

Programa de Pós-graduação em Fisioterapia

Alline Mardegan Miotto



Efeito do exercício físico aquático de baixa, média e alta intensidade na artrite induzida em joelho de ratos Wistar

Presidente Prudente

2018

Programa de Pós-graduação em Fisioterapia

Alline Mardegan Miotto



Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências e Tecnologia - FCT/UNESP, campus de Presidente Prudente, para obtenção do título de Mestre no Programa de Pós - Graduação em Fisioterapia.

Orientador: Prof. Dr. José Carlos Camargo Filho

Presidente Prudente

2018

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação - Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação - UNESP, Campus de Presidente Prudente

M631e Mito, Aline Mardegan.
Efeitos do exercício físico aquático de baixa, moderada e alta intensidade na artrite induzida em joelhos de ratos Wistar / Aline Mardegan Mito. - 2018
69 f. : il

Orientador: José Carlos Camargo Filho
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Ciências e Tecnologia, Presidente Prudente, 2018
Inclui bibliografia

1. Artrite induzida em ratos. 2. Propriedades ósseas. 3. Edema Articular. I. Camargo Filho, José Carlos. II. Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Ciências e Tecnologia. III. Título.

Alessandra Kuba Oshiro Assunção
CRB-8/9013



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Presidente Prudente

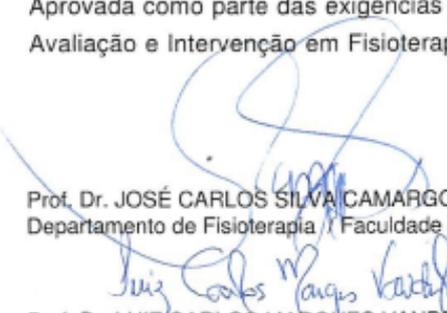
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

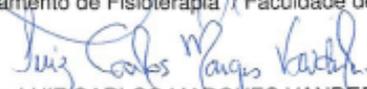
TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: ARTRITE INDUZIDA EM RATOS

AUTORA: ALLINE MARDEGAN MIOTO

ORIENTADOR: JOSÉ CARLOS SILVA CAMARGO FILHO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em FISIOTERAPIA, área:
Avaliação e Intervenção em Fisioterapia pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. JOSÉ CARLOS SILVA CAMARGO FILHO
Departamento de Fisioterapia / Faculdade de Ciências e Tecnologia de Presidente Prudente


Prof. Dr. LUIZ CARLOS MARQUES VANDERLEI
Departamento de Fisioterapia e Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia / UNESP - Campus de
Presidente Prudente - SP


Prof. Dr. ROBSON CHACON CASTOLDI
- / Pesquisador

Presidente Prudente, 30 de maio de 2018

Dedicatória

*Dedico esta dissertação ao Senhor Jesus Cristo, a minha família, e aos meus
amigos.*

Agradecimientos

Ao meu grande amor Jesus Cristo, que me capacitou, me fortaleceu e possibilitou que esse sonho fosse realizado.

Ao meu herói e avô Sérgio Mardegan, que foi o primeiro a acreditar nesse sonho e sempre confiou que eu pudesse alcançá-lo.

A minha mãe, que nunca mediu esforços para que eu chegasse onde eu queria e sempre me deu o suporte necessário.

Ao meu Pai João Carlos, que nunca duvidou que eu pudesse conquistar esse sonho.

Aos meus irmãos Carolline e Juliano que sempre me apoiaram a não desistir.

A minha avó que fez o possível para que eu conseguisse concluir essa etapa em minha vida.

A minha tia Sandra que sempre me deu força e apoio necessário, e aos meus amigos Daniele, Michael, e Carla que sempre confiaram no meu potencial e me ajudaram a chegar aqui.

A minha amiga querida Paula Jaqueline que começou essa jornada comigo há mais de 10 anos e me inspirou de muitas maneiras me ajudando de formas inexplicáveis.

Ao meu orientador Prof. Dr. José Carlos Silva Camargo Filho e à Profa. Dra. Regina Celi Trindade Camargo.

A Profa. Ms. Margarete Jardimetti de Oliveira, Profa. Dra. Francis Lopes Pacagnelli e ao Prof. Ms. Weber G.A. de Oliveira, que através de suas condutas impecáveis como Mestres e Fisioterapeutas despertaram em mim o interesse em trilhar esse caminho.

Ao Prof. Dr. Luiz Carlos Marques Vanderlei e ao Prof. Dr. Robson Chacon Castoldi, por aceitar participar da banca avaliadora deste trabalho e agradecer pelas grandes contribuições dadas ao presente estudo;

Aos integrantes do LAPMUS Prof. Ms. Guilherme Akio Tamura Ozaki, Profa. Ms. Tatiane Emy Koike, Thiago Alves Garcia, William Sales pela convivência, amizade e suas contribuições individuais para este trabalho

Epígrafe

“Eu prefiro ser feliz, embora louco, a em conformidade viver.”

(Martin Luther King)

Sumário

Sumário

1. Apresentação.....	15
2. Resumo	18
3. Abstract.....	10
4. Introdução.....	20
a. Artigo 1	26
b. Artigo 2.....	47
5. Conclusões	64
6. Referências.....	66

Apresentação

Este é um modelo alternativo de dissertação e contempla a pesquisa intitulada: **Efeitos do Exercício Aquático de Baixa, Moderada e Alta Intensidade na Artrite Induzida em Joelhos de Ratos Wistar**, no Laboratório de Análise da Plasticidade Muscular do Departamento de Fisioterapia, da FCT/UNESP (Campus de Presidente Prudente), realizada no Laboratório de Fisiologia do Estresse da Faculdade de Ciências e Tecnologia – FCT/UNESP.

Em concordância com as normas do modelo alternativo do Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, a presente dissertação está dividida da seguinte forma:

- Introdução, contendo a contextualização do tema pesquisado;
- Artigo I: Mioto AM e Filho JCC. Efeitos do Exercício Aquático de Baixa, Média e Alta Intensidade no Edema Articular Ocasionalmente por Artrite Induzida em Joelho de Ratos Wistar. Que será submetido para análise ao periódico: *Motriz Revista de Educação Física* (disponível no link: <http://www.scielo.br/revistas/motriz/iinstruc.htm>)
- Artigo II: Mioto AM e Filho JCC. Efeitos de Diferentes Intensidades de Natação nas propriedades ósseas da Tíbia e Fêmur de ratos induzidos a Artrite Reumatóide no Joelho. Que será submetido para análise ao periódico: *Motriz Revista de Educação Física* (disponível no link: <http://www.scielo.br/revistas/motriz/iinstruc.htm>)
- Conclusões, obtidas por meio da pesquisa realizada;
- Referências, no formato recomendado pelo Comitê Internacional de Editores de Jornais Médicos (ICMJE – *International Committee of Medical Journal Editors*), para apresentação das fontes utilizadas na redação da introdução.

Ressalta-se que os artigos estão formatados e apresentados conforme as normas para apresentação da dissertação, porém serão submetidos de acordo com as normas de cada periódico.

Resumo

INTRODUÇÃO: A artrite reumatoide (AR) é uma doença inflamatória crônica, autoimune e de etiologia e patogênese desconhecidas que afeta o sistema musculoesquelético. O exercício físico é indicado como meio de auxiliar a retardar a incapacidade funcional, ajudando a melhorar a função articular. **OBJETIVO:** O objetivo desse estudo foi analisar os efeitos que exercício físico aquático – nas intensidades baixa, média e alta – provocam na inflamação articular, nas propriedades dos ossos, fêmur e tíbia, na artrite induzida em joelhos de ratos. **MÉTODOS:** Foram utilizados 20 ratos machos Wistar com 60 dias de idade, divididos em 5 grupos: Grupo Controle Artrite (GCA) n= 4, Grupo Controle Placebo (GCP) n=4, Grupo Atividade física baixa (GB) n=4, grupo Atividade Física Moderada (GM) n=4 e grupo Atividade Física Intensa (GI) n=4. Os grupos de atividade física foram submetidos à injeção intra-articular (ia) de 0,05 ml/100g Zymosan (1mg/50 μ L) no joelho direito. Os animais do grupo controle artrite (GCA) receberam solução salina no joelho direito ao invés do Zymosan, e os animais do grupo controle placebo (GCP) foram submetidos somente ao estresse da agulha. Os animais foram submetidos à atividade aquática durante 30 minutos, 4 vezes na semana, durante 5 semanas, sendo a intensidade do exercício determinada por meio da sobrecarga colocada no dorso de cada animal em seus respectivos grupos: GB 1%, GM 5%, GI 15% do peso do rato, no grupo GCA não foi adicionada sobrecarga. Os animais foram eutanasiados após 5 semanas de treinamento. **RESULTADOS:** Observou-se que o grupo de baixa intensidade, e os grupos que não fizeram exercício GCA e GCP, ganharam mais peso comparado ao grupo de média intensidade GM. Em relação ao edema articular houve diminuição do mesmo no grupo GI após a terceira semana de treino e no grupo GM após a 4^o semana de exercício, já em relação ao conteúdo mineral ósseo (CMO) da tíbia houve diminuição do grupo GM quando comparado ao grupo GCP (p=0,026), já na densidade mineral óssea da tíbia houve diminuição do grupo GM comparado aos grupos GCP (p=0,001), GCA (p=0,002), GB (p=0,026). Para Área do fêmur, o grupo GI apresentou aumento comparado aos grupos GB (p=0,014) e GM (p=0,008). **CONCLUSÃO:** conclui-se que os exercício de intensidade moderada e alta intensidade promovem melhores resultados que os exercícios de baixa intensidade.

Palavras-chave: Artrite Reumatoide, Exercício Físico, Ratos, Artrite Induzida em Ratos.

Abstract

INTRODUCTION: Rheumatoid arthritis (RA) is a chronic inflammatory, autoimmune disease, its etiology and pathogenesis are unknown and it affects the musculoskeletal system. Based on this argument, physical exercise is indicated as it may help to delay functional disability, which can improve joint function. **OBJECTIVE:** The aim of this study was to analyze the effects of aquatic physical exercise on the low, medium and high intensity on the joint inflammation and on the properties of femoral and tibial bones of the rats in which knee arthritis was induced. **METHODS:** Twenty male Wistar rats aged 60 days were divided into 5 groups: Group Control Arthritis (GCA) n = 4, Group Control Placebo (GCP) n = 4, Group Low physical activity (GL) n = 4, Group Moderate physical activity (GM) n = 4 and Group Intense Physical activity (GI) n = 4. The physical activity groups were submitted to intra-articular injection (ai) of 0.05 ml / 100g Zymosan (1mg / 50 μ L) in the right knee. The animals in the control group arthritis (GCA) received saline solution in the right knee instead of Zymosan, and the animals in the placebo control group (GCP) were submitted only to the stress of the needle. The animals were submitted to aquatic activity for 30 minutes, 4 times a week for 5 weeks, and the intensity of the exercise was determined by the overload placed on the back of each animal in their respective groups: GL 1%, GM 5%, GI 15 % of their weight, no overload was added in the GCA group. The animals were euthanized after 5 weeks of training **RESULTS:** It was observed that the low intensity group GL, and the groups that did not exercise GCA and GCP, gained more weight compared to the group GM. In relation to the joint edema, there was a decrease in the GI ($p = 0.200$) after the third week of training and in the GM group ($p = 0.39$) after In the 4th week of exercise; in relation to the bone mineral content (BMC) of the tibia, there was a decrease in the GM group when compared to the GCP group ($p = 0.026$), whereas in the tibial bone mineral density (BMD) there was a decrease in the GM group compared to the GCP ($p = 0.001$), GCA ($p = 0.002$), GB ($p = 0.026$). As for the area of the femur, the GI group presented an increase of it compared to the GB ($p = 0.014$) and GM ($p = 0.008$) groups;. **CONCLUSION:** Therefore, it is concluded that the exercises of moderate intensity and high intensity promote better results than the exercises of low intensity.

Key-words: Rheumatoid Arthritis, Physical Exercise, Mice, Physiotherapy, induced Arthritis.

Introdução

A artrite reumatoide (AR) é uma inflamação sistêmica crônica que ocorre predominantemente nas articulações. Cerca de 1% da população mundial possui AR e são afetados com dor e deficiências e incapacidades decorrentes da AR¹.

A AR também apresenta características de uma doença autoimune na qual os pacientes produzem anticorpos contra substâncias tais como: imunoglobulina G (IgG), fator reumatoide (RF), colágeno tipo II (IIC) e antígenos nucleares¹. Além disso, várias citocinas pró-inflamatórias, incluindo IL-1, IL-6 e TNF- α , são encontradas em grande quantidade nas articulações de pacientes com AR².

Na AR, células T CD4 +, células B e macrófagos infiltram a membrana sinovial e se organizam em agregados linfoides discretos com centro germinativo³. Conforme a AR evolui, e ocorre a destruição articular, há uma evidente diminuição da mobilidade articular, além de evidências radiológicas de erosões ósseas em um curto período de tempo¹⁸.

Além da destruição cartilaginosa, as erosões ósseas marginais e subcondrais representam a característica radiográfica da AR e contribuem para a disfunção articular e incapacidade progressiva que ocorrem nestes pacientes²³.

Achados indicam que pacientes com AR podem obter resultados benéficos ao praticar exercícios físicos⁴, tais como diminuição da dor, melhora da função articular, retardando assim as incapacidades funcionais⁵. Por meio do exercício físico aquático, pacientes portadores de AR podem melhorar a aptidão aeróbia, força muscular, mobilidade articular, aptidão funcional e até mesmo o humor, sem dano articular significativo ou piora no processo inflamatório³⁰. Por ser uma doença crônica, a AR interfere diretamente na qualidade de vida incluindo aspectos físicos, psicológicos e sociais; é tradicionalmente considerada a doença de maior impacto em todos os aspectos de qualidade de vida

No contexto acima descrito, é de fundamental importância a escolha de tratamentos eficazes que possam promover a diminuição do edema articular, a melhora das propriedades ósseas, além dos benefícios na qualidade de vida desse paciente.

Para cumprir com os objetivos propostos foi realizado um estudo que proporcionou a elaboração de dois artigos científicos. O primeiro deles foi intitulado: **“Efeitos do Exercício Aquático de Baixa, Média e Alta Intensidade no Edema Articular Ocasionalmente por Artrite Induzida em Joelho de Ratos Wistar”**, o qual teve por objetivo avaliar os efeitos de 5 semanas de exercício físico aquático em 3 diferentes intensidades sobre o edema articular ocasionados por artrite induzida em joelho de ratos Wistar. Os resultados deste estudo permitem concluir que houve diminuição do edema articular após a 3ª e 4ª semanas os grupos de moderada e alta intensidade.

O segundo artigo intitulado: **“Efeitos de Diferentes intensidades de natação nas propriedades ósseas da Tíbia e Fêmur de ratos induzidos a Artrite Reumatóide no Joelho”**, o qual teve por objetivo analisar os efeitos que 5 semanas de exercício físico aquático nas intensidades baixa, média e alta provocam nas propriedades dos ossos na artrite induzida em joelhos de ratos. Os resultados deste estudo permitiram concluir nos grupos de baixa e moderada intensidade apresentaram a diminuição do conteúdo mineral ósseo, tanto para o fêmur quanto para a tíbia. No que se refere a área do osso, no grupo de alta intensidade houve aumento da área tanto para tíbia quanto para o fêmur. Os grupos de baixa e moderada intensidade obtiveram uma diminuição na densidade mineral óssea. No ensaio mecânico, foi observado que a força máxima para fraturar os ossos foi menor nos grupos de baixa e moderada intensidade.

A seguir esses artigos serão apresentados na íntegra, conforme as normas para apresentação da dissertação, as quais foram definidas pelo Conselho de Curso do Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia da FCT/UNESP.

Artigo 1

Efeitos do Exercício Aquático de Baixa, Média e Alta Intensidade no Edema Articular na Artrite Induzida em Joelho de Ratos.

RESUMO:

Introdução: A Artrite Reumatoide (AR) é uma doença inflamatória sistêmica, crônica, de caráter autoimune, caracterizada pelo acometimento das articulações com padrão simétrico. A AR é frequente causa de dor e incapacidade em grande parte da população. Pesquisas sugerem que o exercício atenua os sintomas da AR. **Objetivo:** avaliar os efeitos do exercício físico de baixa, moderada e alta intensidade na inflamação articular ratos com Artrite induzida por Zymosam (Zy) em ratos com SM. **Materiais e métodos:** 20 ratos machos Wistar com 60 dias de idade foram divididos em 5 grupos: Grupo Controle Artrite (GCA) n= 4, Grupo Controle Placebo (GCP) n=4, Grupo Atividade física baixa (GB) n=4, grupo Atividade Física Moderada (GM) n=4 e grupo Atividade Física Intensa (GI) n=4. Os grupos de atividade física foram submetidos à injeção intra-articular (ia) de 0,05 ml/100g Zymosam (1mg/50 μ L) no joelho direito. Os animais do grupo controle artrite (GCA) receberam solução salina no joelho direito ao invés do Zymosan, e os animais do grupo controle placebo (GCP) foram submetidos somente ao estresse da agulha. Os animais foram submetidos à atividade aquática durante 30 minutos, 4 vezes na semana, durante 5 semanas, sendo a intensidade do exercício determinada por meio da sobrecarga colocada no dorso de cada animal: GB 1%, GM 5%, GI 15% do peso do rato, no grupo GCA não foi adicionada sobrecarga. Os animais foram eutanasiados após 5 semanas de treinamento. **Resultados:** As diferentes intensidades de exercício físico tiveram influência no ganho do diâmetro articular a partir da terceira e quarta semanas após exercício físico. Na terceira semana o grupo GI apresentou uma diminuição significativa do edema inflamatório (-0,4 \pm 0,1 mm), quando comparado aos grupos GB (0,09 \pm 0,1 mm) e GM (0,08 \pm 0,1 mm). Na quarta semana, o grupo GM obteve uma diminuição significativa do edema inflamatório(-0,5 \pm 0,4) quando comparado aos grupos GB (0,1 \pm 0,1 mm) e GI (0,07 \pm 0,1 mm). Quanto a presença e ausência de líquido sinovial, não houve diferença em nenhum grupo. No entanto não houve a presença de líquido sinovial no grupo GCA. **Conclusão:** exercícios de moderada intensidade promovem um melhor resultado na diminuição do edema inflamatório.

Palavras-chave: Artrite Reumatoide, Exercício Físico, Ratos, Artrite Induzida em Ratos.

INTRODUÇÃO

A artrite reumatoide (AR) é uma inflamação sistêmica crônica que ocorre predominantemente nas articulações. Cerca de 1% da população mundial possui AR e são afetados com dor e deficiências e incapacidades decorrentes da AR¹.

A AR também apresenta características de uma doença autoimune na qual os pacientes produzem anticorpos contra substâncias tais como: imunoglobulina G (IgG), fator reumatoide (RF), colágeno tipo II (IIC) e antígenos nucleares¹. Além disso, várias citocinas pró-inflamatórias, incluindo IL-1, IL-6 e TNF-a, são encontradas em grande quantidade nas articulações de pacientes com AR².

São inúmeras as limitações funcionais decorrentes da AR, intensificando a necessidade de um diagnóstico precoce e início imediato do tratamento afim de controlar a doença e prevenir a incapacidade funcional e lesões articulares irreversíveis³.

Achados indicam que pacientes com AR podem obter resultados benéficos ao praticar exercícios físicos⁴, tais como diminuição da dor, melhora da função articular, retardando assim as incapacidades funcionais⁵. Acredita-se que exercícios de força no qual a carga na articulação é maior, sejam melhores para crescimento da cartilagem afetada pela AR. No entanto nas diretrizes da “Osteoarthritis Research Society International”, não traz diferenças significantes entre protocolos de força, exercícios em solo ou aquáticos para função ou dor nos pacientes⁶.

Os protocolos de exercícios aquáticos observados em estudos normalmente não utilizam cargas, e quando o fazem esta é baixa ficando em torno de 5 a 7% do peso corporal como intensidade. Além disso ele não gera o impacto do solo no corpo, o que abre a possibilidade para aumentar a carga imposta no músculo durante o exercício aquático e gerar maior contração muscular sem gerar demasiado esforço ou resposta do solo no membro com artrite reumatoide.

Sendo assim, o objetivo desse estudo foi avaliar as alterações que as diferentes intensidades do exercício físico podem causar na inflamação articular e no

músculo sóleo de ratos submetidos a indução á artrite.

MATERIAIS E MÉTODOS

Delineamento experimental

Os animais foram subdivididos em cinco grupos (controle artrite, controle sedentário, exercício intensidade baixa, exercício intensidade moderada, exercício intensidade alta), para a aplicação dos respectivos protocolos de treinamento. Ao final dos respectivos protocolos, os animais foram eutanasiados para coleta do material a ser analisado.

Animais

Foram obtidos junto ao Biotério Central da Unoeste de Presidente Prudente 20 ratos machos Wistar com 60 dias de idade, mantidos em gaiolas plásticas coletivas. Estes animais permaneceram em grupos de três a cinco animais por gaiola, do Departamento de Biomedicina da Unoeste de Presidente Prudente, sob temperatura média de $20\pm 1^{\circ}\text{C}$ e ciclo claro/escuro de 12 horas, com acesso livre a água e ração.

Este trabalho seguiu os princípios da pesquisa com animais e foi aprovado pelo comitê de ética para uso de animais da Unoeste sob o protocolo de número 2358.

Indução artrite

Para a indução da artrite, inicialmente os ratos foram anestesiados com Ketamina intraperitoneal, com dosagem de acordo com o peso do animal (01 a 1,5microlitros de ketamina por grama de peso). Após a anestesia o animal foi submetido à injeção intra-articular (ia) de 0,05 ml/100g Zymosam (1mg/50 μL) no joelho direito⁷. Os animais do grupo controle artrite (GCA) receberam solução salina no joelho direito ao invés do Zymosan, e os animais do grupo controle placebo (GCP) foram submetidos somente ao estresse da agulha.

Modelo de Treinamento

Para avaliar o efeito da atividade física os animais foram submetidos à atividade aquática. Os animais foram inicialmente submetidos à atividade aquática em tanque coletivo contendo 15 cm de profundidade durante 10 minutos, para acostumar os animais a tentarem manter-se na superfície. Após a espera de 15 minutos os animais foram submetidos à atividade aquática em um tanque coletivo com 40 cm de profundidade durante 30 minutos, onde a sobrecarga foi atada ao dorso, através de coletes¹⁸. A intensidade do exercício para os grupos de atividade física baixa (GB), moderada (GM) e intensa (GI) foi avaliada adicionando sobrecarga nos ratos de cada grupo. No grupo GB foi adicionado sobrecarga de 1%, no grupo GM foi adicionada uma sobrecarga de 5% do peso do rato e para o grupo GI foram adicionados 15% do peso do rato e no grupo controle artrite não foi adicionada sobrecarga. O protocolo de treinamento foi repetido 4 vezes por semana durante 5 semanas.

De modo a quantificar o edema inflamatório, um paquímetro não digital foi utilizado para medir o diâmetro articular (DA) médio lateral em cada dia, antes e após a atividade física. Os dados foram apresentados como a diferença entre as médias dos valores de DA medidos diariamente antes e após o exercício aquático.

Procedimento cirúrgico

Os animais foram submetidos à eutanásia ao final da quinta semana por meio de superdosagem da associação de cloridrato de ketamina e cloridrato de xilazina via intraperitoneal, seguindo os princípios éticos em pesquisa animal⁸. O músculo sóleo e foi removido e dissecado com cautela para preservar sua integridade.

Para a análise histológica foi utilizado o Método de Congelamento de Tecido não fixado⁸. Nesse método foi utilizado um béquer contendo 30 a 50 ml de N-hexana. Por meio de um suporte o béquer foi imerso em nitrogênio, e, utilizando-se um bastão de vidro, o N-Hexana foi agitado até atingir o estado pastoso, que ocorre de -70 a -80°C. Quando atingiu esse estado as amostras foram imersas por 20 a 30 segundos. Em seguida as amostras foram transferidas para câmara criostato (Microm,

HM 505 E) (-20°C) e mantidas por 20 a 30 minutos para que se estabelecesse o equilíbrio térmico. Após esse tempo as amostras foram alocadas em embalagens plásticas identificadas e armazenadas a -75°C em um freezer de ultrabaixa temperatura (CL580-80, COLDLAB) até o preparo das lâminas histológicas.

O preparo das lâminas histológicas foi realizado por meio de micrótomo criostato a temperatura -20°C, no qual foram seccionadas cortes transversais das fibras musculares, com espessura de 5µm. Em seguida foram montadas as lâminas que foram posteriormente coradas pelo método Hematoxilina e Eosina (HE)⁸. A análise das lâminas foram feitas por meio do microscópio de luz (Nikon Eclipse, 50i), com acoplamento de câmera fotográfica (Infinity 1).

Análise histológica

A análise histológica foi realizada de forma qualitativa nas lâminas coradas pelo método HE, por meio do software NIS-ELEMENTS D3. A análise qualitativa foi baseada na morfologia das fibras musculares, que foram avaliadas quanto a característica das fibras: tamanho (normal, atrofica, hipertrófica), forma (poligonais, arredondadas e angulares), e tecido conjuntivo (endomísio e perimísio)

Análise dos dados

A análise descritiva foi expressa em média e desvio padrão ou mediana e intervalo interquartil dependendo da normalidade dos dados testado pelo teste de Shapiro-Wilk.

A comparação entre os grupos foi realizada pelo teste de ANOVA one way com pós teste de Tukey ou teste de Kruskal-Wallis com pós teste de Dunn, dependendo da homogeneidade dos dados verificado pelo teste de Levene. Para a comparação entre os momentos inicial e final do peso foi aplicado teste t student para amostras dependentes e teste de ANOVA para medidas repetidas com pós teste de Bonferroni para comparação do edema articular entre as semanas dentro de cada

grupo. Para todos os testes foi utilizado o programa estatístico SPSS 22.0 e o nível de significância adotado foi de 95% ($p < 0,05$)

RESULTADOS

A tabela 1 demonstra os dados de peso corporal dos animais, onde não foi observado diferença significativa entre os quatro grupos. Porém, ao final do experimento, os animais dos grupos GCP, GCA, GB e apresentaram aumento do peso corporal.

Inserir Tabela 1#

Na análise do diâmetro articular pode-se observar que não houve diferença do edema inflamatório entre em grupos e intragrupos durante as cinco semanas antes do exercício físico. Após o exercício físico os grupos GB, GM e GI também não apresentaram diferenças entre as cinco semanas tanto na análise entre grupos quanto na intragrupos (Tabela 2).

Inserir Tabela 2#

Na A diferença entre os deltas de ganho do diâmetro articular relacionado aos grupos que realizaram atividade física, notamos que na terceira semana após a atividade o grupo GI apresentou diminuição significativa do edema inflamatório ($0,4 \pm 0,1$ mm) comparado com os grupos GB ($-0,09 \pm 0,1$ mm) e GM ($-0,08 \pm 0,1$ mm). Na quarta semana também houve diferença significativa entre os grupos, onde o GM ($-0,5 \pm 0,4$) obteve uma diminuição significativa do edema inflamatório comparado com o grupo GB ($0,1 \pm 0,1$ mm) e GI ($-0,07 \pm 0,1$ mm) (Figura1).

Inserir Figura 1#

Com relação a inflamação não houve diferença significativa entre os grupos após a intervenção (Tabela 3). A presença do liquido sinovial também não apresentou diferença entre os grupos após a intervenção (Figura 2).

Inserir Tabela 3#

Inserir Figura 2#

Observando a Figura 3 na análise histológica do músculo sóleo, que houve pouca presença de inflamação muscular no grupo de alta intensidade GI, essa inflamação foi menor nos grupos GM, GB e GCA e inexistente no grupo controle. Quando observado a presença de células polimórficas, angulares ou arredondadas essas apareceram mais frequentes nos grupos de GI e GM. No grupo GCA essas tiveram maior frequência comparadas ao grupo GB, sendo quase ausentes no GCP. As fibras musculares atroficas eram encontradas no grupo GCA em maior quantidade em relação aos demais grupos. Em relação ao perimísio e endomísio muscular, esse se mostrou inalterado em todos os grupos observados.

Inserir Figura 3#

DISCUSSÃO

Os principais objetivos desse estudo foram de avaliar as alterações que as diferentes intensidades do exercício físico podem causar na inflamação articular de ratos submetidos a indução da artrite com Zymozan no joelho.

Observou-se que o grupo de baixa intensidade GB, e os grupos que não fizeram exercício GCA e GCP, ganharam mais peso comparado ao grupo de média intensidade GM. Em relação ao diâmetro articular, as diferentes intensidades de exercício físico tiveram influência no ganho do diâmetro articular a partir da terceira e quarta semana após exercício físico.

Na terceira semana o grupo GI apresentou uma diminuição significativa do edema inflamatório, quando comparado aos grupos GB e GM. Porém na quarta semana, o grupo GM obteve uma diminuição significativa do edema inflamatório quando comparado aos grupos GB e GI. Quanto a presença e ausência de líquido sinovial, não houve diferença em nenhum grupo, no entanto não houve a presença de líquido sinovial no grupo GCA.

O tratamento da AR visa a prevenção e o controle da lesão articular e, por conseguinte, a prevenção da perda dos movimentos, a analgesia e a melhora da qualidade de vida dos pacientes. Sendo assim, o exercício físico é visto como adequado para trazer benefícios ao paciente que sofre de AR, amenizando a dor ou adiando a incapacidade funcional através da manutenção da função articular⁹. No entanto, a intensidade do exercício físico é de extrema importância para obter resultados satisfatórios.

A natação traz benefícios, como o baixo custo do equipamento e a não necessidade de seleção de animais, já que todos possuem habilidade inata de nadar. As desvantagens nesse método, como a dificuldade na determinação da intensidade, o controle da temperatura e o stress promovido pelo contato com água também são fatores relevantes a se considerar durante um experimento com a natação⁷.

Até certo tempo atrás, muitos pesquisadores tinham certo receio em utilizar

a natação em seus laboratórios, por acharem que havia uma dificuldade na determinação da intensidade do esforço produzido. Porém, um estudo¹⁰ sugeriu um protocolo que estabelece um critério para determinação da intensidade do esforço em ratos durante a natação, consistindo na coleta de lactato sanguíneo da extremidade distal da cauda do animal durante o esforço com cargas progressivas, onde sobrecargas de até 5% do peso do animal se encontram dentro do limiar aeróbio.

Um estudo realizado¹⁰ verificou os efeitos de cinco sessões consecutivas de natação em ratos machos da linhagem Wistar. Os autores realizaram um aumento progressivo na carga fazendo com que a intensidade aumentasse de leve à moderada. Para tanto, cargas adicionais de 5% do peso corporal dos animais foram gradativamente adicionadas às suas regiões dorsais. Estes pesquisadores concluíram que animais praticantes de exercício físico tiveram redução significativa na concentração sérica de TNF- α . Tal fato é relevante uma vez que esta citocina é considerada um fator pró-inflamatório característico da AR sendo apontada como a responsável por manter o processo inflamatório ativo desta doença.

Outro estudo realizado.¹¹ avaliou ratos Wistar, machos, com dois meses de idade. Estes animais foram divididos em três grupos: grupo controle sedentário (C), grupo exercício físico agudo EXL (o qual realizou uma única sessão de exercício em intensidade leve até à exaustão) e grupo exercício físico agudo EXM (o qual realizou uma única sessão de exercício em intensidade moderada até exaustão).

Ponderando que exercícios de alta intensidade podem causar o aumento de algumas citocinas pró-inflamatórias e que treinamentos de intensidade moderada podem baixá-las, o tipo de exercício físico, a intensidade e a duração devem ser bem planejados¹².

Por fim a proposta desse estudo foi analisar as diferentes intensidades do exercício físico na artrite induzida em ratos e demonstrar qual intensidade traria alterações (boas ou ruins). Embora o estudo não tenha encontrado resultados estatisticamente significativos, pode-se concluir que o exercício físico não influenciou

nenhum grupo de forma negativa e o grupo de intensidade moderada GB obteve mais benefícios quando comparado aos demais grupos. Esse estudo foi feito em animais o que torna difícil a inferência em humanos, além disso o número pequeno de animais foi uma limitação desse estudo.

CONCLUSÃO

Desta forma pode-se concluir que o exercício de moderada e alta intensidade promoveram uma diminuição do edema inflamatório em relação a ausência de exercício físico na artrite reumatoide nos joelhos de ratos.

REFERÊNCIAS

1. FIRESTEIN, G.S., and N.J. Zvaifler. **Rheumatoid arthritis: a disease of disordered immunity. In Inflammation: Basic Principles and Clinical Correlates**, 2nd ed. Raven Press, Ltd., New York. 1992.
2. FELDMANN M., Brennan F.M., Maini R.N. Role of cytokines in rheumatoid arthritis. **Annual Review of Immunology**, v.14, Abril 1996.
3. LAURINDO IMM, Pinheiro GRC, Ximenes AC, Bertolo MB, Xavier RM, Giorgi RDN et. al. Consenso Brasileiro para o Diagnóstico e Tratamento da Artrite Reumatoide. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v.44, n.6, 2006.
4. VLIELAND TPM. Rehabilitation of people with rheumatoid arthritis. **Best Practice & Research Clinical Rheumatology**, v.17, n.5, Out. 2003.
5. SHIH M, Hootman JM, Kruger J, Helmick CG. Physical activity in men and woman with arthritis. National Health Interview Survey, 2002. *Am J Prev Med.* 2006;30:385-393
6. MCALINDON T, Bannuru R, Sullivan M, Arden N, Berenbaum F, Bierma-Zeinstra S, Hawker G, Henrotin Y, Hunter D, Kawaguchi H, Kwoh K, Lohmander S, Rannou F, Roos E, Underwood M, OARSI Guidelines for the Non-Surgical Management of Knee Osteoarthritis, **Osteoarthritis and Cartilage**, v.22, n.3, Mar. 2014.
7. GOBATTO, C. A. et al. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A**, v. 130, n.1, Aug. 2001.
8. OZAKI GAT, Koike TE, Castoldi RC, Garçon AAB, Kodama FY, Watanabe AY, et al. Efeitos da remobilização por meio de exercício físico sobre a densidade óssea de ratos adultos e idosos. **Revista Motriz**; v.10, n.3, 2014. a visit with their rheumatologist. *Physical Therapy*, v. 84, n.8, Ago. 2004
9. GOMES, R. P. **Atividade física no tratamento de artrite induzida por adjuvante de Freund: efeitos na nocicepção, edema e migração celular.** 2008. 107 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade do Estado de Santa Catarina, Florianópolis, 2008. Gomes, R. P. **Atividade física no tratamento de artrite induzida por adjuvante de Freund: efeitos na nocicepção, edema e**

migração celular. 2008. 107 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade do Estado de Santa Catarina, Florianópolis, 2008

10. PRESTES, J. et al. Influência do exercício físico em diferentes intensidades sobre o número de leucócitos, linfócitos e citocinas circulantes. **Revista Brasileira de Medicina**, São Paulo, v. 65, n. 3, Mar. 2008.
11. PRESTES, J. et al. Influência do exercício físico agudo realizado até a exaustão sobre o número de leucócitos e citocinas circulantes. **Fitness Performance Journal**, Rio de Janeiro, v. 6, n. 1, Jan /Fev. 2007.
12. COONEY, J. K. et al. Benefits of exercise in rheumatoid arthritis. **Journal of Aging Research**, New York, v. 2011, feb. 2011.

Tabela 1. Peso Corporal

Tabela 1. Peso corporal

	GCP (n=4)	GCA (n=4)	GB (n=4)	GM (n=4)	GI (n=4)	p-valor ^a
Inicial (gramas)	254,5±26,9	248,5±20,1	266,8±28,0	252,5±19,4	267,3±19,6	0,700
Final (gramas)	293,1±28,3	291,8±33,3	291,0±20,3	276,5±16,7	301,0±31,9	0,708
p-valor^b	0,002*	0,014*	0,019*	0,216	0,058	

Dados expressos em média±desvio padrão

GCP: grupo controle placebo; GCA: grupo controle artrite; GB: grupo atividade física baixa; GM: grupo atividade física moderada; GI: grupo atividade física intensa.

*^a: ANOVA one way com pós teste de Tukey; ^b: teste t student; *p<0,05*

Tabela 2. Diâmetro articular edema inflamatório

Tabela 2. Diâmetro articular do edema inflamatório após indução da artrite antes e após o exercício físico

Semanas (inicial)	GCP (n=4)	GCA (n=4)	GB (n=4)	GM (n=4)	GI (n=4)	p-valor ^a
1 ^a	9,0±0,5	9,1±0,3	9,1±0,2	9,5±0,2	9,2±0,3	0,253
2 ^a	9,0±0,2	9,2±0,2	9,3±0,3	9,2±0,2	9,4±0,4	0,436
3 ^a	9,1±0,4	9,3±0,2	9,1±0,2	9,2±0,3	9,5±0,3	0,384
4 ^a	9,1±0,5	8,9±0,3	9,0±0,2	9,3±0,3	9,2±0,1	0,320
5 ^a	9,0±0,4	9,1±0,2	8,9±0,3	9,2±0,3	9,3±0,2	0,353
p-valor ^b	0,658	0,185	0,246	0,202	0,224	
Média geral (inicial)	9,0±0,4	9,1±0,2	9,1±0,1	9,3±0,3	9,3±0,2	0,377
Semanas (final)	GCP (n=4)	GCA (n=4)	GB (n=4)	GM (n=4)	GI (n=4)	p-valor ^a
1 ^a	NA	NA	8,8(8,6-9,1)	9,1(8,6-9,1)	8,7(7,5-9,2)	0,456
2 ^a	NA	NA	8,8±0,4	9,2±0,4	8,9±0,2	0,414
3 ^a	NA	NA	9,0±0,1	9,1±0,2	9,1±0,2	0,792
4 ^a	NA	NA	9,1±0,2	8,9±0,6	9,2±0,1	0,516
5 ^a	NA	NA	8,7(8,5-9,0)	9,4(8,9-9,6)	9,2(9,0-9,5)	0,063
p-valor ^b	NA	NA	0,320	0,390	0,200	
Média Geral (final)	NA	NA	8,9±0,1	9,1±0,3	9,0±0,3	0,654

Dados expressos em média±desvio padrão e mediana e intervalo interquartilico (25-75%) do diâmetro articular (mm²)

GCP: grupo controle placebo; GCA: grupo controle artrite; GB: grupo atividade física baixa; GM: grupo atividade física moderada;

GI: grupo atividade física intensa; NA: não se aplica

^a: ANOVA one way com pós teste de Tukey; ^b: ANOVA para medidas repetidas com pós teste de Bonferroni; *p<0,05

Figura 1. Delta diâmetro articular

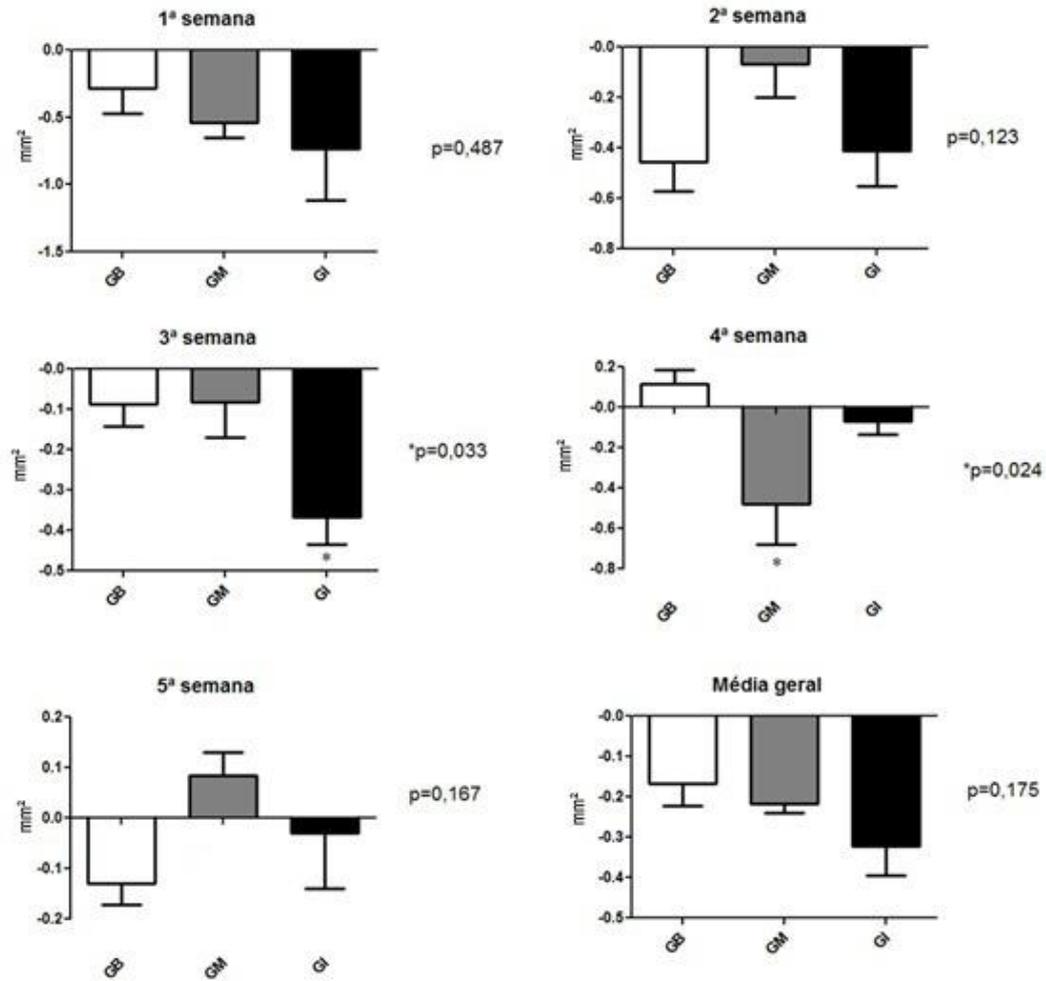


Figura 1. Delta de ganho (final – inicial) do diâmetro articular do edema inflamatório dos grupos que realizaram atividade física. Houve diferença significativa na 3ª semana onde o grupo de alta intensidade GI ($p= 0,033$) apresentou redução do edema inflamatório quando comparado aos grupos GB e GM, e na 4ª semana onde o grupo GM ($p= 0,024$) apresentou diminuição do edema inflamatório quando comparado aos grupos GB e GI

Tabela 3. Inflamação

Tabela 3. Inflamação

	GCP (n=4)	GCA (n=4)	GB (n=4)	GM (n=4)	GI (n=4)	p-valor^a
Segmentados (mm ³)	20,5±3,3	15,0±10,5	14,8±11,2	20,8±8,4	23,0±12,2	0,801
Bastonetes(mm ³)	1,5(0,3-2,0)	1,0(0,3-17,5)	30,(0,8-6,8)	0,5(0,0-6,3)	1,5(0,3-5,0)	0,804
Linfócitos (mm ³)	76,3±3,4	76,5±5,1	79,3±7,9	72,5±14,1	70,8±11,9	0,792
Monócitos (mm ³)	1,0(1,0-1,0)	1,0(1,0-1,0)	0,0(0,0-1,5)	2,0(1,3-5,8)	1,0(1,0-4,8)	0,087
Basófilos (mm ³)	0,0(0,0-0,0)	0,0(0,0-0,0)	0,0(0,0-0,0)	0,0(0,0-1,5)	0,0(0,0-2,3)	0,530
Eosinófilos (mm ³)	1,0(1,0-1,0)	1,0(1,0-1,8)	1,0(1,0-4,0)	0,5(0,0-1,0)	1,0(1,0-1,0)	0,130
Contagem (mm ³)	0,0(0,0-0,0)	2,0(0,0-4,0)	1,0(0,0-2,0)	0,0(0,0-1,5)	0,0(0,0-0,8)	0,410

Dados expressos em média±desvio padrão e mediana e intervalo interquartilico (25-75%).

GCP: grupo controle placebo; GCA: grupo controle artrite; GB: grupo atividade física baixa; GM: grupo atividade física moderada; GI: grupo atividade física intensa; mm³: milímetro cúbico

^a *Kruskal Wallis, *p<0,05*

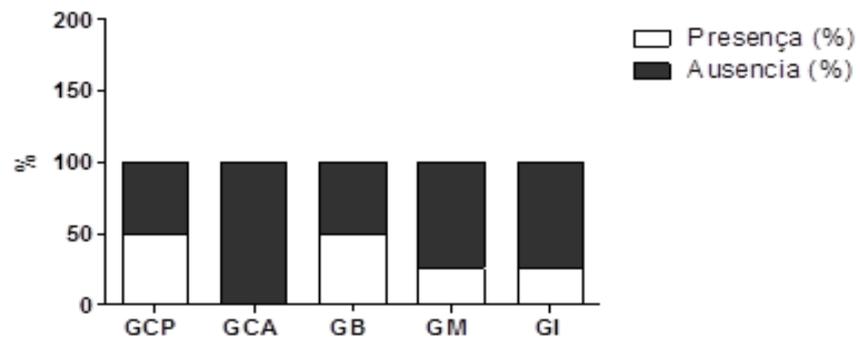
Figura 2. Líquido sinovial

Figura 2: Os grupos GCP, GB, GM e GI não apresentaram diferença significativa na presença de líquido sinovial. O grupo GCA foi caracterizado pela ausência de líquido sinovial. ($p=0,73$)

Figura 3. Imagens histológicas HE

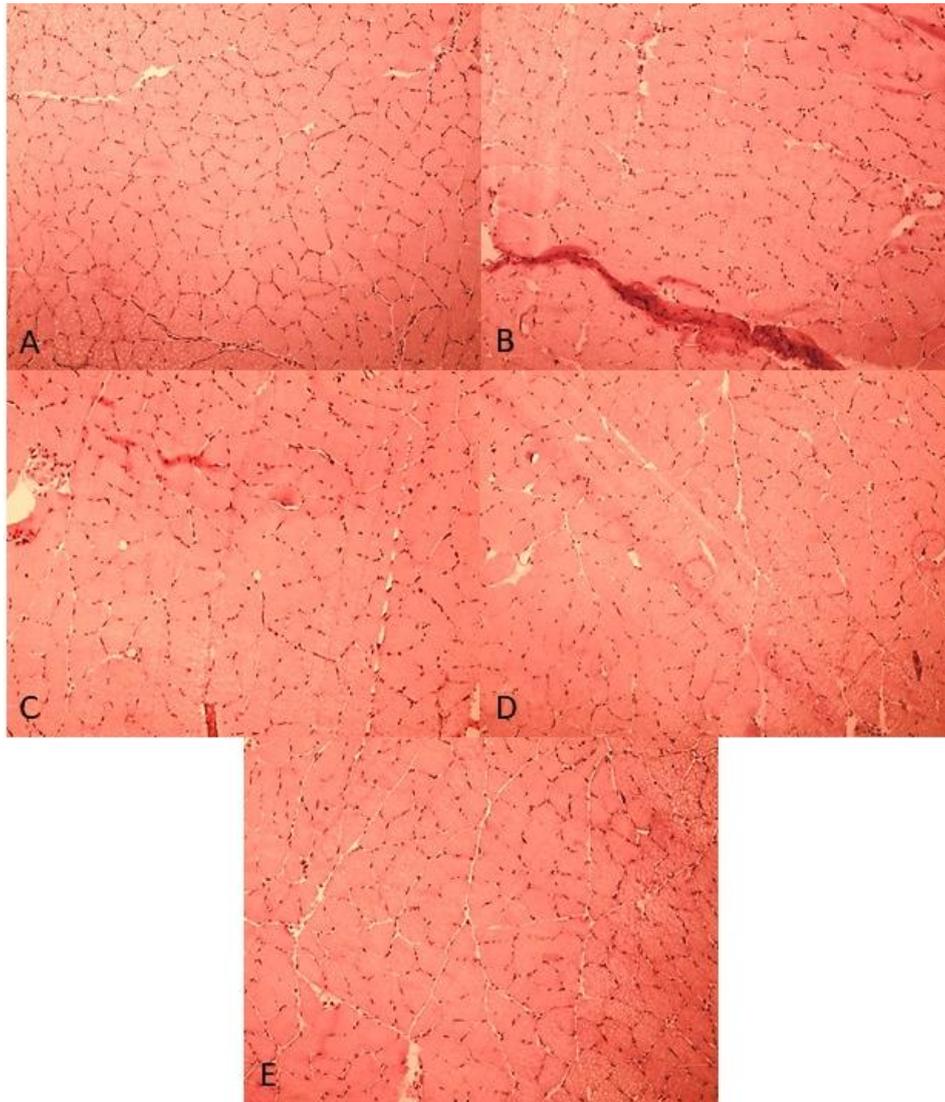


Figura 3.Imagens histológicas de hematoxilina e eosina dos grupos estudados. A= grupo alta intensidade (GI), B= grupo moderada intensidade (GM), C=grupo baixa intensidade (GB), D=grupo controle artrite (GCA), E=grupo controle placebo (GCP). Aumento de 100x

Artigo 2

Efeitos de Diferentes intensidades de natação nas propriedades ósseas da Tíbia e Fêmur de ratos induzidos a Artrite Reumatóide no Joelho.

RESUMO

Introdução: A Artrite Reumatoide (AR) é uma doença desencadeada por fatores ambientais e genéticos. Pesquisas sugerem que o exercício físico apresenta benefícios na melhora do paciente com AR, retardando a incapacidade funcional e melhorando a função das articulações. Estudos in vivo utilizando modelos experimentais de artrite podem fornecer informações úteis sobre estes benefícios.

Objetivo: analisar os efeitos que exercício físico aquático nas intensidades baixa, média e alta provocam nas propriedades dos ossos na artrite induzida em joelhos de ratos. **Materiais e métodos:** 20 ratos machos Wistar com 60 dias de idade foram divididos em 5 grupos: Grupo Controle Artrite (GCA) n= 4, Grupo Controle Placebo (GCP) n=4, Grupo Atividade física baixa (GB) n=4, grupo Atividade Física Moderada (GM) n=4 e grupo Atividade Física Intensa (GI) n=4. Os grupos de atividade física foram submetidos à injeção intra-articular (ia) de 0,05 ml/100g Zymosan (1mg/50µL) no joelho direito. Os animais do grupo controle artrite (GCA) receberam solução salina no joelho direito ao invés do Zymosan, e os animais do grupo controle placebo (GCP) foram submetidos somente ao estresse da agulha. Os animais foram submetidos à atividade aquática durante 30 minutos, 4 vezes na semana, durante 5 semanas, sendo a intensidade do exercício determinada por meio da sobrecarga colocada no dorso de cada animal: GB 1%, GM 5%, GI 15% do peso do rato, no grupo GCA não foi adicionada sobrecarga. Os animais foram eutanasiados após 5 semanas de treinamento. **Resultados:** Observou-se que nos grupos GB e GM houve a diminuição de CMO, comparado ao GI, tanto para o fêmur quanto para a tíbia. No que se refere a área do osso, no grupo GI houve aumento da área tanto para tíbia quanto para o fêmur, quando comparados aos grupos GB e GM. Na DMO, novamente os grupos GB e GM obtiveram uma diminuição quando comparado aos grupos GI, GCA, GCP. No ensaio mecânico, os grupos GB e GM é observado que a força máxima para fraturar os ossos foi menor quando comparado aos grupos GCA, GCP e GI. **Conclusão:** Conclui-se que os exercícios de alta intensidade promovem melhores resultados nas propriedades dos ossos.

Palavras-chave: Artrite Reumatoide, Exercício Físico, Ratos, Fisioterapia, artrite induzida em ratos, ossos.

INTRODUÇÃO

A AR a doença articular inflamatória mais comum afetando em torno de 0,5% a 1% da população, determinando assim um custo social e econômico importante, devido ao grau de debilidade e o aumento da mortalidade decorrente desta doença^{1,2}. AR é uma artrite poliarticular simétrica que afeta sobretudo as pequenas articulações diartrodiais das mãos e dos pés. Além da inflamação que ocorre na membrana sinovial, um exsudado inflamatório chamado pannus invade e destrói as estruturas articulares locais. A membrana sinovial é normalmente uma estrutura relativamente acelular com um revestimento íntimo delicado².

Na AR, células T CD4 +, células B e macrófagos infiltram a membrana sinovial e se organizam em agregados linfóides discretos com centro germinativo³. Conforme a AR evolui, e ocorre a destruição articular, há uma evidente diminuição da mobilidade articular, além de evidências radiológicas de erosões ósseas em um curto período de tempo².

A destruição do tecido ósseo pelos osteoclastos representa um quadro patológico durante a artrite inflamatória e resulta em dor e malformação dos ossos⁵. O envolvimento ósseo na AR inclui a osteopenia justa-articular, e as erosões ósseas. A osteoporose é um achado muito comum em pacientes com AR⁴, acometendo 30% a 50% dos pacientes, tendo como consequência um aumento importante do número de fraturas^{3,6}.

Além da destruição cartilaginosa, as erosões ósseas marginais e subcondrais representam a característica radiográfica da AR e contribuem para a disfunção articular e incapacidade progressiva que ocorrem nestes pacientes⁷.

Por meio do exercício físico aquático, pacientes portadores de AR podem melhorar a aptidão aeróbia, força muscular, mobilidade articular, aptidão funcional e até mesmo o humor, sem danos articulares significativos ou piora no processo inflamatório⁸.

A hidroterapia é um dos recursos mais antigos da fisioterapia, é um recurso muito utilizado no processo de reabilitação especialmente em pacientes reumáticos, por possuir algumas vantagens devido às propriedades físicas e efeitos fisiológicos propiciados pelo meio aquático⁹. A hidroterapia promove reações diferentes daquelas experimentadas em solo, melhorando a circulação periférica, beneficiando o retorno venoso, além de proporcionar um efeito massageador e relaxante, atuando dessa forma nas principais queixas de pacientes com AR. A água oferece suave resistência durante os movimentos e, ainda, a oportunidade de treinamento em várias velocidades. Esses componentes fazem com que o exercício aquático seja um excelente método para aumento da resistência e força muscular¹⁰.

A extensão desses efeitos varia com temperatura da água, duração do tratamento e do tipo e intensidade dos exercícios¹¹. Porém, ainda não existe consenso quanto ao melhor tipo de exercício físico, intensidade, frequência, duração, bem como o impacto de diferentes protocolos de exercícios na capacidade funcional dos pacientes¹².

Por ser uma doença crônica, a AR interfere diretamente na qualidade de vida incluindo aspectos físicos, psicológicos e sociais; é tradicionalmente considerada a doença de maior impacto em todos os aspectos de qualidade de vida.

O Objetivo desse estudo foi avaliar as alterações que as diferentes intensidades do exercício físico podem causar no tecido ósseo na AR induzida no joelho de ratos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Delineamento Experimental

Os animais foram subdivididos em cinco grupos (controle artrite, controle sedentário, exercício intensidade baixa, exercício intensidade moderada, exercício intensidade alta), para a aplicação dos respectivos protocolos de treinamento. Ao final dos respectivos protocolos, os animais foram eutanasiados para coleta do material a

ser analisado

Animais

Foram obtidos junto ao Biotério Central da Unoeste de Presidente Prudente 20 ratos machos Wistar com 60 dias de idade, mantidos em gaiolas plásticas coletivas. Estes animais permaneceram em grupos de três a cinco animais por gaiola, do Departamento de Biomedicina da Unoeste de Presidente Prudente, sob temperatura média de $20\pm 1^{\circ}\text{C}$ e ciclo claro/escuro de 12 horas, com acesso livre a água e ração.

Este trabalho seguiu os princípios da pesquisa com animais e foi aprovado pelo comitê de ética para uso de animais da Unoeste sob o protocolo de número 2358.

Indução Artrite

Para a indução da artrite, inicialmente os ratos foram anestesiados com Ketamina intraperitoneal, com dosagem de acordo com o peso do animal (0,1 a 1,5 microlitros de ketamina por grama de peso). Após a anestesia o animal foi submetido à injeção intra-articular (ia) de 0,05 ml/100g Zymosan (1mg/50µL) no joelho direito¹⁸. Os animais do grupo controle artrite (GCA) receberam solução salina no joelho direito ao invés do Zymosan, e os animais do grupo controle placebo (GCP) foram submetidos somente ao estresse da agulha.

Modelo de treinamento

Para avaliar o efeito do exercício físico os animais foram submetidos à atividade aquática. Os animais foram inicialmente submetidos à atividade aquática em tanque coletivo contendo 15 cm de profundidade durante 10 minutos, para acostumar os animais a tentarem manter-se na superfície. Após a espera de 15 minutos os animais foram submetidos à atividade aquática em um tanque coletivo com 40 cm de profundidade durante 30 minutos, onde a sobrecarga foi atada ao dorso, através de coletes¹⁸. A intensidade do exercício para os grupos de atividade física baixa (GB), moderada (GM) e intensa (GI) foi avaliada adicionando sobrecarga nos ratos de cada grupo. No grupo GB foi adicionado sobrecarga de 1%, no grupo GM foi adicionada uma sobrecarga de 5% do peso do rato e para o grupo GI foram adicionados 15% do peso do rato e no grupo controle artrite não foi adicionada sobrecarga. O protocolo de treinamento foi repetido 4 vezes por semana durante 5 semanas.

Procedimento cirúrgico

Os animais foram submetidos à eutanásia ao final da quinta semana por meio de superdosagem da associação de cloridrato de ketamina e cloridrato de xilazina via intraperitoneal, seguindo os princípios éticos em pesquisa animal. Após a eutanásia, a tíbia e o fêmur direito foram removidos por meio de incisão longitudinal com remoção da pele e de partes moles, deixando os ossos sem revestimento dos tecidos à temperatura de -20° C para posterior realização da análise da densitometria óssea e ensaio mecânico de flexão em três pontos¹¹.

Ensaio Mecânico e Densitometria

Os As tíbias e fêmures armazenados foram submetidas à análise de densitometria em aparelho densímetro de dupla emissão de raios-X (DXA), modelo DPX-Alpha, Lunar Corporation®, Madison, Wis, pertencente à Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, utilizando-se um software especial desenvolvido para pequenos animais¹³. Os ossos foram submersos num recipiente de plástico contendo 2 cm de profundidade de água para simular tecido mole (in vivo). Os terços médios da tíbia e do fêmur foram delimitados pelo aparelho, sendo essa área percorrida pelo DXA (5 cm x 4 cm). O laser do densímetro foi ajustado acima do centro do osso onde se iniciou a captura da imagem. Após a captura das imagens os ossos foram analisados utilizando-se a ferramenta de análise manual. A área desejada para análise foi delimitada na região do terço médio da diáfise da tíbia e fêmur e esta foi contornada para obtenção dos valores de conteúdo mineral ósseo e densidade mineral óssea.

O ensaio mecânico de flexão a três pontos em cada tíbia foi realizado por meio de uma máquina universal de ensaios mecânicos EMIC® 2000, que pertence a Faculdade de Odontologia de Araçatuba /UNESP, dotada de célula de carga de 50

kgf ajustada para a escala de 20 kgf. O dispositivo para ensaio de flexão a três pontos é constituído por dois apoios com perfil circular de 3.5 mm de diâmetro situados na base da máquina e equidistantes 20 mm e um atuador ou cutelo posicionado entre os apoios, com a mesma forma e dimensão dos apoios, acoplado à parte móvel da máquina de ensaio por meio de célula de carga.

A tibia foi posicionada de forma que o ponto de referência medido ficasse alinhado com o atuador, com velocidade de descida de 5 milímetros/minuto. O osso foi ajustado de tal forma a não se deslocar durante o ensaio, tendo uma pré-carga inicial nula. O ensaio prosseguiu, sendo que as cargas aplicadas foram monitoradas até o momento onde houve a ruptura do tecido ósseo. A partir de então foram obtidos valores de força máxima e deformação. Os parâmetros analisados foram força máxima necessária para provocar a fratura óssea¹⁴.

Análise dos dados

A análise descritiva foi expressa em média e desvio padrão ou mediana e intervalo interquartilício dependendo da normalidade dos dados testado pelo teste de Shapiro-Wilk.

A comparação entre os grupos foi realizada pelo teste de ANOVA one way com pós teste de Tukey ou teste de Kruskal-Wallis com pós teste de Dunn. Para a comparação entre os momentos inicial e final do peso foi aplicado teste t student para amostras dependentes. Para todos os testes foi utilizado o programa estatístico SPSS 22.0 e o nível de significância adotado foi de 95% ($p < 0,05$).

RESULTADOS

Foram A Tabela 1 demonstra os dados de peso corporal dos animais, onde não foi observado diferença significativa entre os quatro grupos. Porém, ao final do experimento, os animais dos grupos GCP, GCA, GB apresentaram aumento do peso corporal.

#Inserir Tabela 1#

Com relação a densidade óssea da tíbia após a atividade física, o GM apresentou diminuição da CMO comparado com o GCP e diminuição da DMO comparado com o GCP, GCA e GB. Já para a densidade óssea do fêmur houve aumento significativo da área no GI comparado com o GB e GM (Figura 1).

Inserir Figura 1

Quando observado o valores de média e desvio padrão para o ensaio mecânico de flexão de 3 pontos na Tíbia dos animais (Figura 2), encontramos uma diminuição significativa dos valores de Força Máxima dos grupos GB ($58,99 \pm 11$; $p=0,043$) e GM ($60,49 \pm 9$; $p=0,027$) em relação ao grupo GCP ($82,5 \pm 5$). Entre os demais grupos não houve diferenças significantes.

Inserir Figura 2

DISCUSSÃO

Os principais objetivos desse estudo foram de avaliar as alterações que diferentes intensidades do exercício físico podem causar na tíbia e fêmur de ratos submetidos a indução da artrite com Zymozan no joelho.

Observou-se que nos grupos GB e GM houve a diminuição de CMO, comparado ao GI, tanto para o fêmur quanto para a tíbia. No que se refere a área do osso, no grupo GI houve aumento da área tanto para tíbia quanto para o fêmur, quando comparados aos grupos GB e GM. Na DMO, novamente os grupos GB e GM obtiveram uma diminuição quando comparado aos grupos GI, GCA, GCP. No ensaio mecânico, os grupos GB e GM é observado que a força máxima para fraturar os ossos foi menor quando comparado aos grupos, GCP.

O número de estudos conduzidos com o intuito de verificar os efeitos do EF no tratamento de pacientes com AR vem crescendo na última década. Esses estudos indicam que a prática de EF é indispensável²⁰. Ainda hoje não existe um protocolo de EF padrão no tratamento da AR. No entanto, na tentativa de alcançar o alívio para a dor causada por esta doença articular, muitas vezes os portadores de AR optam por assumir a inatividade física a maior parte do tempo. Tal fato é extremamente prejudicial quando mantido além da fase aguda da doença uma vez que pode predispor a mais lesões articulares devido à diminuição na produção do líquido sinovial associada à imobilização prolongada e diminuição da massa óssea.¹⁵

A hidroterapia é um recurso muito utilizado no processo de reabilitação em pacientes reumáticos, por possuir algumas vantagens devido às propriedades físicas e efeitos fisiológicos propiciados pelo meio aquático¹⁶. É frequentemente recomendada para pacientes com artrite, pois proporciona uma benefícios incluindo redução de edema, dor e da sobrecarga sobre as articulações já lesionadas¹⁶.

Em um estudo, foram selecionados 115 pacientes com AR e submetidos a uma sessão semanal de 30 minutos de hidroterapia ou exercícios em solo (caminhada) durante seis semanas. Ao comparar os efeitos de exercícios físicos

realizados por pacientes com AR na água e no solo chegou-se à conclusão que imediatamente após o treinamento realizado na água os indivíduos pesquisados relataram melhora na percepção subjetiva da dor de forma mais expressiva do que aqueles que realizaram exercícios fora d'água¹⁵.

Foram realizados alguns estudos que compararam os efeitos dos exercícios realizados no solo e na água, e resultados positivos foram encontrados para ambas as categorias. Porém esses resultados são referentes a dor, equilíbrio, força muscular¹⁵. Acerca da saúde óssea do paciente portador de AR nada foi encontrado na literatura.

Baseado nesse estudo pode-se afirmar que os exercícios aquáticos de baixa intensidade diminuem a densidade óssea sendo assim prejudicial para um paciente que apresenta inatividade física seja por dor ou por medo de agravar o quadro da doença.

Contudo pode-se notar que o exercício de alta intensidade não diminuiu a força necessária para que houvesse fratura dos osso dos de ratos com artrite quando comparado as intensidades inferiores. Sendo assim um exercício viável já que une os benefícios da hidroterapia com a não diminuição da força contra fraturas.

Por fim a proposta desse estudo foi analisar as diferentes intensidades do exercício físico na artrite induzida em ratos e demonstrar qual intensidade traria alterações (boas ou ruins). Embora o estudo não tenha encontrado nenhuma melhora nas características ósseas de ratos com artrite, pode-se concluir que o exercício físico de alta intensidade obteve melhores resultados em impedir uma diminuição força necessária para fraturar o osso.

O estudo apresenta limitações quanto ao processo de artrite induzido não ser tão intenso quanto um processo de artrite natural que leva maior tempo para se estabelecer e afetar as demais estruturas em torno da articulação, o que torna difícil a inferência dos seus efeitos em humanos.

CONCLUSÃO

Pode-se concluir que o exercício físico de alta intensidade praticado em meio aquático pode impedir a perda de força óssea causada pela ausência de gravidade encontrada na água em ratos com Artrite Reumatoide induzida no joelho.

REFERÊNCIAS

1. DIEPPE, Paul; *Epidemiology of the Rheumatic Diseases Second Edition*, **International Journal of Epidemiology**, v. 31, n. 5, out. 2002,
2. SUZUKI A, Ohosone Y, Obana M, et al: Cause of death in 81 autopsied patients with RA, **J Rheumatology**, v. 21, n.1, jan. 1994.
3. SULKAVA R: Three fold increased risk of hip fractures with rheumatoid arthritis in central Finland. **Annals Rheumatic Disiases**, v.60, n.5, maio. 2001.
4. FIRESTEIN GS. Evolving concepts of rheumatoid arthritis. **Nature**, v. 423; n. 356, maio. 2003.
5. SEELING, M. et al. Inflammatory monocytes and Fcy receptor IV on osteoclasts are critical for bone destruction during inflammatory arthritis in mice. **Proceedings of the National Academy of Sciences of The USA**, v.110, n.26, jun. 2013.
6. HOOYMAN JR.; Neiton LJ, Nelson AM, O'Fallon WM, Rigs BL: Fractures after rheumatoid arthritis. A population-based study. **Arthritis and Rheumatism**, v.27, n. 12, dez.1984.
7. PEREIRA, Ivânio Alves; PEREIRA, Rosa Maria Rodrigues. Osteoporose e erosões osseas focais na artrite reumatóide: da patogênese ao tratamento. **Revista Brasileira de Reumatologia**, São Paulo, v. 44, n. 5, Out. 2004.
8. JONG Z, Vliet Vlieland TPM. Safely of exercise in patients with rheumatoid arthritis. **Current Opinion in Rheumatology** v.17, n. 2, Mar. 2005.
9. CAROMANO FA, Nowotny JP. Princípios físicos que fundamentam a hidroterapia. **Fisioterapia Brasil**, v.3, n. 6, Dez. 2002.
10. BILBERG A, Ahlme'n M, Mannerkorpi K. Moderately intensive exercise in a temperate pool for patients with rheumatoid arthritis: a randomized controlled study. **Rheumatology**, v. 44, n.4, Abr. 2005.
11. SACCHELLI T, Accacio LMP, Radl ALM, Monteiro CG, Gava MV. **Fisioterapia aquática**. São Paulo: Manole; 2007. 350p.

12. KÜLKAMP W, Dario AB , Gevaerd MS, Domenech SC. Artrite reumatoide e exercício físico: resgate histórico e cenário atual. **Revista Brasileira de Atividade Física & Saúde** 2009; v.14, n.1, 2008.
13. GOMES, R.P. et al. Evidence that a physical activity protocol can reduce synovial leukocyte count in arthritic rats. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte, Florianópolis**, v. 19, n. 1, jan/fev. 2013.
14. NONOSE, N. et al. Oral administration of curcumim (Curcuma longa) can attenuate the neutrophil inflammatory response in zymosan-induced arthritis in rats. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 29, n. 11, Nov. 2014
15. BERTOLINI, S. M. M. G. et al. Resposta das estruturas articulares do joelho de ratos pós-imobilização. **Revista Ciência e Saúde**, Brasília, v. 2, n. 1, Jan. /Jun. 2009.
16. MATTOS F, Leite N, Pitta A, Bento PC. Effects of aquatic exercise on muscle strength and functional performance of individuals with osteoarthritis: a systematic review. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v.56, n. 6, Nov. 2016.

Tabela 1. Peso Corporal**Tabela 1.** Peso corporal

	GCP (n=4)	GCA (n=4)	GB (n=4)	GM (n=4)	GI (n=4)	p-valor^a
Inicial (gramas)	254,5±26,9	248,5±20,1	266,8±28,0	252,5±19,4	267,3±19,6	0,700
Final (gramas)	293,1±28,3	291,8±33,3	291,0±20,3	276,5±16,7	301,0±31,9	0,708
p-valor^b	0,002*	0,014*	0,019*	0,216	0,058	

Dados expressos em média±desvio padrão

GCP: grupo controle placebo; GCA: grupo controle artrite; GB: grupo atividade física baixa; GM: grupo atividade física moderada; GI: grupo atividade física intensa

*^a: ANOVA one way com pós teste de Tukey; ^b: teste t student; *p<0,05*

Figura 1. Diferença das densidades ósseas

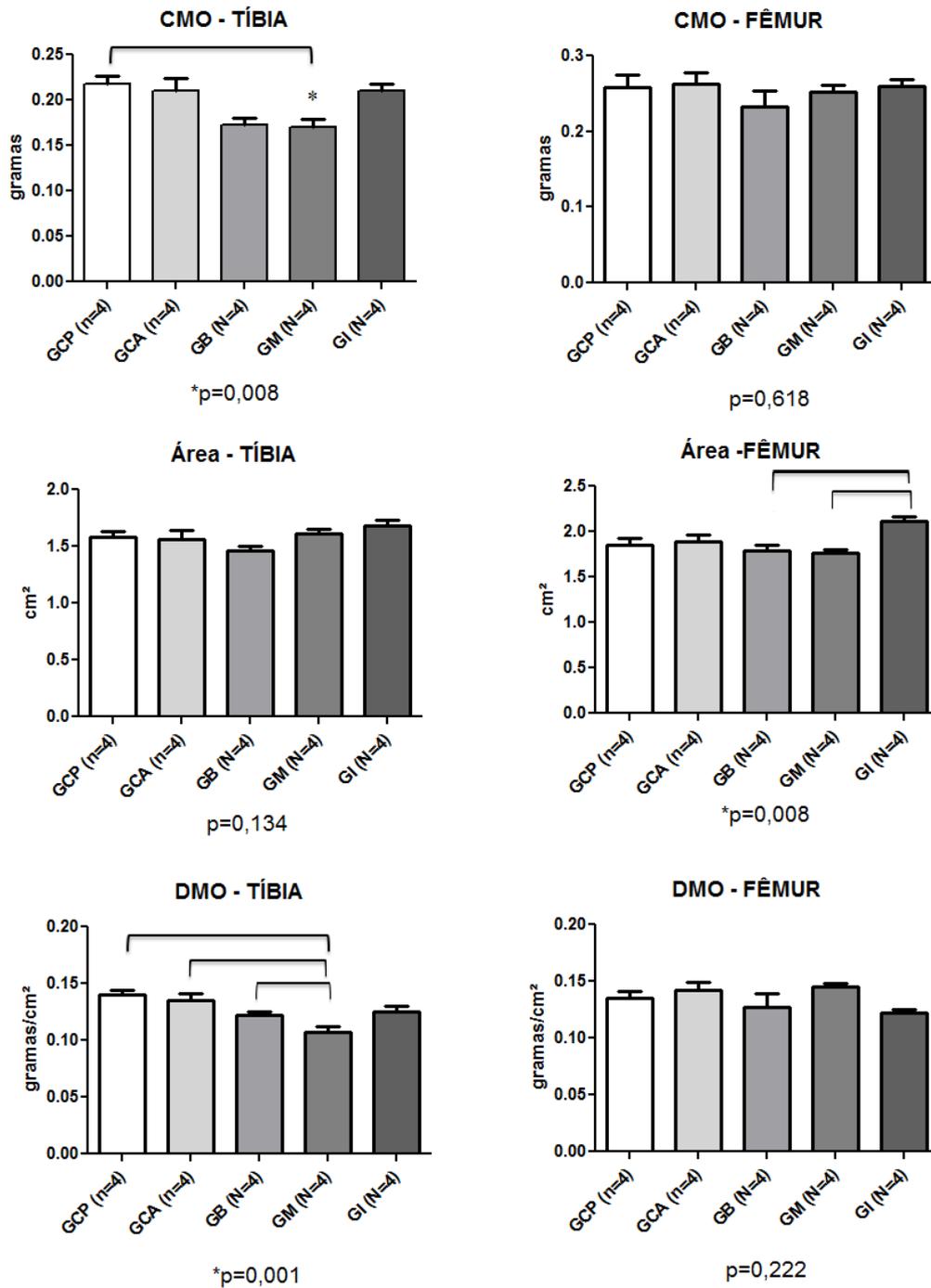


Figura 1. Diferença da densidade óssea entre os grupos (CMO – TÍBIA: GM diferente de GCP ($p=0,026$) / DMO - TÍBIA: GM diferente de GCP ($p=0,001$), GCA ($p=0,002$), GB ($p=0,026$) / Área – FÊMUR: GI diferente de GB ($p=0,014$) e GM ($p=0,008$); $*p<0,05$)

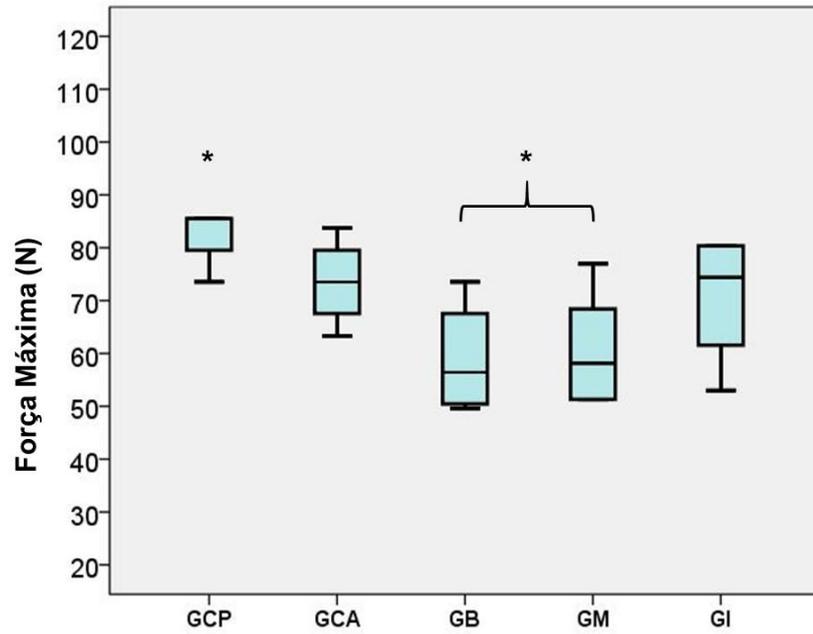
Figura 2. Força Máxima

Figura 2. Boxplot dos valores encontrados de para Força Máxima necessária para fraturar a tíbia dos animais apresentados em Newtons (N). * Demonstra a diferença estatística dos grupos GB e GM que forma significativamente ($p < 0,05$), menores que o grupo GCP.

Conclusões

Conclui-se, a partir dos achados que:

- I. Exercício de moderada e alta intensidade promoveram uma diminuição do edema inflamatório em relação a ausência de exercício físico na artrite reumatoide nos joelhos de ratos.
- II. Exercício físico de alta intensidade praticado em meio aquático pode impedir a perda de força óssea causada pela ausência de gravidade encontrada na água em ratos com Artrite Reumatoide induzida no joelho

Referências

1. FIRESTEIN, G.S., and N.J. Zvaifler. **Rheumatoid arthritis: a disease of disordered immunity. In Inflammation: Basic Principles and Clinical Correlates**, 2nd ed. Raven Press, Ltd., New York. 1992.
2. FELDMANN M., Brennan F.M., Maini R.N. Role of cytokines in rheumatoid arthritis. **Annual Review of Immunology**, v.14, Abril 1996.
3. LAURINDO IMM, Pinheiro GRC, Ximenes AC, Bertolo MB, Xavier RM, Giorgi RDN et. al. Consenso Brasileiro para o Diagnóstico e Tratamento da Artrite Reumatoide. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v.44, n.6, 2006.
4. VLIELAND TPM. Rehabilitation of people with rheumatoid arthritis. **Best Practice & Research Clinical Rheumatology**, v.17, n.5, Out. 2003.
5. BENHAMOU M-AM. Reconditioning in patients with rheumatoid arthritis. **Annales Readaptation Medicine Physique**, v.50, n.6, Jul.2007
6. IVERSEN MD. Physical therapy for older adults with arthritis: what is recommended? **International Journal of Clinical Rheumatology**, v.5, n.1, Jul. 2010
7. ABELL JI, Hootmann JM, Zack MM, Moriarty D, Helmick CG. Physical activity and health related quality of life among people with arthritis. **Journal of Epidemiology and Community Health**, v.59, n.5, Maio 2005.
8. LEANDRO, C.G. et al. Exercício físico e sistema imunológico: mecanismos e integrações. **Revista Portuguesa de Ciências do Desporto**, v.2, n.2, 2002.
9. ANTUNES, H.K.M. et al. Exercício físico e função cognitiva: uma revisão. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, São Paulo, v. 12, n. 2, mar/abr. 2006.
10. ROSSATO, J.S. **Papel do sistema nervoso simpático sobre o metabolismo e na resposta imunológica de monócitos circulantes de ratos durante o exercício agudo de intensidade moderada (natação)**. 2009. Dissertação/ (Mestrado em Ciências do Movimento Humano) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

11. MARQUES-NETO JF, et al. Multicentric study of the prevalence of adult rheumatoid arthritis in Brazilian population samples. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v.33, 1993
12. GOMES, R. P. **Atividade física no tratamento de artrite induzida por adjuvante de Freund: efeitos na nocicepção, edema e migração celular**. 2008. 107 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade do Estado de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.
13. PRESTES, J. et al. Influência do exercício físico em diferentes intensidades sobre o número de leucócitos, linfócitos e citocinas circulantes. **Revista Brasileira de Medicina**, São Paulo, v. 65, n. 3, mar. 2008.
14. PRESTES, J. et al. Influência do exercício físico agudo realizado até a exaustão sobre o número de leucócitos e citocinas circulantes. **Fitness Performance Journal**, Rio de Janeiro, v. 6, n. 1, jan./fev. 2007.
15. COONEY, J. K. et al. Benefits of exercise in rheumatoid arthritis. **Journal of Aging Research**, New York, v. 2011, feb. 2011.
16. GOBATTO, C. A. et al. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A**, v. 130, n.1, aug. 2001.
17. MCALINDON T, et al. Guidelines for the Non-Surgical Management of Knee Osteoarthritis, **Osteoarthritis and Cartilage**, v.22, n.3, Mar. DIEPPE, Paul; Epidemiology of the Rheumatic Diseases Second Edition, International Journal of Epidemiology, v. 31, n. 5, out. 2002,
18. SUZUKI A, Ohosone Y, Obana M, et al: Cause of death in 81 autopsied patients with RA, **Journal of Rheumatology**, v. 21, n.1, jan. 1994.
19. SULKAVA R: Three fold increased risk of hip fractures with rheumatoid arthritis in central Finland. **Annals Rheumatic Diseases**, v.60, n.5, maio. 2001.
20. FIRESTEIN GS. Evolving concepts of rheumatoid arthritis. **Nature**, v. 423; n. 356, maio. 2003.

21. SEELING, M. et al. Inflammatory monocytes and Fc γ receptor IV on osteoclasts are critical for bone destruction during inflammatory arthritis in mice. **Proceedings of the National Academy of Sciences of The USA**, v.110, n.26, jun. 2013.
22. HOOYMAN JR.; Neiton LJ, Nelson AM, O'Fallon WM, Rigs BL: Fractures after rheumatoid arthritis. A population-based study. **Arthritis and Rheumatism**, v.27, n. 12, dez.1984.
23. PEREIRA, Ivânio Alves; PEREIRA, Rosa Maria Rodrigues. Osteoporose e erosões osseas focais na artrite reumatóide: da patogênese ao tratamento. **Revista Brasileira de Reumatologia**, São Paulo, v. 44, n. 5, Out. 2004.
24. FERREIRA, Luis Roberto Fernandes et al. Efeitos da reabilitação aquática na sintomatologia e qualidade de vida de portadoras de artrite reumatóide. **Fisioterapia e Pesquisa**, São Paulo, v. 15, n. 2, 2008.
25. IVERSEN MD, Fossel AH, Ayers K, Palmsten A, Wang HW, Daltroy LH. Predictors of exercise behavior in patients with rheumatoid arthritis 6 months following a visit with their rheumatologist. **Physical Therapy**, v. 84, n.8, Ago. 2004.
26. ALBERS JM, Paimela L, Kurki P, et al. Treatment strategy, disease activity, and outcome in four cohorts of patients with early rheumatoid arthritis. **Annals Rheumatic Diseases**, v. 60, n. 5, Maio. 2001.
27. JONG Z, Vliet Vlieland TPM. Safety of exercise in patients with rheumatoid arthritis. **Current Opinion in Rheumatology** v.17, n. 2, Mar. 2005.
28. CAROMANO FA, Nowotny JP. Princípios físicos que fundamentam a hidroterapia. **Fisioterapia Brasil**, v.3, n. 6, Dez. 2002.
29. BILBERG A, Ahlme'n M, Mannerkorpi K. Moderately intensive exercise in a temperate pool for patients with rheumatoid arthritis: a randomized controlled study. **Rheumatology**, v. 44, n.4, Abr. 2005.

30. KÜLKAMP W, Dario AB , Gevaerd MS, Domenech SC. Artrite reumatoide e exercício físico: resgate histórico e cenário atual. **Revista Brasileira de Atividade Física & Saúde** 2009; v.14, n.1, 2008.
31. GOMES, R.P. et al. Evidence that a physical activity protocol can reduce synovial leukocyte count in arthritic rats. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, Florianópolis, v. 19, n. 1, jan/fev. 2013.
32. NONOSE, N. et al. Oral administration of curcumim (Curcuma longa) can attenuate the neutrophil inflammatory response in zymosan-induced arthritis in rats. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 29, n. 11, Nov. 2014.
33. BERTOLINI, S. M. M. G. et al. Resposta das estruturas articulares do joelho de ratos pós-imobilização. **Revista Ciência e Saúde**, Brasília, v. 2, n. 1, Jan. /Jun. 2009.
34. MATTOS F, Leite N, Pitta A, Bento PC. Effects of aquatic exercise on muscle strength and functional performance of individuals with osteoarthritis: a systematic review. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v.56, n. 6, Nov. 2016

