

ANÁLISE MORFOLÓGICA DO MÚSCULO GASTROCNÊMIO DE RATOS HOLTZMAN ARTRÍTICOS TRATADOS COM CANABIDIOL

Bruna Barreiros Fernandes (PIBIC/CNPq/UEM), Gabriela Barone Volve da Silva (Coorientadora), Giovana Emanuele Derio de Lemos, Andressa Felipe Lima, Marcos Yudi Nagaoka Godoy, Juliana Vanessa Colombo Martins Perles, Fernanda Losi Alves de Almeida (Orientadora). E-mail: flaalmeida@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Biológicas, Maringá, PR.

Morfologia / Histologia

Palavras-chave: doenças reumáticas; *Cannabis* sp.; músculo estriado esquelético.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do tratamento com canabidiol (CBD) sobre a morfologia e morfometria das fibras do músculo gastrocnêmio (GCN) de ratos Holtzman com artrite reumatoide (AR) induzida, em comparação ao ibuprofeno. Foram utilizados 25 ratos, divididos em cinco grupos (n=5): controle (C), controle tratado com CBD (CC), artríticos (A), artríticos tratados com CBD (AC) e artríticos tratados com ibuprofeno (AI). A AR foi induzida com adjuvante completo de Freund a 5%, e os grupos CC, AC e AI receberam tratamento por 60 dias. Após eutanásia, o GCN foi pesado e analisado histologicamente com Hematoxilina-Eosina (HE). A morfologia manteve-se preservada nos controles (C e CC), enquanto a AR levou à degeneração das fibras e inflamação (A). Nos tratados (AC e AI), houve preservação parcial, mas necrose intensa e inflamação mais acentuada no grupo AI em relação ao AC. Os grupos A, AC e AI apresentaram atrofia em comparação aos controles. Entre AC e AI, o ibuprofeno foi mais eficaz que o CBD na reversão parcial da atrofia, mas não preservou a morfologia. Os dados sugerem que a AR compromete o GCN, causando inflamação, degeneração e atrofia. Embora o ibuprofeno tenha sido mais eficaz que o CBD na reversão da atrofia, provocou maior dano estrutural. Já o CBD, mesmo com menor efeito sobre o diâmetro das fibras, mostrou proteção estrutural do músculo. Assim, os mecanismos de ação de ambos parecem distintos, com o CBD exibindo efeito mais protetor na organização muscular.

INTRODUÇÃO

A artrite reumatoide (AR) é uma doença com elevada morbimortalidade e de grande impacto social e econômico, com prevalência de 0,5 a 1% da população. Ela atinge a musculatura esquelética, resultando em perda da massa e força muscular devido à inflamação crônica (TEKGOZ *et al.*, 2020). Entre os fármacos tradicionalmente utilizados no tratamento da AR, destacam-se os anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs), como o ibuprofeno, de ação analgésica, antipirética e anti-inflamatória, mas com potenciais efeitos adversos e custosos ao Estado. As miopatias, como

manifestações clínicas da AR, são comumente relatadas, mas pouco caracterizadas e relacionadas ao tratamento com CBD. Pacientes tratados com CBD têm mostrado 40% mais chance de reduzir a dor em comparação com pacientes que usaram placebo (WHITING *et al.*, 2015). Deste modo, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do tratamento com CBD (50 mg/kg) sobre a morfologia e morfometria das fibras do músculo gastrocnêmio (GCN) de ratos Holtzman portadores de AR, induzida por adjuvante completo de *Freund*, comparando os resultados com o tratamento usual com Ibuprofeno.

MATERIAIS E MÉTODOS

O delineamento experimental foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UEM sob o protocolo de número 2446180723. Foram utilizados 25 ratos machos adultos *Holtzman*, com 56 dias de idade e cerca de 200 g, mantidos em biotério sob condições controladas de temperatura, iluminação e alimentação. Os animais foram distribuídos aleatoriamente em cinco grupos (n=5): controle (C), controle tratados com canabidiol (CC), artríticos (A), artríticos tratados com canabidiol (AC) e artríticos tratados com ibuprofeno (AI). A AR foi induzida nos grupos A, AC e AI por injeção de 0,1 mL de adjuvante completo de *Freund* 5% contendo *Mycobacterium tuberculosis* na pata traseira esquerda. O grupos C e CC receberam óleo mineral no mesmo local. O canabidiol (50 mg/kg) ou ibuprofeno (dissolvido em carboximetilcelulose 10%, 17,5 mg/kg) foi administrado diariamente por gavagem. Os grupos C e CC receberam apenas o diluente, seguindo o mesmo protocolo de gavagem. Após 60 dias, os animais foram eutanasiados por sobrecarga de anestésico, por via intramuscular, utilizando a combinação de quetamina (80 mg/Kg) e xilazina (10 mg/Kg). O músculo GCN direito foi dissecado, pesado, fixado em formol 10% e processado para inclusão em parafina. Os cortes histológicos (10 µm) foram corados em HE e analisados em um microscópio óptico acoplado a um sistema de captura de imagens. A morfometria foi realizada medindo-se o menor diâmetro de 200 fibras musculares por animal, utilizando software *Image Pro-Plus* 4.5. Os dados obtidos foram submetidos à análise de normalidade pelo teste de *Kolmogorov-Smirnov* e à Análise de Variância (*one-way* ANOVA), seguida pelo pós-teste de *Tukey* para comparação de médias. O nível de significância adotado para todas as comparações foi de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise dos cortes histológicos, sob microscopia óptica, revelou características morfológicas distintas no GCN entre os grupos avaliados, com exceção do C e CC que se mostraram semelhantes. Esses dois últimos apresentaram preservação da morfologia muscular, com fibras poligonais, de citoplasma acidófilo e núcleos periféricos, além de perimísio e endomísio íntegros e ausência de infiltrado inflamatório. Já no GCN dos ratos com AR (A), observou-se degeneração das fibras e infiltrado inflamatório, enquanto os grupos tratados (AC e AI) exibiram morfologia parcialmente preservada. O grupo AI destacou-se por necrose intensa e extravasamento leuco-

citário frequente, sugerindo inflamação mais acentuada que no grupo AC. Corroborando com nossos resultados, Dias (2019) mostrou que o tratamento com ibuprofeno não reverteu o quadro inflamatório em modelo experimental de lesão muscular traumática do GCN de ratos *Wistar*.

O peso relativo do músculo GCN (peso do músculo/massa corporal) diminuiu nos ratos artríticos (A: $0,0030 \pm 0,0002$; AC: $0,0035 \pm 0,0003$; AI: $0,0031 \pm 0,0001$) em comparação com os controles (C: $0,0063 \pm 0,0063$; CC: $0,007028 \pm 0,0006$; $p > 0,05$), caracterizando o quadro de atrofia conhecido como caquexia reumatoide (CR). Na AR, a manutenção da massa muscular é prejudicada pela alteração do equilíbrio entre síntese e degradação proteica, como resultado de uma inflamação muscular acentuada. Além disso, os danos articulares da AR e fraqueza muscular também contribuem para instalação do quadro de CR, presente em cerca de dois terços dos pacientes (WALSMITH; ROUBENOFF, 2002). Entre os artríticos tratados com CBD (AC: $0,0035 \pm 0,0003$) e ibuprofeno (AI: $0,0031 \pm 0,0001$), não foram observadas diferenças no peso relativo do GCN em comparação aos artríticos (A: $0,0030 \pm 0,0002$; $p > 0,05$). Apesar de sua ação anti-inflamatória, o tratamento dos animais artríticos com CBD (AC) não impediu a ocorrência de CR em comparação ao seu respectivo controle (CC: $0,007028 \pm 0,0006$, $p > 0,05$) nesse modelo de estudo.

Corroborando com os resultados da atrofia do GCN induzida pela AR, a análise morfométrica mostrou menor diâmetro das fibras nos animais artríticos (A: $12,82 \pm 0,0063 \mu\text{m}$; AC: $12,82 \pm 0,97 \mu\text{m}$; AI: $15,37 \pm 1,03 \mu\text{m}$), também indicando atrofia, quando comparados aos animais controles (C: $24,92 \pm 2,06 \mu\text{m}$; CC: $22,68 \pm 1,61 \mu\text{m}$; $p < 0,05$) (WALSMITH; ROUBENOFF, 2002). Já o tratamento com CBD não mostrou efeito sobre a atrofia das fibras musculares promovida pela AR (AC vs. A; $p > 0,05$). Contrariamente, o diâmetro das fibras no grupo AI foi maior que o observado nos grupos A e AC ($p < 0,05$). No entanto, embora a morfologia do GCN tenha sido mais afetada nos animais do grupo AI, quando comparados aos do grupo AC, o ibuprofeno mostrou-se mais eficaz que o CBD em reverter, pelo menos parcialmente, a atrofia das fibras causada pela AR ($p < 0,05$). O tratamento da AR com ibuprofeno é comumente utilizado e mostra efeitos benéficos na recuperação muscular (BATEMAN *et al.*, 2023). No entanto, estudos envolvendo o tratamento da AR com ibuprofeno ou CBD e a análise morfológica e morfométrica da musculatura ainda são escassos na literatura.

Nossos dados sugerem que embora o ibuprofeno tenha se mostrado mais eficaz que o CBD na reversão da atrofia das fibras musculares na AR, ele pode causar maior dano estrutural ou ter sido incapaz de reverter os sinais de inflamação no músculo GCN. Além disso, considerando o tratamento da AR durante 60 dias, os mecanismos de ação do CBD e ibuprofeno sobre o músculo GCN podem ser distintos, com o primeiro apresentando efeito mais protetor sobre a organização estrutural do tecido muscular estriado esquelético, mesmo que com menor efeito no diâmetro das fibras.

CONCLUSÕES

A AR promove perda de massa muscular devido à atrofia das fibras do GCN. O tratamento da AR com ibuprofeno afetou a morfologia do GCN e o CBD mostrou ser

mais eficaz em preservar a organização estrutural desse músculo, amenizando os sinais de inflamação. No entanto, o ibuprofeno reverteu parcialmente a atrofia das fibras musculares em comparação ao CBD. Assim, nossos dados sugerem que a combinação do ibuprofeno e do CBD poderia ser uma estratégia promissora no tratamento da AR, com o ibuprofeno atuando parcialmente na recuperação da massa muscular e o CBD amenizando a degeneração e inflamação.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Laboratório de Histologia do Departamento de Ciências Morfológicas (DCM-UEM) onde esse trabalho foi desenvolvido; à orientadora Fernanda Losi Alves de Almeida e coorientadora Gabriela Barone Volce da Silva por me guiarem excepcionalmente perante todo o percurso, e ao CNPq e Fundação Araucária pela incrível oportunidade e financiamento do início do meu sonho.

REFERÊNCIAS

BATEMAN, L. S.; McSWAIN, R. T.; LOTT, T. *et al.* Efeitos do ibuprofeno na hipertrofia muscular e inflamação: uma revisão da literatura. **Curr. Phys. Med. Rehabil. Rep.**, v. 11, p. 43-50, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s40141-023-00381-y>. Acesso em: 30 ago. 2025.

DIAS, F. M. **Efeitos da fonoforese com ibuprofeno associado a nanopartículas de ouro em modelo animal de lesão muscular traumática**. 2019. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2019.

TEKGOZ, E. *et al.* Sarcopenia in rheumatoid arthritis: Is it a common manifestation?. **International Journal of Rheumatic Diseases**, v. 23, n. 12, p. 1685–1691, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/1756-185X.13976>. Acesso em: 22 ago. 2025.

WALSMITH, J.; ROUBENOFF, R. Cachexia in rheumatoid arthritis. **International Journal of Cardiology**, v. 85, n. 1, p. 89–99, 2002. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/s0167-5273\(02\)00237-1](https://doi.org/10.1016/s0167-5273(02)00237-1). Acesso em: 22 ago. 2025.

WHITING, P. F. *et al.* **Cannabinoids for Medical Use: A Systematic Review and Meta-analysis**. JAMA, v. 313, n. 24, p. 2456–2473, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1001/jama.2015.6358>. Acesso em: 22 ago. 2025.