug Metab Dispos.* 2003;31(12):1499–506. doi:10.1124/dmd.31.12.1499.
103. Abdulla A, Adams N, Bone M, et al. Guidance on the management of pain in older people. *Age Ageing.* 2013;42 Suppl 1:i1–57. doi:10.1093/ageing/afs200.
104. Shega J, Morrissey M, Reid M. ACETAMINOPHEN AND THE IMPLICATIONS FOR PATIENT CARE. *knowledgemap2.mc.vanderbilt.edu.* 2011. Disponível em: [http://knowledgemap2.mc.vanderbilt.edu/pogoe/sites/default/files/GSA\\_Pub\\_to\\_Pract\\_Acet\\_Final.pdf](http://knowledgemap2.mc.vanderbilt.edu/pogoe/sites/default/files/GSA_Pub_to_Pract_Acet_Final.pdf). Acedido a 23 de setembro de 2014.
105. McCarberg B, Tenzer P. Complexities in the pharmacologic management of osteoarthritis pain. *Curr Med Res Opin.* 2013;29(5):539–48. doi:10.1185/03007995.2013.785391.
106. Chandanwale AS, Sundar S, Latchoumibady K, et al. Efficacy and safety profile of combination of tramadol-diclofenac versus tramadol-paracetamol in patients with acute musculoskeletal conditions, postoperative pain, and acute flare of osteoarthritis and rheumatoid arthritis: a Phase III, 5-day open-label . *J Pain Res.* 2014;7:455–63. doi:10.2147/JPR.S67817.
107. Rao P, Knaus EE. Evolution of nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs): cyclooxygenase (COX) inhibition and beyond. *J Pharm Pharm Sci.* 2008;11(2):81s–110s. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19203472>. Acedido a 23 de setembro de 2014.

108. Schaible H-G, Ebersberger A, Natura G. Update on peripheral mechanisms of pain: beyond prostaglandins and cytokines. *Arthritis Res Ther.* 2011;13(2):210. doi:10.1186/ar3305.
109. Capone ML, Sciulli MG, Tacconelli S, et al. Pharmacodynamic interaction of naproxen with low-dose aspirin in healthy subjects. *J Am Coll Cardiol.* 2005;45(8):1295–301. doi:10.1016/j.jacc.2005.01.045.
110. Harirforoosh S, Asghar W, Jamali F. Adverse effects of nonsteroidal antiinflammatory drugs: an update of gastrointestinal, cardiovascular and renal complications. *J Pharm Pharm Sci.* 2013;16(5):821–47. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24393558>. Acedido a 24 de setembro de 2014.
111. Roubille C, Martel-Pelletier J, Davy J-M, Haraoui B, Pelletier J-P. Cardiovascular adverse effects of anti-inflammatory drugs. *Antiinflamm Antiallergy Agents Med Chem.* 2013;12(1):55–67. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23286294>. Acedido a 24 de setembro de 2014.
112. Balmaceda CM. Evolving guidelines in the use of topical nonsteroidal anti-inflammatory drugs in the treatment of osteoarthritis. *BMC Musculoskelet Disord.* 2014;15:27. doi:10.1186/1471-2474-15-27.
113. Raza K, Kumar M, Kumar P, et al. Topical delivery of aceclofenac: challenges and promises of novel drug delivery systems. *Biomed Res Int.* 2014;2014:406731. doi:10.1155/2014/406731.
114. Juurlink DN, Dhalla I a. Dependence and addiction during chronic opioid therapy. *J Med Toxicol.* 2012;8(4):393–9. doi:10.1007/s13181-012-0269-4.
115. Kizilbash A, Ngô-Minh CT. Review of extended-release formulations of Tramadol for the management of chronic non-cancer pain: focus on marketed formulations. *J Pain Res.* 2014;7:149–61. doi:10.2147/JPR.S49502.
116. Avouac J, Gossec L, Dougados M. Efficacy and safety of opioids for osteoarthritis: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Osteoarthritis Cartilage.* 2007;15(8):957–65. doi:10.1016/j.joca.2007.02.006.

117. Manchikanti L, Ailinani H, Koyyalagunta D, et al. A systematic review of randomized trials of long-term opioid management for chronic non-cancer pain. *Pain Physician*. 2011;14(2):91–121. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21412367>. Acedido a 25 de setembro de 2014.
118. Gupta S, Nihalani N, Masand P. Duloxetine: review of its pharmacology, and therapeutic use in depression and other psychiatric disorders. *Ann Clin Psychiatry*. 2007;19(2):125–32. doi:10.1080/10401230701333319.
119. Press Announcements - FDA clears Cymbalta to treat chronic musculoskeletal pain. Disponível em: <http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm232708.htm>. Acedido a 25 de setembro de 2014.
120. Myers J, Wielage RC, Han B, et al. The efficacy of duloxetine, non-steroidal anti-inflammatory drugs, and opioids in osteoarthritis: a systematic literature review and meta-analysis. *BMC Musculoskelet Disord*. 2014;15:76. doi:10.1186/1471-2474-15-76.
121. Morello CM, Leckband SG, Stoner CP, Moorhouse DF, Sahagian G a. Randomized double-blind study comparing the efficacy of gabapentin with amitriptyline on diabetic peripheral neuropathy pain. *Arch Intern Med*. 1999;159(16):1931–7. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10493324>. Acedido a 26 de setembro de 2014.
122. Ohtori S, Inoue G, Orita S, et al. Efficacy of combination of meloxicam and pregabalin for pain in knee osteoarthritis. *Yonsei Med J*. 2013;54(5):1253–8. doi:10.3349/ymj.2013.54.5.1253.
123. Kosuwon W, Sirichatiwapee W, Wisanuyotin T, Jeeravipoolvarn P, Laupattarakasem W. Efficacy of symptomatic control of knee osteoarthritis with 0.0125% of capsaicin versus placebo. *J Med Assoc Thai*. 2010;93(10):1188–95. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20973322>. Acedido a 26 de setembro de 2014.
124. Gammaitoni AR, Galer BS, Onawola R, Jensen MP, Argoff CE. Lidocaine patch 5% and its positive impact on pain qualities in osteoarthritis: results of a pilot 2-

- week, open-label study using the Neuropathic Pain Scale. *Curr Med Res Opin.* 2004;20 Suppl 2:S13–9. doi:10.1185/030079904X12951.
125. Ayhan E, Kesmezacar H, Akgun I. Intraarticular injections (corticosteroid, hyaluronic acid, platelet rich plasma) for the knee osteoarthritis. *World J Orthop.* 2014;5(3):351–61. doi:10.5312/wjo.v5.i3.351.
126. McArthur B, Dy C. Long term safety, efficacy, and patient acceptability of hyaluronic acid injection in patients with painful osteoarthritis of the knee. *Patient Prefer ....* 2012:905–910. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3526887/>. Acedido a 13 de outubro de 2014.
127. Brown MB, Jones S a. Hyaluronic acid: a unique topical vehicle for the localized delivery of drugs to the skin. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2005;19(3):308–18. doi:10.1111/j.1468-3083.2004.01180.x.
128. Dougados M. Sodium hyaluronate therapy in osteoarthritis: arguments for a potential beneficial structural effect. *Semin Arthritis Rheum.* 2000;30(2):19–25. doi:10.1053/sarh.2000.246.
129. Altman R. Intra-articular sodium hyaluronate in osteoarthritis of the knee. *Semin Arthritis Rheum.* 2000;30(2):11–18. doi:10.1053/sarh.2000.248.
130. Hochberg M. Role of intra-articular hyaluronic acid preparations in medical management of osteoarthritis of the knee. *Semin Arthritis Rheum.* 2000;30(2):2–10. doi:10.1053/sarh.2000.245.
131. Adams ME, Lussier AJ, Peyron JG. A Risk-Benefit Assessment of Injections of Hyaluronan and its Derivatives in the Treatment of Osteoarthritis of the Knee. *Drug Saf.* 2000;23(2):115–130. doi:10.2165/00002018-200023020-00003.
132. Filardo G, Kon E, Buda R, et al. Platelet-rich plasma intra-articular knee injections for the treatment of degenerative cartilage lesions and osteoarthritis. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2011;19(4):528–35. doi:10.1007/s00167-010-1238-6.
133. Wang-Saegusa A, Cugat R, Ares O, Seijas R, Cuscó X, Garcia-Balletbó M. Infiltration of plasma rich in growth factors for osteoarthritis of the knee short-

- term effects on function and quality of life. *Arch Orthop Trauma Surg.* 2011;131(3):311–7. doi:10.1007/s00402-010-1167-3.
134. Filardo G, Kon E, Di Martino A, et al. Platelet-rich plasma vs hyaluronic acid to treat knee degenerative pathology: study design and preliminary results of a randomized controlled trial. *BMC Musculoskelet Disord.* 2012;13(1):229. doi:10.1186/1471-2474-13-229.
135. Rampersaud YR, Wai EK, Fisher CG, et al. Postoperative improvement in health-related quality of life: a national comparison of surgical treatment for focal (one- to two-level) lumbar spinal stenosis compared with total joint arthroplasty for osteoarthritis. *Spine J.* 2011;11(11):1033–41. doi:10.1016/j.spinee.2011.10.011.
136. Choi YJ, Lee KW, Kim CH, et al. Long-term Results of Hybrid Total Knee Arthroplasty: Minimum 10-years Follow-up. *Knee Surg Relat Res.* 2012;24(2):79–84. doi:10.5792/ksrr.2012.24.2.79.
137. Djahani O, Rainer S, Pietsch M, Hofmann S. Systematic analysis of painful total knee prosthesis, a diagnostic algorithm. *Arch bone Jt Surg.* 2013;1(2):48–52. Disponível em:  
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4151417&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>. Acedido a 17 de setembro de 2014.
138. Clarke HD, Scott WN. The role of debridement: through small portals. *J Arthroplasty.* 2003;18(3 Suppl 1):10–3. doi:10.1054/arth.2003.50101.
139. Arthroscopic lavage and debridement for osteoarthritis of the knee: an evidence-based analysis. *Ont Health Technol Assess Ser.* 2005;5(12):1–37. Disponível em:  
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3382413&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>. Acedido a 1 de outubro de 2014.
140. Burks RT. Arthroscopy and degenerative arthritis of the knee: A review of the literature. *Arthrosc J Arthrosc Relat Surg.* 1990;6(1):43–47. doi:10.1016/0749-8063(90)90096-V.
141. Shin C, Lee J. Arthroscopic treatment for osteoarthritic knee. *Knee Surg Relat Res.* 2012;24(4):187–192. Disponível em:

<http://synapse.koreamed.org/DOIx.php?id=10.5792/ksrr.2012.24.4.187>. Acedido a 1 de outubro de 2014.

142. Kuchinad R, Fourman MS, Fragomen AT, Rozbruch SR. Knee Arthrodesis as Limb Salvage for Complex Failures of Total Knee Arthroplasty. *J Arthroplasty*. 2014. doi:10.1016/j.arth.2014.06.021.
143. Venkatesan S, van Kampen a. Patellofemoral arthrodesis as pain relief in extreme patella alta. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2014;22(10):2551–3. doi:10.1007/s00167-014-3203-2.
144. Trieb K. Arthrodesis of the wrist in rheumatoid arthritis. *World J Orthop*. 2014;5(4):512–5. doi:10.5312/wjo.v5.i4.512.
145. Willey M, Wolf BR, Kocaglu B, Amendola A. Complications associated with realignment osteotomy of the knee performed simultaneously with additional reconstructive procedures. *Iowa Orthop J*. 2010;30:55–60. Disponível em: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2958271&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>. Acedido a 1 de outubro de 2014.
146. Seo S-S, Park J-Y, Kim H-J, Yoon J-W, Park S-H, Kim K-H. Percutaneous osteoplasty for the treatment of a painful osteochondral lesion of the talus: a case report and literature review. *Pain Physician*. 2012;15(5):E743–8. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22996869>. Acedido a 2 de outubro de 2014.
147. Corbett MS, Rice SJC, Madurasinghe V, et al. Acupuncture and other physical treatments for the relief of pain due to osteoarthritis of the knee: network meta-analysis. *Osteoarthritis Cartilage*. 2013;21(9):1290–8. doi:10.1016/j.joca.2013.05.007.
148. Shengelia R, Parker SJ, Ballin M, George T, Reid MC. Complementary therapies for osteoarthritis: are they effective? *Pain Manag Nurs*. 2013;14(4):e274–88. doi:10.1016/j.pmn.2012.01.001.
149. Manheimer E, Cheng K, Linde K, et al. Acupuncture for peripheral joint osteoarthritis. *Cochrane database Syst Rev*. 2010;(1):CD001977. doi:10.1002/14651858.CD001977.pub2.

150. Wang C, Schmid CH, Hibberd PL, et al. Tai Chi is effective in treating knee osteoarthritis: a randomized controlled trial. *Arthritis Rheum.* 2009;61(11):1545–53. doi:10.1002/art.24832.
151. Cheung C, Wyman JF, Resnick B, Savik K. Yoga for managing knee osteoarthritis in older women: a pilot randomized controlled trial. *BMC Complement Altern Med.* 2014;14:160. doi:10.1186/1472-6882-14-160.
152. Perlman AI, Ali A, Njike VY, et al. Massage therapy for osteoarthritis of the knee: a randomized dose-finding trial. *PLoS One.* 2012;7(2):e30248. doi:10.1371/journal.pone.0030248.
153. Lee J, Song J, Hootman JM, et al. Obesity and other modifiable factors for physical inactivity measured by accelerometer in adults with knee osteoarthritis. *Arthritis Care Res (Hoboken).* 2013;65(1):53–61. doi:10.1002/acr.21754.
154. Losina E, Walensky R. Impact of obesity and knee osteoarthritis on morbidity and mortality in older Americans. *Ann Intern Med.* 2011;154:217–226. Disponível em: <http://annals.org/article.aspx?articleid=746804>. Acedido a 2 de outubro de 2014.
155. Miller GD, Nicklas BJ, Davis C, Loeser RF, Lenchik L, Messier SP. Intensive weight loss program improves physical function in older obese adults with knee osteoarthritis. *Obesity (Silver Spring).* 2006;14(7):1219–30. doi:10.1038/oby.2006.139.
156. Juhl C, Christensen R, Roos EM, Zhang W, Lund H. Impact of exercise type and dose on pain and disability in knee osteoarthritis: a systematic review and meta-regression analysis of randomized controlled trials. *Arthritis Rheumatol (Hoboken, NJ).* 2014;66(3):622–36. doi:10.1002/art.38290.
157. Bennell KL, Dobson F, Hinman RS. Exercise in osteoarthritis: moving from prescription to adherence. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2014;28(1):93–117. doi:10.1016/j.berh.2014.01.009.
158. Uthman O a, van der Windt D a, Jordan JL, et al. Exercise for lower limb osteoarthritis: systematic review incorporating trial sequential analysis and network meta-analysis. *BMJ.* 2013;347(September):f5555. doi:10.1136/bmj.f5555.

159. Khalaj N, Abu Osman N a, Mokhtar AH, Mehdikhani M, Wan Abas W a B. Effect of exercise and gait retraining on knee adduction moment in people with knee osteoarthritis. *Proc Inst Mech Eng H*. 2014;228(2):190–9. doi:10.1177/0954411914521155.
160. Sevcik M a, Ghilardi JR, Peters CM, et al. Anti-NGF therapy profoundly reduces bone cancer pain and the accompanying increase in markers of peripheral and central sensitization. *Pain*. 2005;115(1-2):128–41. doi:10.1016/j.pain.2005.02.022.
161. Sanga P, Katz N, Polverejan E, et al. Efficacy, safety, and tolerability of fulranumab, an anti-nerve growth factor antibody, in the treatment of patients with moderate to severe osteoarthritis pain. *Pain*. 2013;154(10):1910–9. doi:10.1016/j.pain.2013.05.051.
162. Verbruggen G. Chondroprotective drugs in degenerative joint diseases. *Rheumatology (Oxford)*. 2006;45(2):129–38. doi:10.1093/rheumatology/kei171.
163. Hunter DJ. Pharmacologic therapy for osteoarthritis--the era of disease modification. *Nat Rev Rheumatol*. 2011;7(1):13–22. doi:10.1038/nrrheum.2010.178.
164. Frequently Asked Questions | Nano. Disponível em: <http://www.nano.gov/nanotech-101/nanotechnology-facts>. Acedido a 7 de outubro de 2014.
165. Kreuter J. *Colloidal Drug Delivery Systems*.; 1994. Disponível em: [http://books.google.com/books?hl=pt-PT&lr=&id=aH\\_6WI0OHWoC&pgis=1](http://books.google.com/books?hl=pt-PT&lr=&id=aH_6WI0OHWoC&pgis=1). Acedido a 8 de outubro de 2014.
166. Babu A, Templeton AK, Munshi A, Ramesh R. Nanodrug delivery systems: a promising technology for detection, diagnosis, and treatment of cancer. *AAPS PharmSciTech*. 2014;15(3):709–21. doi:10.1208/s12249-014-0089-8.
167. Bangham a. D, Standish MM, Watkins JC. Diffusion of univalent ions across the lamellae of swollen phospholipids. *J Mol Biol*. 1965;13(1):238–IN27. doi:10.1016/S0022-2836(65)80093-6.



168. Forssen E a., Tokes Z a. Use of anionic liposomes for the reduction of chronic doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Proc Natl Acad Sci.* 1981;78(3):1873–1877. doi:10.1073/pnas.78.3.1873.
169. Forssen E, Tökes Z. Improved therapeutic benefits of doxorubicin by entrapment in anionic liposomes. *Cancer Res.* 1983:546–550. Disponível em: <http://cancerres.aacrjournals.org/content/43/2/546.short>. Acedido a 8 de outubro de 2014.
170. Langer R, Folkman J. Polymers for the sustained release of proteins and other macromolecules. *Nature.* 1976;263(5580):797–800. doi:10.1038/263797a0.
171. Allen T, Chonn A. Large unilamellar liposomes with low uptake into the reticuloendothelial system. *FEBS Lett.* 1987;223(1):42–46. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0014579387805069>. Acedido a 8 de outubro de 2014.
172. Klibanov A, Maruyama K, Torchilin V, Huang L. Amphipathic polyethyleneglycols effectively prolong the circulation time of liposomes. *FEBS Lett.* 1990;268(1):235–237. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/001457939081016H>. Acedido a 8 de outubro de 2014.
173. Gref R, Minamitake Y, Peracchia M. Biodegradable long-circulating polymeric nanospheres. *Science (80- ).* 1994;(January). Disponível em: <http://www.sciencemag.org/content/263/5153/1600.short>. Acedido a 9 de outubro de 2014.
174. Barenholz Y. Doxil®--the first FDA-approved nano-drug: lessons learned. *J Control Release.* 2012;160(2):117–34. doi:10.1016/j.jconrel.2012.03.020.
175. Etheridge ML, Campbell S a, Erdman AG, Haynes CL, Wolf SM, McCullough J. The big picture on nanomedicine: the state of investigational and approved nanomedicine products. *Nanomedicine.* 2013;9(1):1–14. doi:10.1016/j.nano.2012.05.013.
176. Weissig V, Pettinger TK, Murdock N. Nanopharmaceuticals (part 1): products on the market. *Int J Nanomedicine.* 2014;9:4357–4373. doi:10.2147/IJN.S46900.

177. Rivera Gil P, Hühn D, del Mercato LL, Sasse D, Parak WJ. Nanopharmacy: Inorganic nanoscale devices as vectors and active compounds. *Pharmacol Res.* 2010;62(2):115–25. doi:10.1016/j.phrs.2010.01.009.
178. Caruso F, Hyeon T, Rotello VM. Nanomedicine. *Chem Soc Rev.* 2012;41(7):2537–8. doi:10.1039/c2cs90005j.
179. Kumar A, Chen F, Mozhi A, et al. Innovative pharmaceutical development based on unique properties of nanoscale delivery formulation. *Nanoscale.* 2013;5(18):8307–25. doi:10.1039/c3nr01525d.
180. Uskoković V. Entering the era of nanoscience: time to be so small. *J Biomed Nanotechnol.* 2013;9(9):1441–70. Disponível em: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3768021&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>. Acedido a 9 de outubro de 2014.
181. Maeda H, Nakamura H, Fang J. The EPR effect for macromolecular drug delivery to solid tumors: Improvement of tumor uptake, lowering of systemic toxicity, and distinct tumor imaging in vivo. *Adv Drug Deliv Rev.* 2013;65(1):71–9. doi:10.1016/j.addr.2012.10.002.
182. Sriraman SK, Aryasomayajula B, Torchilin VP. Barriers to drug delivery in solid tumors. *Tissue barriers.* 2014;2:e29528. doi:10.4161/tisb.29528.
183. Hume D a. The mononuclear phagocyte system. *Curr Opin Immunol.* 2006;18(1):49–53. doi:10.1016/j.coi.2005.11.008.
184. Allen TM, Hansen C. Pharmacokinetics of stealth versus conventional liposomes: effect of dose. *Biochim Biophys Acta - Biomembr.* 1991;1068(2):133–141. doi:10.1016/0005-2736(91)90201-l.
185. Sittard MH, Therapy A. Clinical use of liposomal and lipid-complexed amphotericin B. *J Antimicrob Chemother.* 1994:907–916.
186. Davis FF. The origin of pegnology. *Adv Drug Deliv Rev.* 2002;54(4):457–458. doi:10.1016/S0169-409X(02)00021-2.

187. Elsadek B, Kratz F. Impact of albumin on drug delivery--new applications on the horizon. *J Control Release*. 2012;157(1):4–28. doi:10.1016/j.jconrel.2011.09.069.
188. Peng Z. Current Status of Gendicine in China: Recombinant Human Ad-p53 Agent for Treatment of Cancers. *Hum Gene Ther*. 2005;1027(September):1016–1027.
189. Cai L. A slow release formulation of insulin as a treatment for osteoarthritis. *Osteoarthr Cartil*. 2002;10(9):692–706. doi:10.1053/joca.2002.0813.
190. Zhang X, Yu C, Xushi, Zhang C, Tang T, Dai K. Direct chitosan-mediated gene delivery to the rabbit knee joints in vitro and in vivo. *Biochem Biophys Res Commun*. 2006;341(1):202–8. doi:10.1016/j.bbrc.2005.12.171.
191. Rothenfluh D a, Bermudez H, O'Neil CP, Hubbell J a. Biofunctional polymer nanoparticles for intra-articular targeting and retention in cartilage. *Nat Mater*. 2008;7(3):248–54. doi:10.1038/nmat2116.
192. Whitmire RE, Wilson DS, Singh A, Levenston ME, Murthy N, García AJ. Self-assembling nanoparticles for intra-articular delivery of anti-inflammatory proteins. *Biomaterials*. 2012;33(30):7665–75. doi:10.1016/j.biomaterials.2012.06.101.
193. Jain A, Singh SK, Singh Y, Singh S. Development of Lipid Nanoparticles of Diacerein, an Antiosteoarthritic Drug for Enhancement in Bioavailability and Reduction in its Side Effects. *J Biomed Nanotechnol*. 2013;9(5):891–900. doi:10.1166/jbn.2013.1580.
194. Villalba BT, Ianiski FR, Wilhelm EA, Fernandes RS, Alves MP, Luchese C. Meloxicam-loaded nanocapsules have antinociceptive and antiedematogenic effects in acute models of nociception. *Life Sci*. 2014;115(1-2):36–43. doi:10.1016/j.lfs.2014.09.002.
195. Oh EJ, Park K, Kim KS, et al. Target specific and long-acting delivery of protein, peptide, and nucleotide therapeutics using hyaluronic acid derivatives. *J Control Release*. 2010;141(1):2–12. doi:10.1016/j.jconrel.2009.09.010.
196. Hahn S, Kim S, Kim M, Kim D. Characterization and in vivo study of sustained-release formulation of human growth hormone using sodium hyaluronate. *Pharm*

Res. 2004;21(8):1374–1381. Disponível em:

<http://link.springer.com/article/10.1023/B:PHAM.0000036910.41224.de>. Acedido a 14 de outubro de 2014.

197. Kim Y, Hong JW, Chung Y-S, et al. Efficacy and safety of sustained-release recombinant human growth hormone in Korean adults with growth hormone deficiency. *Yonsei Med J.* 2014;55(4):1042–8. doi:10.3349/ymj.2014.55.4.1042.
198. Laroui H, Grossin L, Léonard M, et al. Hyaluronate-covered nanoparticles for the therapeutic targeting of cartilage. *Biomacromolecules.* 2007;8(12):3879–85. doi:10.1021/bm700836y.
199. Zille H, Paquet J, Henrionnet C, et al. Evaluation of intra-articular delivery of hyaluronic acid functionalized biopolymeric nanoparticles in healthy rat knees. *Biomed Mater Eng.* 2010;20(3):235–42. doi:10.3233/BME-2010-0637.
200. Lu H-D, Zhao H-Q, Wang K, Lv L-L. Novel hyaluronic acid-chitosan nanoparticles as non-viral gene delivery vectors targeting osteoarthritis. *Int J Pharm.* 2011;420(2):358–65. doi:10.1016/j.ijpharm.2011.08.046.
201. Morgen M, Tung D, Boras B, Miller W, Malfait A-M, Tortorella M. Nanoparticles for improved local retention after intra-articular injection into the knee joint. *Pharm Res.* 2013;30(1):257–68. doi:10.1007/s11095-012-0870-x.
202. Ryan SM, McMorrow J, Umerska A, et al. An intra-articular salmon calcitonin-based nanocomplex reduces experimental inflammatory arthritis. *J Control Release.* 2013;167(2):120–9. doi:10.1016/j.jconrel.2013.01.027.