



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM**  
**FISIOTERAPIA**

**FORTALECIMENTO MUSCULAR NA OSTEOARTRITE DE**  
**JOELHO DE RATOS: IMPLICAÇÕES LOCAIS E SISTÊMICAS**

**FERNANDO AUGUSTO VASILCEAC**

**São Carlos**  
**2014**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM**  
**FISIOTERAPIA**

**FORTALECIMENTO MUSCULAR NA OSTEOARTRITE DE**  
**JOELHO DE RATOS: IMPLICAÇÕES LOCAIS E SISTÊMICAS**

**FERNANDO AUGUSTO VASILCEAC**

Tese de Doutorado apresentada a Coordenação do Programa de Pós-graduação em Fisioterapia da UFSCar - PPG-Ft, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Fisioterapia.

Área de Concentração: Processos de Avaliação e Intervenção em Fisioterapia.

***Orientadora: Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Stela Márcia Mattiello***

**São Carlos**  
**2014**

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da  
Biblioteca Comunitária/UFSCar**

V334fm

Vasilceac, Fernando Augusto.

Fortalecimento muscular na osteoartrite de joelho de ratos : implicações locais e sistêmicas / Fernando Augusto Vasilceac. -- São Carlos : UFSCar, 2014.  
99 f.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2014.

1. Fisioterapia. 2. Osteoartrite. 3. Exercícios físicos. 4. Fortalecimento muscular. 5. Envelhecimento. I. Título.

CDD: 615.82 (20<sup>a</sup>)

FOLHA DE APROVAÇÃO

Membros da Banca Examinadora para Defesa de Tese de Doutorado de Fernando Augusto Vasilceac, apresentada ao programa de Pós-Graduação em Fisioterapia da Universidade Federal de São Carlos, em 22 de Janeiro de 2014.

Banca Examinadora



Profa. Dra. Stela Márcia Mattiello

(UFSCar)



Prof. Dr. Thiago Luiz de Russo

(UFSCar)



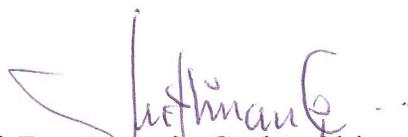
Prof. Dr. Cleiton Augusto Libardi

(UFSCar)



Profa. Dra. Alexandra Ivo de Medeiros

(UNESP)



Prof. Dr. Antonio Carlos Shimano

(USP-RP)

## ***DEDICATÓRIA***

***Dedico minha Tese de Doutorado aos “doutores” de  
minha vida, a minha noiva e meus pais. A autoria  
dessa Tese é mérito de vocês, que sempre me  
impulsionaram na minha formação acadêmica, na  
minha vida profissional e pessoal. Nós plantamos essa  
semente juntos e estamos colhendo o fruto juntos.  
Estarei empenhado para que sempre fiquemos juntos  
ao longo de nossas vidas. Amo muito vocês!***

## AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

*Agradeço primeiramente a **DEUS!** Sou muito abençoado por ter **ELE** presente em minha vida. Com minha fé tive mais força e segurança para enfrentar os desafios dessa Tese.*

*Agradeço a futura esposa, **Mirela**, por sua forte presença em minha vida. Sua cumplicidade, carinho, muito amor e também muita paciência foram fundamentais no desenvolvimento dessa Tese. Saiba que apesar de alguns momentos ter que ficar longe de você, meu coração sempre esteve preenchido com sua presença, fazendo do nosso encontro o melhor momento após um dia de trabalho. Você foi à pessoa que mais dividiu comigo as dificuldades e obstáculos da Pós-Graduação. Em todo momento, você me escutava e me apoiava independente da situação, se tinha que trabalhar à noite, em feriados ou final de semana. Com você, a confecção dessa Tese ficou mais leve e mais fácil. Sem sua presença não seria possível o desenvolvimento desse trabalho, pois você é fundamental para toda minha vida. Em especial, nesse período final do Doutorado, dividimos muitos momentos referentes à preparação do nosso casamento e a construção de nossa casa. Você está proporcionando a melhor fase de minha vida. Agradeço por me escolher para ser seu companheiro por toda vida. Amo muito você! Obrigado!*

*Agradeço aos meus pais, **Claudemir** e **Benedita**, que pela simplicidade e espontaneidade característica, serem “os pais”. O apoio, parceria e amor incondicional que dedicaram a mim são maravilhosos. Também estamos numa fase de nossas vidas muito especial, e poder contar com a parceria de vocês nesse momento é muito bom. Estamos construindo um sonho juntos, e a participação de vocês está sendo fundamental e inesquecível. Meu pai é minha referência de persistência e honestidade. Como me disse uma vez “na vida, se você tem um sonho, uma meta, busque-a, insista. Você irá alcançá-la”. Faço dessas palavras à força motriz de minhas atividades, como foi esse Doutorado. Minha mãe é a minha referência de amor e dedicação. Convivi com você amando e se dedicando a tudo, principalmente aos cuidados referentes à família. Utilizei de seu exemplo para dedicar-se a essa Tese de forma completa e verdadeira. Por fim, destaco que se alcancei meus objetivos, foi porque tive os melhores “doutores*

*da vida” que poderia ter. A autoria dessa Tese é de vocês. Obrigado por tudo que me proporcionam. Vocês são maravilhosos. Amos vocês. Obrigado!*

*Agradeço a meu irmão, **Fábio**, que sempre foi e sempre será minha inspiração com meus estudos. Você completa o elo de nossa família. Tenho muito orgulho de seu desenvolvimento pessoal e profissional. Um grande exemplo para mim. Seu apoio e suas palavras de confiança são muito importantes. Meu irmão é minha referência de que a dedicação aos estudos reflete na satisfação profissional e pessoal. Obrigado mesmo!*

*Agradeço **Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Stela Márcia Mattiello**, minha orientadora. Com a conclusão dessa Tese posso afirmar que sempre quando pensar em algo relacionado a “orientador”, sempre terei uma única referência, você. Você sempre será minha orientadora e eu seu aluno. Creio que se atualmente tenho formação para atuar no ensino, na pesquisa e na extensão, essa habilidade é totalmente seu mérito. Sua forma diferenciada de orientar proporciona uma segurança para o aluno caminhar que é indescritível. Você impulsionou e potencializou minhas qualidades de uma forma muito natural. Você me fez crescer profissionalmente, porém sempre com orientação e apoio. Nessa caminhada com você aprendi que uma orientação deve ser pautada em vários princípios, dentro os quais destaco a confiança entre alunos e orientador. A confiança que você depositou em mim na condução dessa Tese é muito gratificante, pois reflete na consideração e respeito sobre minha atuação. Você demonstrou inúmeras vezes reconhecimento sobre meu desempenho na Pós-Graduação. É muito importante para o aluno esse tipo de relação. Independente dos indicadores da CAPES, do Programa ou de qualquer órgão, você é a melhor orientadora que eu poderia ter! É maravilhoso poder olhar lá atrás, quando iniciei minha caminhada na pesquisa, e reconhecer que fiz a escolha certa e que melhor acolhida que a sua eu não poderia ter. Por fim também enalteço que o aprendizado com você extrapola os limites da Pós-Graduação e avança nas relações pessoais e familiares, aspectos mais importantes de nossas vidas. A presença de sua família em sua vida, com destaque para seus filhos e seus pais, me ensinou que tenho que aprender a conciliar a vida profissional e pessoal, e que nossa família está sempre em primeiro lugar. Sua dedicação com seus filhos e seus pais é*

*imensurável, muito bonito e extremamente gratificante de compartilhar. Com certeza, esse foi um dos maiores aprendizados que tive com você. Obrigado por tudo!*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço aos **membros da minha banca**, por aceitarem o convite de participarem desse momento de extrema importância para mim e contribuírem com minha formação profissional. Obrigado pela dedicação e colaboração.

Agradeço a **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)** pela bolsa de Doutorado concedida.

Agradeço aos companheiros de pesquisa, membros do Laboratório de Análise da Função Articular (LAFAR), **Paula, Gisele, Luiz Fernando, Walter, Marina e Gláucia e todos os colegas e amigos que fizeram parte desse grupo de pesquisa**. É muito bom poder contar com o apoio de um grupo de pesquisa. Convivi com diferentes colegas em diferentes fases do grupo e posso dizer que sempre aprendi com todos e sempre tive ajuda e apoio do grupo. Sentirei muitas saudades das conversas, das reuniões, do cafezinho e principalmente da amizade construída. Obrigado a todos!

Agradeço a **Marina e Gláucia**, pelo apoio e disposição em ajudar sempre. É muito bom ver a renovação de um grupo com pessoas como vocês.

Agradeço aos parceiros, **Walter e Luiz Fernando**. Grande **Walter**, em pouco tempo conquistou uma parceria imensa. Sua disponibilidade para ajudar sempre, parando o que estava fazendo para ajudar, é gratificante. O que estava ao seu alcance, você fazia. Espero que o melhor esteja reservado a você. Obrigado pelo apoio e ajuda sempre! **Luiz Fernando**, parceiro da velha guarda. Com certeza trabalharia fácil com você independente do local, pois nos entendemos muito bem. Ao longo desses anos juntos destaco seu crescimento profissional e pessoal. É uma satisfação e um prazer ter sua parceria e amizade. Seu apoio e suas palavras de incentivo foram determinantes. Nossas conversas e almoços também. Foi muito importante ter seu apoio nessa etapa. Obrigado mesmo!

Agradeço a **Gisele**, com seu jeito **Gisele de ser!** Muito bom contar com você, ouvir suas opiniões e principalmente contar seu apoio a minha caminhada na Pós-Graduação. Seu modo peculiar de questionar meu modo “sistemático” de ser é muito

*bom. Admiro-a como pesquisadora e agradeço seu apoio sincero a tudo que desenvolvi em meu período na Pós-Graduação. Obrigado por tudo!*

*Com muito e todo respeito a todos que passaram e fazem parte do grupo de pesquisa do LAFAR, descrevo que particularmente minha memória e imediata identificação do grupo sempre será referenciada a 3 grandes amigas: **Giovanna, Paula e Karina**.*

*Agradeço a **Giovanna** pelos muitos ensinamentos durante o período da Pós-Graduação e pela sincera amizade. Suas palavras práticas e diretas impulsionaram muitas de minhas decisões. Particularmente e com muito respeito posso afirmar que o dia-a-dia do desenvolvimento de meu Doutorado seria muito melhor com sua presença constante, mas creio que nossa amizade prevaleceu frente as nossas diferentes rotinas de trabalho. Obrigado!!!!*

*Agradeço a **Paula** e muito mesmo! Reforço à palavra de colegas de que algumas pessoas são abençoadas com um dom desde que nascem. Você foi agraciada com o dom de ser mãe. Você nasceu para isso! Obrigado pelo apoio, auxílio, disposição e principalmente pela amizade construída. Sua iniciativa e resolução de qualquer demanda ou problema é imensurável. Farei o possível para continuarmos com nossa parceria e amizade, que foi e é muito importante na condução de minha vida profissional. Por fim agradeço também a rica oportunidade de compartilhar a sua família comigo. Sua amizade é completa em todos os sentidos. Obrigado por tudo e conte comigo para o que precisar!!!!*

*Agradeço muito a **Karina** também! Sua participação e direcionamentos em diferentes momentos de minha vida profissional foram muito importantes. De uma forma espontânea você transmite seu apoio. Poder contar com sua amizade é fundamental, pois você está sempre disposta a ajudar, sempre com uma ideia ou sugestão para meu desenvolvimento profissional. Seu jeito naturalmente divertido traz leveza a decisões importantes e me facilitaram muito na escolha de meus passos. Obrigado pela ajuda e disposição sempre, para qualquer situação! Obrigado mesmo!!!*

*Agradeço as alunas de Iniciação Científica **Mariana e Gabriela**, pela disposição e iniciativa em desenvolver seu trabalho sob minha co-orientação e pela*

*ajuda, com muita competência e seriedade, em todas as etapas desse trabalho. Muito obrigado. O auxílio e competência de vocês foram determinantes da conclusão dessa Tese.*

*Agradeço também ao grande parceiro **Bruninho**, sempre disposto a ajudar e me apoiar nas atividades referentes ao LAFAr. Excelentes conversas. Obrigado!*

*Agradeço ao meu parceiro desde a graduação e grande amigo **Anderson**. Independente da distância foi e é sempre presente. Nossos caminhos estão sempre juntos de alguma forma. Sua amizade e apoio foram e são fundamentais não só na minha vida profissional, mas na minha vida pessoal também. Você é um grande amigo, e torço muito por você independente de onde esteja. Farei o possível para preservar nossa amizade. Conte comigo sempre! Obrigado!*

*Agradeço aos alunos do LAIOT, **Giovanna, Thereza, Baldon, Ana Flávia, Ana Luísa, Mariana** e ao meu grande amigo **Scattone**, parceiro desde a graduação, pelo apoio e excelente conversas. Parceria muito boa. Obrigado a todos!*

*Agradeço aos alunos do Laboratório de Eletrotermofototerapia, **Paulo, Kido, Carla, Anderson e Cléber**, pelo apoio, auxílio sempre que precisei, empréstimos de reagentes e muita conversa boa e café também. Obrigado!*

*Agradeço aos membros do grupo de pesquisa em Geriatria, **Léo, Juliana, Lélia, Marcele, Verena e Thaís**.*

*Agradeço também a colegas e amigos que fiz na Pós-Graduação que de alguma forma fizeram parte da minha vida acadêmica, em especial **Alexandre, Michele e Vanessa**.*

*Em linhas gerais agradeço a todos os colegas da Pós-Graduação, que de alguma forma contribuíram para uma melhor condução de meu Doutorado, e que participam de uma discussão, tiram uma dúvida, emprestaram material ou simplesmente dividiram um café. Obrigado a todos vocês!*

*Agradeço também ao **Profº Drº Thiago Luiz de Russo** pelo apoio e auxílio sempre. Muito bom ouvir seus conselhos e direcionamentos desde a iniciação científica. Obrigado por compartilhar sua amizade e parceria! Obrigado mesmo!*

Agradeço também ao **Profª Drª Alexandra Ivo de Medeiros** pelo apoio e auxílio para minha capacitação na técnica do ELISA. Obrigado.

Agradeço também a todos os **professores e funcionários** que fazem parte da excelente equipe da Pós-Graduação em Fisioterapia.

Agradeço a **Yolanda**, pelos conselhos e pelas palavras de apoio. Seu carisma e sua simplicidade são imensuráveis. Obrigado!

Agradeço aos **funcionários do Biotério Central da UFSCar**, a empresa **fornecedora de maravalha** e toda rede de suporte que de alguma forma colaborou com minha pesquisa.

Agradeço também a todos os **alunos e docentes do Departamento de Gerontologia da UFSCar** pelas palavras de apoio e incentivo durante a finalização de minha Tese. Foi muito importante para minha vida profissional o acolhimento desse grupo. Agradeço a todos sinceramente. Muito obrigado!

Agradeço também a todos meus familiares e amigos que sempre me apoiaram e respeitaram meu trabalho, em especial meu avô **Carmo**, minha tia e madrinha **Nenê**, minha cunhada **Fernanda**, meus sogros **Angela e Rogério**, meu cunhado e grande amigo **Lucas**. A família é meu alicerce e é muito bom ter pessoas que sempre me apoiaram com palavras de muita força e sabedoria. Obrigado a todos familiares e amigos que participaram de alguma forma da construção de minha Tese. Sou muito grato pela família que tenho. Obrigado a todos!!!

E por fim a todas as pessoas que de alguma forma contribuíram para que esse trabalho fosse realizado. Um muito obrigado a todos vocês!

## RESUMO

A osteoartrite é a afecção ostemioarticular mais frequente entre os idosos, sendo de grande relevância para a saúde pública e para os estudos relacionados aos processos de envelhecimento. Nesse contexto, o fortalecimento muscular torna-se importante como uma das principais estratégias na reabilitação de indivíduos com osteoartrite. Muitas pesquisas na área têm sido desenvolvidas, mas são poucos os estudos que avançaram na investigação pontual dos efeitos do exercício de fortalecimento muscular nas principais manifestações locais e sistêmicas da osteoartrite. Logo, o objetivo dessa Tese foi investigar os possíveis efeitos de um protocolo de fortalecimento muscular nas principais manifestações da osteoartrite de joelho de ratos. Para alcançar esse objetivo, foram desenvolvidos 3 estudos: Exercícios físicos em modelos animais de osteoartrite: uma revisão da literatura; Influência do fortalecimento muscular na osteoartrite de joelho de ratos segundo as recomendações para a avaliação histológica da *OARSI (Osteoarthritis Research Society International)*; Efeito do fortalecimento muscular nos biomarcadores da osteoartrite de joelho de ratos. Baseado em nossos achados principais, identificou-se a ausência de estudos na área que investigassem o efeito do exercício de fortalecimento muscular em modelos animais de osteoartrite. Resultado esse que impulsionou nossa investigação. Também foi identificado que o exercício de fortalecimento muscular tornou a evolução da doença mais lenta, com menor extensão da degeneração e lesão da cartilagem. Por fim, complementando nossos achados iniciais, o fortalecimento muscular reduziu a expressão local de biomarcadores como a caspase-3, metaloproteinase-1, metaloproteinase-13 e interleucina-6. Também atuou na expressão sistêmica da interleucina-6, demonstrando um efeito protetor para os biomarcadores do catabolismo da cartilagem investigados. Portanto, o exercício de fortalecimento muscular tem potencial para atuar sobre as principais manifestações da osteoartrite, sejam elas locais ou sistêmicas. Recomenda-se a aplicação desse tipo de exercício físico com cautela e respaldo na literatura da área, como também se recomenda o desenvolvimento de novos estudos que investiguem o efeito do fortalecimento muscular em outras manifestações da osteoartrite.

**Palavras-chave:** Envelhecimento; Osteoartrite; Cartilagem; Exercício; Fortalecimento muscular.

## ABSTRACT

Osteoarthritis is the most common disease among the elderly osteoarticular, being of great relevance for public health and for studies related to aging processes. In this context, the muscle strengthening becomes important as a major strategy in the rehabilitation of individuals with osteoarthritis. Much research in the area have been developed, but there are few studies that have advanced the timely investigation of the effects of exercise for muscle strengthening in key local and systemic manifestations of osteoarthritis. Therefore, the aim of this thesis was to investigate the possible effects of a protocol for muscle strengthening in the main manifestations of knee osteoarthritis in rats. To achieve this goal, 3 studies were developed: Physical exercises in animal models of osteoarthritis; a literature review; Influence of muscle strengthening on knee osteoarthritis in rats according to the recommendations for the histological evaluation of OARSI (Osteoarthritis Research Society International); Effect of muscle strengthening on knee osteoarthritis biomarkers of rats. Based on our main findings, we identified the lack of studies in the area to investigate the effect of exercise on muscle strengthening animal models of osteoarthritis. This result that spurred our investigation. It was also identified that exercise muscle building became the evolution of slower disease, to a lesser extent of degeneration and cartilage damage. Finally, complementing our initial findings, muscle strengthening reduced the local expression of biomarkers such as caspase-3, metalloproteinase-1, matrix metalloproteinase-13 and interleukin-6. He also served in the systemic expression of interleukin-6, demonstrating a protective effect for biomarkers of cartilage catabolism investigated. Therefore, exercise muscle strength building has the potential to act on the principal manifestations of osteoarthritis, whether local or systemic . The application of this type of exercise with care and support in the literature, but also recommended the development of new studies that investigate the effect of muscle strengthening in other manifestations of osteoarthritis

**Key-words:** Aging; Osteoarthritis; Cartilage; Exercise; Muscle Strengthening.

## LISTA DE FIGURAS

---

### ESTUDO I

---

**Figura 1** - Fluxograma do levantamento bibliográfico

---

---

### ESTUDO II

---

**Figura 1** - Fluxograma dos procedimentos experimentais

**Figura 2** - Fotomicrografias das lâminas coradas com H.E.

**Figura 3** - Representação gráfica da média dos grupos para cada item da avaliação histológica segundo as recomendações da *OARSI*

---

---

### ESTUDO III

---

**Figura 1** - Representação gráfica da média dos grupos para cada biomarcador avaliado na cartilagem articular

**Figura 2** – Fotomicrografias das lâminas dos grupos OA e OAE referente a imunohistoquímica da caspase-3, MMP-1, MMP-13 e IL-6

---

## LISTA DE TABELAS

---

### ESTUDO I

---

**Tabela 1:** Dados gerais dos estudos incluídos

**Tabela 2:** Classificação dos estudos em categorias

---

---

### ESTUDO II

---

**Tabela 1:** Pontuação da degeneração da cartilagem

**Tabela 2:** Classificação osteófitos

**Tabela 3.** Pontuação cartilagem calcificada e osso sub-condral

**Tabela 4.** Coeficiente de correlação intra-classe e intervalo de confiança entre os avaliadores para cada item da avaliação

---

---

### ESTUDO III

---

**Tabela 1:** Quantidade de IL-6 detectada no soro

---

## SUMÁRIO

---

<b>1. APRESENTAÇÃO DA TESE</b>	<b>16</b>
<hr/>	
<b>2. CONTEXTUALIZAÇÃO DA TESE</b>	<b>17</b>
<hr/>	
2.1 Referências Bibliográficas	25
<hr/>	
<b>3. OBJETIVOS DA TESE</b>	<b>29</b>
<hr/>	
<b>4. ESTUDO I</b>	<b>30</b>
<hr/>	
Resumo	31
4.1.Introdução	32
4.2.Métodos	35
4.3.Resultados	37
4.4.Discussão	44
4.5.Conclusão	50
4.6. Referências Bibliográficas	51
<hr/>	
<b>5. ESTUDO II</b>	<b>54</b>
<hr/>	
Resumo	55
5.1. Introdução	56
5.2. Objetivo	59
5.3.Métodos	60
5.4. Resultados	67
5.5. Discussão	71
5.6. Conclusão	75
5.7. Referências Bibliográficas	76
<hr/>	
<b>6. ESTUDO III</b>	<b>78</b>
<hr/>	
Resumo	79
6.1.Introdução	80
6.2.Objetivo	82
6.3.Métodos	83

6.4.Resultados	88
6.5.Discussão	92
6.6.Conclusão	96
6.7.Referências Bibliográficas	97

---

## 1. APRESENTAÇÃO DA TESE

---

Essa Tese foi estruturada na forma de artigo, sendo dividida em 2 partes e redigida de acordo com as normas metodológicas da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) e as normas do Conselho de Pós-Graduação em Fisioterapia da UFSCar.

A primeira parte é constituída por uma revisão da literatura relacionada ao tema da Tese e pelos objetivos da Tese.

A segunda parte é constituída pelos 3 artigos que compõem a Tese:

- Exercícios físicos em modelos animais de osteoartrite: uma revisão da literatura;
- Influência do fortalecimento muscular na osteoartrite de joelho de ratos segundo as recomendações para a avaliação histológica da *OARSI (Osteoarthritis Research Society International)*;
- Efeito do fortalecimento muscular nos biomarcadores da osteoartrite de joelho de ratos.

## 2. CONTEXTUALIZAÇÃO DA TESE

---

A cartilagem articular é um tecido conjuntivo aneural e avascular, conseqüentemente de lento remodelamento, sendo os condrócitos, localizados em lacunas na matriz extracelular (MEC), as únicas células presentes na cartilagem articular, (Aigner, Soeder, Haag, 2006).

Os condrócitos, envoltos pela MEC possuem receptores que respondem frente ao estresse mecânico, adaptando-se ao estímulo recebido (Goldring & Goldring, 2004). Essas células são responsáveis também pelo equilíbrio metabólico entre as atividades anabólicas e catabólicas do tecido mantendo sua estrutura e integridade funcional (Aigner, McKenna, 2002). Dessa forma, uma das principais propriedades dos condrócitos é sua ação mediante as variações na carga mecânica articular, pois quando uma desordem metabólica é percebida, mecanismos de ajustes serão ativados por essas células (Ghosh, Smith, 2002).

As propriedades do tecido cartilaginoso também estão relacionadas com a composição e estrutura da MEC. Sua composição dá-se principalmente por uma alta concentração de proteoglicanos enredadas em uma densa rede de fibras colágenas e uma grande quantidade de água (Martel-Pelletier et al, 2008). As fibras de colágeno são compostas por colágeno tipo IX e XI e principalmente o colágeno tipo II, sendo esse último o principal colágeno da cartilagem articular (Velosa, Teodoro, Yoshinari, 2003).

Já os proteoglicanos são formados por um núcleo proteico central e possuem glicosaminoglicanas sulfatadas (sulfato de condroitina e sulfato de queratano) ligadas a esse núcleo, podendo ser encontradas como monômeros e também na forma agregada (Martel-Pelletier et al, 2008). O agregado de proteoglicanos é composto por uma cadeia

de ácido hialurônico central (glicosaminoglicana não sulfatada) com múltiplos monômeros de proteoglicanos ligados a ele (Martel-Pelletier et al, 2008).

Baseado em sua composição, a estrutura e função da MEC pode ser compreendida pela organização dessas estruturas na cartilagem articular, sendo dividida em 4 camadas (superficial, média, profunda e calcificada) paralelas à superfície articular (Angel, Razzano, Grande, 2003). A camada superficial corresponde a 10% e possui células achatadas, feixes de colágenos dispostos paralelamente à superfície e baixa concentração de proteoglicanas, o que confere resistência às forças de cisalhamento. Já a camada média e a profunda são maiores que a camada superficial, além de possuírem condrócitos esféricos com altas taxas metabólicas e que se agrupam em colunas na camada profunda; também ocorre maior presença de proteoglicanas e fibras colágenas de maior diâmetro que tendem a se posicionar perpendicularmente à superfície (confere melhor resistência aos efeitos compressivos). Por fim, a camada calcificada, consiste em uma região de transição entre a cartilagem articular e o osso sub-condral, em que a presença de condrócito é escassa e a MEC é impregnada por sais de cálcio (Angel, Razzano, Grande, 2003)

Portanto, o tecido cartilaginoso tem como principais funções a distribuição de cargas compressivas ao longo da superfície articular, absorção de choques e permitir o livre deslizamento durante os movimentos (Angel, Razzano, Grande, 2003). Dessa forma, as mudanças na morfologia da cartilagem articular são influenciadas pelas adaptações deste tecido às demandas funcionais de absorção e redistribuição de forças compressivas (Martel-Pelletier et al, 2008; Angel, Razzano, Grande, 2003). De uma forma geral os condrócitos respondem à aplicação de carga pela alteração de seu estado metabólico, e com a aplicação de sobrecarga na cartilagem articular, pode-se observar o início de um processo degenerativo, como a osteoartrite (OA) (Ishiguro et al, 2002; Roos, 2005).

Logo, a OA é a doença articular mais comum entre os adultos, principalmente após os 60 anos (Lange et al, 2008; Zhang e Jordan, 2010), acometendo cerca de 4% da população brasileira (Kirkwood et al, 2011), causando morbidade e gerando diversas consequências sociais e econômicas negativas (Scopaz et al., 2009). Os indivíduos com OA comumente apresentam dor, rigidez e limitações funcionais, resultando em diminuição da qualidade de vida (Bennell, Hinman, 2011).

A fisiopatologia da OA, responsável pelos sintomas descritos anteriormente, envolve vários processos bioquímicos e microscópicos dentro do ambiente articular e do tecido cartilaginoso (Dalhberg et al, 1994). A integridade condral é dependente da complexa rede de colágeno tipo II, proteoglicanos e proteínas acessórias. (Martel-Pelletier et al, 2008). A rede de colágeno apresenta uma atividade metabólica relativamente inerte, visto os proteoglicanos submetem-se a um distinto processo de *turnover*, no qual a quebra metabólica e a remoção de moléculas da MEC estão equilibradas. Entretanto, no início e decorrer da OA, este equilíbrio metabólico é interrompido, com o aumento do catabolismo e da síntese de componentes da matriz, pelos condrócitos (Dalhberg et al, 1994).

Consequentemente, a morte de condrócitos pode ser vista como evento crucial na patogênese da OA (Blanco et al, 1998, Hashimoto et al, 1998). Segundo Lotz, Hashimoto, Kühn (1999), uma característica importante para considerar a morte de condrócitos é que a cartilagem articular por não ser vascularizada e não possuir células-tronco mesenquimais, apresenta dificuldade na reposição celular, o que pode prejudicar a habilidade da cartilagem em manter e reparar a MEC.

A necrose celular era considerada o caminho predominante da morte de celular na OA, no entanto, recentes estudos mostram que a morte celular ocorre primeiramente por apoptose (Weng et al, 2009; Thomas et al, 2007; Lotz, Hashimoto e Kühn, 1999).

As caspases são um grupo de cisteínas - enzimas intracelulares – que, quando ativadas intrínseca ou extrinsecamente, promovem uma cascata de eventos que levam à morte celular programada. Esta cascata desempenha um papel vital na indução, transdução, amplificação e execução de sinais apoptóticos dentro da célula (Musumeci et al, 2011), e são consideradas “executoras da morte celular” (Roach, Aigner; Kouri, 2004).

A OA também se desenvolve quando ocorre uma modificação na estrutura da MEC, prejudicando a função de absorção de cargas do tecido e iniciando um processo de reparação inadequado, que na tentativa de reparar essa modificação (por meio de proliferação celular) a cartilagem perde sua superfície lisa, acarretando em mais prejuízo a sua função (Dalhberg et al, 1994). Tendo se iniciado o processo osteoartrítico então, os condrócitos proliferam-se, porém, a síntese dos componentes da matriz, assim como de enzimas degradantes e citocinas catabólicas, também é estimulada, ocorrendo à degradação local de proteoglicanos e fragmentação de colágeno tipo II (Goldring, 2000).

Iniciada a degradação da cartilagem, as células sinoviais e inflamatórias fagocitam os produtos da quebra do tecido deixados no líquido sinovial e secretam citocinas pró-inflamatórias, como a interleucina-1 beta (IL-1 $\beta$ ), interleucina 6 (IL-6) e o fator de necrose tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ). (Adamopoulos et al, 2006; Goldring et al, 2000). Estas citocinas são responsáveis pelo aumento nos níveis de prostaglandinas e de óxido nítrico (NO), descritos como mediadores da inflamação e destruição da cartilagem (Benito et al, 2005; Fiorito et al, 2005; Goldring et al, 2000). Observa-se uma produção abundante dessas citocinas na articulação acometida pela doença, sugerindo uma ligação com a patogenia da destruição da cartilagem (Borzi et al, 2006).

A análise dos mediadores inflamatórios como IL-6, IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$  na OA sugere que a IL-6 aparece como o maior componente nos condrócitos em situações

degenerativas (Dozin et al, 2002). Interpreta-se que, ao responder à estimulação pela IL-6, os condrócitos contribuem para o início da cascata inflamatória, com a síntese de IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$ , tornando assim a IL-6 como a chave mediadora e efetora da angiogênese, inflamação e degeneração articular (Loeser et al, 2012; Dozin et al, 2002).

O aumento da atividade proteolítica também é apontado como responsável pela destruição patológica da cartilagem na OA (Marini et al, 2003). As metaloproteinases (MMPs) são comumente ativadas por citocinas e secretadas por células inflamatórias (Aigner, Soeder, Haag, 2006; Marini et al, 2003). Suas ações são controladas pelos inibidores teciduais de MMPs, que também são sintetizados pelos condrócitos, tendo como função a inibição dos efeitos catabólicos das MMPs para manter a homeostase tecidual (Aigner, Soeder, Haag, 2006).

A cascata proteolítica, responsável pela degradação do colágeno e do agregado de proteoglicanos, envolve principalmente as collagenases, como MMP-1 (colagenase intersticial) e MMP-13 (colagenase-3), que têm papel importante no remodelamento do tecido cartilaginoso (Aigner, Soeder, Haag, 2006). Porém, numa revisão sobre as proteinases envolvidas na OA, a MMP-13 parece ser a principal MMP na doença, com a sua expressão aumentada em cartilagem osteoartríticas (Troeberg, Nagase, 2011). A IL-1 $\beta$  também estimula a expressão da MMP-1 e MMP13 na cartilagem em processo de degeneração (Troeberg, Nagase, 2011). Logo, pode-se estabelecer que as collagenases MMP-1 e MMP-13 são as proteinases mais envolvidas na patogênese da OA.

Portanto, apesar da OA ser preferencialmente definida como uma doença crônica, a existência de mudanças de caráter inflamatório na cartilagem articular tem sido demonstrada e estudada por diferentes autores (Troeberg, Nagase, 2011; Marini et al, 2003; Dozin et al, 2002; Goldring, 2000). A inflamação articular, presente em indivíduos com OA, contribui para a dor e impede a chegada de informações aferentes

em relação ao movimento e senso da posição articular. Esse déficit proprioceptivo provoca uma alteração na estabilidade dinâmica realizada pelos músculos ao redor da articulação, gerando uma instabilidade funcional que limita a capacidade do indivíduo em realizar as atividades da vida diária. (Hortobágyi et al, 2004).

Diante dessa situação, os exercícios físicos são uma intervenção indicada para o restabelecimento da função física do indivíduo (Hochberg et al, 2012; Coimbra et al, 2002). Suas indicações também são para dor e rigidez articular, perda da mobilidade articular sem destruição importante da articulação, desalinhamento articular ou uso anormal da articulação, sintomas de fraqueza muscular, fadiga e resistência cardiovascular reduzida e ainda alterações da marcha e do equilíbrio (Duarte et al, 2013).

No entanto, ao investigar o comportamento muscular na OA, o decréscimo da função do músculo quadríceps apresenta-se potencializada na população com OA de joelho (Slemenda et al, 1997). Em um estudo, constatou-se que pacientes com OA apresentam de 10-60% menos força do músculo quadríceps que indivíduos da mesma idade e sexo, mas que não acometidos por essa desordem (Slemenda et al, 1997). Stauffer et al (1977) e Hurley et al (1997) encontraram que a força muscular da extremidade inferior, principalmente envolvendo o músculo quadríceps, era significativamente reduzida em indivíduos idosos portadores de OA de joelho quando comparado ao grupo controle.

Nessa situação, o exercício de fortalecimento muscular na OA tem sido recomendado principalmente para incremento de força da musculatura do quadríceps (Lange et al, 2008; Wilk et al, 2006) A literatura justifica a aplicação do exercício resistido, porém muitas questões a respeito, como intensidade, duração e frequência ainda precisam ser respondidas (Bennell, Hinman, 2005; Roddy et al, 2005), já que para

alguns autores o exercício físico pode ser um fator de risco para o desenvolvimento da OA, (Franciozi et al, 2013; Appleton et al, 2007).

Na verdade, exercícios extenuantes ou de alto impacto realmente podem levar a incapacidade da articulação e desenvolvimento da doença, mas exercícios de intensidade moderada trazem benefícios para indivíduos com OA, como melhora da marcha, o equilíbrio e principalmente a força muscular. (Hunter, Eckstein, 2009; Sutton et al, 2001; Petrella, Bartha, 2000).

Para uma melhor compreensão do potencial terapêutico de condutas em relação à modulação dos sintomas da OA, têm sido desenvolvidos vários modelos experimentais de OA em diferentes espécies de animais (Bendele, 2001; Appleton, Mcerlain, Pitelka, 2007). São utilizados animais como ratos, camundongos, coelhos, cães e cavalos e os modelos podem ser classificados como espontâneos, induzidos cirurgicamente, geneticamente induzidos, ou por injeção intra-articular de substâncias químicas. Não existe um modelo ideal que englobe de forma precisa todos os aspectos da OA humana e cada um apresenta vantagens e desvantagens (Bendele, 2001).

O modelo animal de OA que consiste na transecção do ligamento cruzado anterior (TLCA) do joelho de ratos apresenta muitos aspectos patogênicos semelhantes à OA traumática que ocorre em humanos (Gerwin et al, 2011). No modelo de TLCA, o dano articular se desenvolve de forma gradual e previsível, onde as alterações degenerativas na cartilagem são caracterizadas por diminuição de proteoglicanas, morte celular, formação de osteófitos marginais e presença de clones de condrócitos (Bendele, 2001). Appleton et al (2007), encontraram após 2 semanas da TLCA, diminuição na espessura do tecido cartilaginoso, fissuras na camada média, alterações no osso sub-condral e presença de condrócitos hipertrofiados. Segundo Aigner et al (2006), muitos destes achados também são observados nos estágios iniciais da OA em humanos.

Logo, um dos pontos mais relevantes da utilização de modelos animais para o estudo do exercício é a similaridade fisiológica apresentada por esses animais, quando comparadas a humanos, submetidos a exercício físico (Gobatto & Gobatto, 2011; Poole et al, 2010). Pesquisas com animais possibilitam um maior controle os sobre fatores exógenos controláveis, nos remetendo ao estudo direto dos efeitos promovidos quase que exclusivamente pelo exercício físico, Logo, sugere-se a possibilidade da aproximação entre as evidências científicas sobre exercício físico com roedores e humanos. (Gobatto & Gobatto, 2011).

## 2.1. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

AIGNER T, MCKENNA L. Molecular pathology and pathobiology of osteoarthritic cartilage. **Cell Mol. Life Sci**, 59, p. 05-18, 2002.

AIGNER T, SOEDER S, HAAG J. IL-1beta and BMPs--interactive players of cartilage matrix degradation and regeneration. **Eur Cell Mater**, v. 12, p. 49-56, 2006.

ANGEL J, RAZZANO P, GRANDE, D. Defining the challenge: The basic science of articular cartilage repairs and response to injury. **Sports Med Arthrosc Rev**, v. 1, p.168-181, 2003.

APPLETON CTG, McERLAIN DD, PITELKA V, SCHWARTZ N, BERNIER SM, HENRY JL. Forced mobilization accelerates pathogenesis: characterization of a preclinical surgical model of osteoarthritis. **Arthritis Res Ther**, v. 9, p. 3-15, 2007

BENITO M J et al. Synovial tissue inflammation in early and late osteoarthritis. **Ann Rheum Dis**, v. 64: p. 1263-1267, 2005.

BENDELE, A.M. Animals models of osteoarthritis. **J. Musculoskel Neuron Interact** 1 (4): 363-376, 2001.

BENNELL K, HINMAN R. Exercise as a treatment for osteoarthritis **Current Opinion in Rheumatology**, v. 17, p. 634-640, 2005.

BENNELL KL, RANA S. HINMAN RS. A review of the clinical evidence for exercise in osteoarthritis of the hip and knee. **Journal of Science and Medicine in Sport** 14: 4-9, 2011.

COIMBRA IB, PASTOR EH, GREVE JMA, PUCCINELLI MLC, FULLER R, CAVALCANTI FS, FLÁVIO MACIEL FMB, HONDA E. Consenso Brasileiro para tratamento da osteoartrite (artrose). **Revista Brasileira de Reumatologia**. 42 (6): 371-374, 2002.

DALHBERG L. Cartilage metabolism in the injured and uninjured knee of the same patient. **Annals of the Rheumatic Diseases** , v.53, :p. 823-827, 1994.

DOZIN, B.; MALPELI, M.; CAMARDELLA, L.; CANCEDDA, R.; PIETRANGELO, A. Response of young, aged and osteoarthritic human articular chondrocytes to inflammatory cytokines: molecular and cellular aspects. **Matrix Biology** 21: 449-459, 2002.

DUARTE VS, SANTOS ML, RODRIGUES KA, RAMIRES JB, ARÊAS GPT , BORGES GF. Exercícios físicos e osteoartrose: uma revisão sistemática. **Fisioter. Mov**, v. 26, n. 1, p. 193-202, 2013

EKDAHL, C.; ANDERSSON, S.I., SVENSSON, B. Muscle function of the lower extremities in rheumatoid arthritis and osteoarthritis. A descriptive study of patients in a primary health care district. **J Clin Epidemiol.** v. 42, n. 10, p 947-954, 1989.

FINK, B. *et al.* Morphologic changes in the vastus medialis muscle in patients with osteoarthritis of the knee. **Arthritis Rheum,** v. 56, p. 3626-3633, 2007.

FIORITO S. Inflammatory status and cartilage regenerative potential of synovial fibroblasts from patients with osteoarthritis and chondropathy. **Rheumatology,** v. 44:p. 164-171, 2005

FRANCIOZI CES, TARINI VAF, REGINATO RD, GONÇALVES PRS, MEDEIROS VP, FERRETTI M, DREYFUSS JL, NADER HB, FALOPPA F. Gradual strenuous running regimen predisposes to osteoarthritis due to cartilage cell death and altered levels of glycosaminoglycans. **Osteoarthritis and Cartilage** 21, 965-972, 2013.

GERWIN N, BENDELE AM, GLASSON S, CARLSON CS. The OARSI histopathology initiative e recommendations for histological assessments of osteoarthritis in the rat. **Osteoarthritis and Cartilage** 18:24-34.2010.

GOBATTO, CA; GOBATTO, FBM. Aplicações de modelos experimentais envolvendo exercício físico no âmbito das políticas públicas: Ações bilaterais entre pesquisa e prática. In: Gustavo Luis Gutierrez, Roberto Vilarta, Roberto Teixeira Mendes. (Org.). **Políticas Públicas, Qualidade de Vida e Atividade Física.** 1ed.Campinas: IPES, , v. 1, p. 35-44, 2011.

GOLDRING, M. B. The role of the chondrocyte in osteoarthritis. **Arthritis and Rheumatism,** v. 43, p. 16-26, 2000.

GOLDRING SR, GOLDRING MB. The role of cytokines in cartilage matrix degeneration in osteoarthritis, Clin Orthop Rel Res. 427S: S27-S36, 2004.

GHOSH P, SMITH M. Osteoarthritis, genetic and molecular mechanisms. **Biogerontology** 2002; 3: 85-88.

HASHIMOTO S, OCHS RL, KOMIYA S, LOTZ M. Linkage of chondrocytes apoptosis and cartilage degradation in human osteoarthritis. **Arthritis Rheum.** 41:1632-1638, 1998.

HASSAN, B.S.; MOCKETT, S.; DOHERTY, M. Static postural sway, proprioception, and maximal voluntary quadriceps contraction in patients with knee osteoarthritis and normal control subjects. Ann Rheum Dis, v. 60, p. 612–8, 2001.

HORTOBÁGYI T, WESTERKAMP, L; BEAM, S; MOODY, J; GARRY, J; HOLBERT, D; DEVITA, P. Altered hamstring-quadriceps muscle balance in patients with knee osteoarthritis. Clinical Biomechanics 20: 97-104, 2004.

HOCHBERG MC, ALTMAN RD, APRIL KT, American College of Rheumatology 2012 Recommendations for the Use of Nonpharmacologic and Pharmacologic

Therapies in Osteoarthritis of the Hand, Hip, and Knee. **Arthritis Care & Research**, Vol. 64, No. 4, pp 465–474, 2012.

HUNTER DJ, ECKSTEIN F. Exercise and osteoarthritis **J. Anat**, v. 214, p. 197-207, 2009.

HURLEY, M.V.; SCOTT, D.L.; REES, J.; NEWHAM, D.J. Sensorimotor changes and functional performance in patients with knee osteoarthritis. **Ann Rheum Dis**. v. 56, p 641-648, 1997.

ISHIGURO, N.; KOJIMA, T.; POOLE, R. Mechanism of cartilage destruction in osteoarthritis. **J Med Sci**, v. 65, p. 73-84, 2002.

KIRKWOOD RN, RESENDE RA, MAGALHÃES CMB, GOMES HA, MINGOTI SA, SAMPAIO RF. Aplicação da análise de componentes principais na cinemática da marcha de idosos com osteoartrite de joelho. **Rev Bras Fisioter** 2011; 15(1): 52-8.

LANGE AK, VANWANSEELE B, SINGH, MAF. Strength Training for Treatment of Osteoarthritis of the Knee: A Systematic Review **Arthritis & Rheumatism (Arthritis Care & Research)**, v. 59, p. 1488-1494, 2008.

MALDONADO, N.G. Epidemiology of osteoarthritis in Latin America. **Rev Bras Reumat**. v.34, n.5, p. 261-266, 1994.

MANKIN HJ, DORFMAN H, LIPPIELLO L, ZARINS A. Biochemical and metabolic abnormalities in articular cartilage from osteo-arthritic human hips : II. Correlation of morphology with biochemical and metabolic data. **J Bone Joint Surg Am** 53:523-37. 1971.

MARINI S. A Correlation between knee cartilage degradation observed by arthroscopy and synovial proteinases activities. **Clin Biochem** , v.36, p. 295-304, 2003

MARTEL-PELLETIER J; BOILEAU C; PELLETIER JP; ROUGHLEY PJ. Cartilage in normal and osteoarthritis Conditions **Best Practice & Research Clinical Rheumatology**, v. 22, p. 351-384, 2008

MUSUMECI G, LORETO C, CARNAZZA ML, MARTINEZ G. Characterization of apoptosis in articular cartilage derived from the knee joints of patients with osteoarthritis. **Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc**. 19:307-313, 2011..

PAN, J. et al. Vastus lateralis/vastus medialis cross-sectional area ratio impacts presence and degree of knee joint abnormalities and cartilage T2 determined with 3T MRI – an analysis from the incidence cohort of the Osteoarthritis Initiative. **Osteoarthritis Cartil**, v. 19, p. 65-73, 2011.

PETRELLA RJ, BARTHA C. Home based exercise therapy for older persons with knee osteoarthritis: a randomized clinical trial. **J Rheumatol**, v. 27, p. 2215-2221, 2000.

POOLE, A. R.; GUILACK, F.; ABRAMSON, S. B. Etiopathogenesis of osteoarthritis. In MOSKOWITZ, E. W.; ALTMAN, R. W.; HOCHBERG, M. C.; BUCKWALTER, J. A.; GOLDBERG, V. M., editors. **Osteoarthritis: diagnosis and medical/surgical management** 4th edition. Philadelphia: Lippincott, Williams, and Wilkins, pp. 27-49, 2007.

RODDY E, ZHANG W, DOHERTY M. Aerobic walking or strengthening exercise for osteoarthritis of the knee? A systematic review **Ann Rheum Dis**, v. 64, p. 544-548, 2005.

ROACH HI, AIGNER T, KOURI, JB. Chondroptosis: a variant of apoptotic cell in chondrocytes? *Apoptosis*. 9:265-277, 2004.

ROOS EM. Joint injury causes knee osteoarthritis in young adults. **Curr Opin Rheumatol**, v. 17, p.195-200, 2005.

SEMBLE, E.L.; LOESER, R.F.; WISE, C.M. Therapeutic exercise for rheumatoid and osteoarthritis. **Seminars in Arth and Rheum**. v. 20, n. 1, p 32-40, 1990.

SLEMENDA, C.; BRANDT, K.D.; HEILMAN, D.K.; MAZZUCA, S.; BRAUNSTEIN, E.M.; KATZ, B.P. et al. Quadriceps weakness and osteoarthritis of the knee. **Ann Intern Med**. v. 127, n. 2, p 97-104, 1997.

SUTTON AJ, MUIR KR, MOCKETT S, FENTEM P. A casecontrol study to investigate the relation between low and moderate levels of physical activity and osteoarthritis of the knee using data collected as part of the Allied Dunbar National Fitness Survey. **Ann Rheum Dis**, v. 60, p. 756-764, 2001.

TROEBERG L, NAGASE H. Proteases involved in cartilage matrix degradation in osteoarthritis. **Biochimica et Biophysica Acta**. 1824(1):133-45 2011.

TYYNI A, KARLSON J. Biological treatment of joint cartilage damage. **Scand J Med Sci Sports**, v. 10, p. 249-265, 2000.

WENG LH, WANG CJ, KO JY, SUN YC, SU YS, WANG FS. Inflammation induction of Dockkopf-1 mediates chondrocyte apoptosis in osteoarthritic joint. *Osteoarthritis Cartilage*. 17:933-943, 2009.

VELOSA, APP, TEODORO WR, YOSHINARI NH. Colágeno na cartilagem osteoartrósica. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 43, p. 160-166, 2003.

WILK KE, BRIEM K, REINOLD MM, DEVINE KM, DUGAS JR, ANDREWS JR. Rehabilitation of articular lesions in the athlete's knee. **J Orthop Sports Phys Ther**, v. 10, p. 815-827, 2006.

ZHANG Y, JORDAN JM. Epidemiology of Osteoarthritis. **Clin Geriatr Med**; 26(3): 355-69, 2010.

### 3. OBJETIVOS DA TESE

---

O objetivo geral dessa Tese foi investigar os efeitos de um protocolo de fortalecimento muscular nas principais manifestações da osteoartrite de joelho de ratos.

Os objetivos específicos dessa Tese foram:

- Identificar as evidências científicas sobre os estudos que utilizaram exercício físico em modelos animais de osteoartrite;
- Investigar a influência do fortalecimento muscular na osteoartrite de joelho de ratos, segundo as recomendações da *OARSI (Osteoarthritis Research Society International)* para a avaliação histológica;
- Investigar o efeito do fortalecimento muscular nos biomarcadores da osteoartrite (OA) de joelho de ratos.

#### 4. ESTUDO I

---

### **EXERCÍCIOS FÍSICOS EM MODELOS ANIMAIS DE OSTEOARTRITE: UMA REVISÃO DA LITERATURA.**

**VASILCEAC, FERNANDO AUGUSTO<sup>1</sup>; SERRÃO, PAULA REGINA MENDES  
DA SILVA<sup>1</sup>; MATTIELLO, STELA MÁRCIA<sup>1</sup>.**

<sup>1</sup> *Departamento de Fisioterapia da Universidade Federal de São Carlos, São Carlos,  
SP, Brasil.*

**OBSERVAÇÃO:** *O manuscrito a ser avaliado foi submetido ao periódico: **Revista  
Brasileira de Reumatologia (QUALIS B1 – JCR=0.864)***

## RESUMO

**Objetivo:** O objetivo da revisão foi identificar as evidências científicas sobre os estudos que utilizaram exercício físico em modelos animais de osteoartrite. **Métodos:** Para a seleção dos trabalhos foram examinadas as bases indexadas pela Pubmed, LILACs, MedLine, SciELO e Science Direct. Para a busca dos estudos foram utilizadas as palavras-chaves: “exercise”, “osteoarthritis”, “cartilage”, “animal models” ligadas pelo operador booleano AND. O levantamento bibliográfico foi restrito às publicações dos últimos 20 anos, sendo incluídos estudos publicados de 1993 até 2013. Dois avaliadores selecionaram os estudos de modo independente com base nos títulos, excluindo os seguintes títulos: os que não estavam relacionados ao tema da revisão; artigos de revisão; resumos de livros; títulos que se repetiam. Após essa seleção, os avaliadores analisaram os resumos dos artigos selecionados para identificar aqueles que atendessem aos critérios de inclusão, ou seja, que utilizaram o exercício físico em modelos animais de osteoartrite. Foram excluídos: artigos que utilizaram o exercício físico como modelo de indução da osteoartrite; artigos que utilizaram o exercício físico em animais saudáveis somente. **Resultados:** Foram encontrados estudos distribuídos da seguinte forma: Pubmed (n=51); LILACs (n=0); MedLine (n=23); SciELO (n=8); Science Direct (n=155). Após a leitura dos títulos e dos resumos, considerando os critérios de inclusão, foram selecionados para análise mais criteriosa 10 artigos. Foi feita uma classificação por categorias dos estudos: Os modelos animais utilizados foram o traumático (n=5), o genético (n=3) e o farmacológico (n=2); Todos os estudos realizaram o exercício aeróbico em seus animais (n=10); Os instrumentos utilizados para a aplicação do exercício foram à esteira elétrica (n=6), a roda de corrida (n=3) e um pasto (n=1). **Conclusão:** Pode-se concluir que os estudos com exercícios físicos em modelos animais de osteoartrite são poucos e entre eles o exercício físico aeróbico parece ser o mais estudado. Todos os protocolos de exercício físico avaliados devem ser considerados e suas implicações clínicas exploradas, porém também se recomenda para novos estudos a utilização de diferentes exercícios físicos em modelos animais de osteoartrite, como o exercício resistido.

**PALAVRAS-CHAVE:** Exercício físico; Osteoartrite; Cartilagem; Modelos animais.

#### 4.1. INTRODUÇÃO

A osteoartrite (OA) é uma desordem crônica e degenerativa, caracterizada pela degradação da cartilagem articular, esclerose do osso sub-condral e formação de osteófitos (Kim et al, 2013). A doença possui grande importância, pois além de ser mundialmente frequente, está associada a elevados custos para a saúde e sociedade (Hinman et al., 2002), provocando assim considerável impacto na qualidade de vida da população (Santos et al., 2011).

Os indivíduos com OA comumente apresentam dor, rigidez e limitações funcionais (Bennell e Hinman, 2011). Esses sintomas são resultados de cumulativos eventos mecânicos e biológicos que levaram a um desequilíbrio entre a degradação e síntese dos constituintes articulares (Aigner, Soeder, Haag, 2006). A principal função da cartilagem articular é a distribuição de cargas sobre a articulação, assim, quando há uma sobrecarga ou má distribuição de carga na cartilagem articular, pode-se observar o início de um processo degenerativo (Roos, 2005).

Uma vez instalado o processo degenerativo, o tratamento da OA é recomendado o mais precoce possível (Zangh et al, 2008) O objetivo principal do tratamento é prevenir e minimizar o dano articular e limitação funcional, auxiliando, tanto no alívio dos sintomas, quanto na execução das atividades da vida diária, contribuindo para manter a qualidade de vida (Zangh et al, 2010; Zangh et al, 2008). Cabe ressaltar que o exercício físico cumpre esse objetivo (Hochberg et al, 2012; Zangh et al, 2010; Zangh et al, 2008, Coimbra et al, 2002).

Segunda a *OARSI (Osteoarthritis Research Society International)*, o exercício físico tem efeitos positivos no tratamento da OA de joelho e quadril, atuando principalmente na melhora da dor e função física (Zangh et al, 2008). Quando avaliado as melhores evidências científicas de várias modalidades terapêuticas na OA, diferentes tipos de exercício físico,

como o exercício aeróbico, o exercício resistido e o exercício aquático, são descritos com nível de evidência A (Zangh et al, 2010). Tanto a Sociedade Brasileira de Reumatologia (Coimbra et al, 2002), quanto o *American College of Rheumatology (ACR)* (Hochberg et al, 2012) recomendam a utilização de exercícios físicos em suas diretrizes para o tratamento da OA.

Apesar das alterações decorrentes da OA e da necessidade de intervenção terapêutica serem conhecidas, existem algumas limitações de seu estudo em humanos (Bendele, 2001). Considerando que não é recomendada extração de material cartilaginoso humano para estudo, justifica-se o estudo da osteoartrite em modelos animais (Bendele, 2001). Segundo Gobatto & Gobatto (2011), valiosas informações têm sido produzidas em estudos com animais para programas de treinamento físico direcionado às especificidades atléticas, etárias e principalmente de doenças crônicas, como a OA (Gobatto & Gobatto, 2011).

Há vários modelos experimentais de OA desenvolvidos em diferentes espécies de animais com a finalidade de promover a compreensão dos aspectos fisiopatológicos da doença e para averiguar o potencial terapêutico de condutas em relação à modulação dos sintomas (Bendele, 2001; Appleton, Mcerlain, Pitelka, 2007). São utilizados animais como ratos, porcos, coelhos, cães e cavalos e os modelos podem ser classificados como espontâneos, induzidos cirurgicamente por algum tipo de trauma, geneticamente induzidos, ou por injeção intra-articular de substância farmacológicas. Não existe um modelo ideal que englobe de forma precisa todos os aspectos da OA humana e cada um apresenta vantagens e desvantagens (Bendele, 2001).

Apesar da relevância do tema, observa-se a ausência de um estudo que contemple todas as evidências científicas da aplicação de exercício físico em modelos animais de OA. Uma revisão sistemática sobre estudos que aplicaram exercício físico em pacientes com OA

foi publicada recentemente (Duarte et al, 2013). Nessa revisão, apesar de ter-se encontrado 1405 artigos relacionados e ter-se avaliado 101, chegou-se a conclusão de que os estudos demonstram a eficácia do uso de exercícios na melhora dos sintomas da doença, mas não há um consenso em relação a qual tipo de exercício físico deve ser mais utilizado e quais os parâmetros, como intensidade, duração e frequência, devem ser utilizados (Duarte et al, 2013).

Portanto, em necessidade de maiores esclarecimentos em relação utilização de exercícios no tratamento da OA, a proposta dessa revisão tem como objetivo identificar as evidências científicas sobre os estudos que utilizaram exercício físico em modelos animais de osteoartrite.

## 4.2. MÉTODOS

### Estratégias de busca

Para a seleção dos estudos foram examinadas as bases indexadas pela Pubmed (Centro Nacional para a Informação Biotecnológica mantido pela Biblioteca Nacional de Medicina dos Estados Unidos); LILACs, (Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde), MedLine (Literatura Internacional em Ciências da Saúde), SciELO (Scientific Electronic Library Online) e Science Direct (Base de dados da Editora Elsevier).

Para o levantamento bibliográfico foram utilizadas as palavras-chaves: “exercise”, “osteoarthritis”, “cartilage”, “animal models” ligadas pelo operador booleano AND. O levantamento bibliográfico foi restrito às publicações dos últimos 20 anos, sendo incluídos estudos publicados de 1993 até 2013. Os critérios de inclusão foram: estudos na língua inglesa, portuguesa ou espanhola que utilizaram o exercício físico em modelos animais de osteoartrite.

### Seleção dos estudos

Dois avaliadores (FAV e PRMSS) selecionaram os estudos de modo independente com base nos títulos, excluindo os seguintes títulos: os que não estavam relacionados ao tema da revisão; artigos de revisão; resumos de livros; títulos que se repetiam. Após essa seleção, os avaliadores analisaram os resumos dos artigos selecionados para identificar aqueles que atendessem aos critérios de inclusão, ou seja, que utilizaram o exercício físico em modelos animais de osteoartrite. Foram excluídos: artigos que utilizaram o exercício físico como modelo de indução da osteoartrite; artigos que utilizaram o exercício físico em animais saudáveis somente.

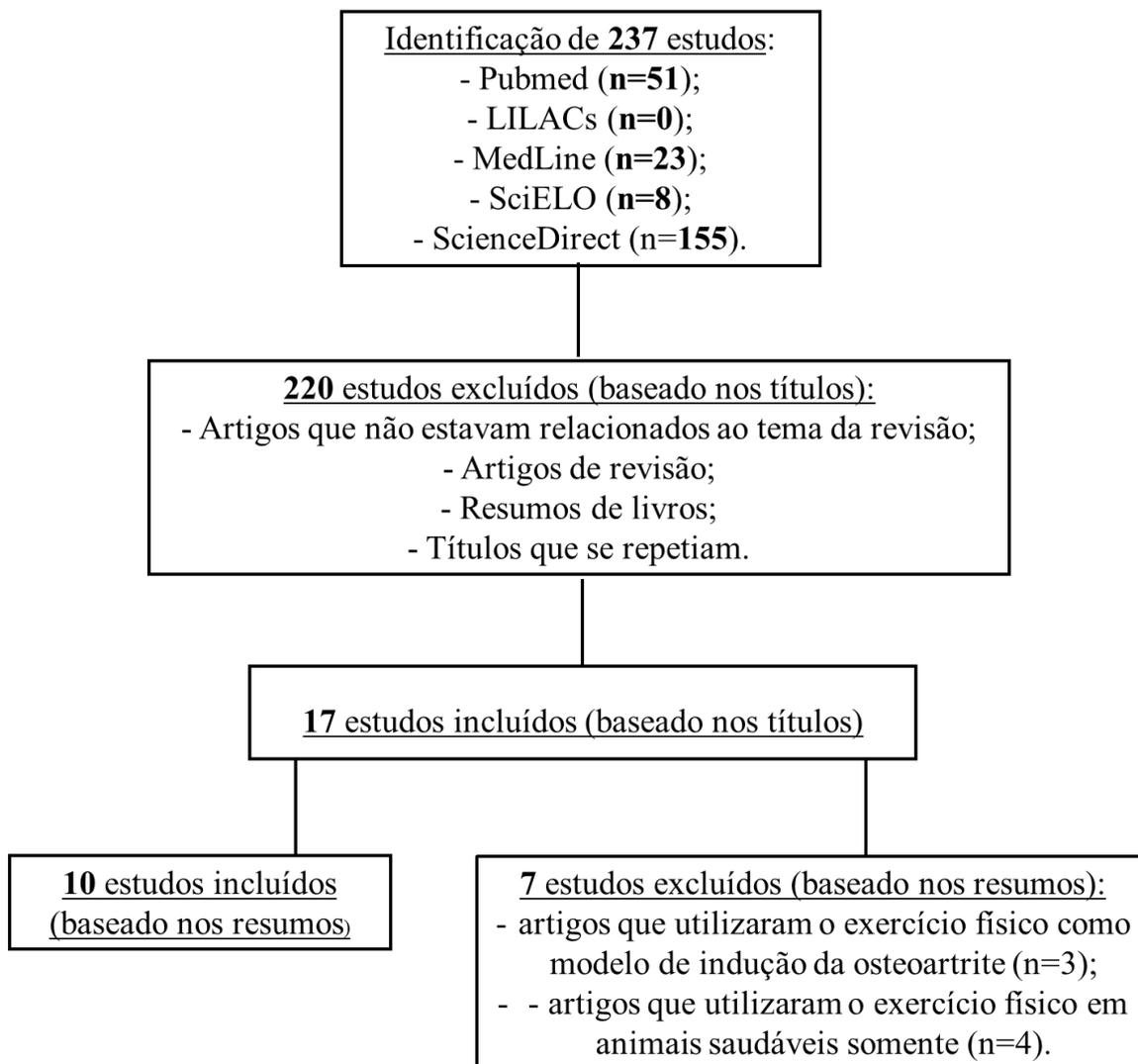
### **Análise dos estudos**

Os estudos incluídos foram analisados na íntegra por meio de roteiro estruturado com a contemplação dos seguintes itens: autor/ano, animal, modelos animal de OA, avaliações/delineamentos, exercício físico/parâmetros, principais achados. Foi feita também a categorização dos mesmos, com objetivo de identificar os principais modelos animais de osteoartrite, os tipos de exercício físicos aplicados, os instrumentos utilizados para a realização do mesmo, as avaliações e técnicas utilizadas e o tipo de desfecho (positivo, negativo ou indiferente).

### 4.3. RESULTADOS

#### Estudos incluídos

Foram encontrados estudos distribuídos da seguinte forma: 51 estavam indexados na Pubmed, nenhum na LILACs, 23 no MedLine, 8 no SciELO e 155 no Science Direct. Foram excluídas as publicações que não se encaixavam nos critérios de inclusão determinados. Após a leitura dos resumos considerando os critérios descritos foram selecionados para análise mais criteriosa 10 artigos. Segue abaixo o fluxograma do levantamento bibliográfico (Figura 1).



*Figura 1. Fluxograma do levantamento bibliográfico.*

### **Dados gerais dos estudos incluídos**

Os 10 estudos incluídos foram organizados em uma tabela (Tabela 1) para identificação dos seguintes itens: autor/ano, animal, modelos animal de OA, avaliações/delineamentos, exercício físico/parâmetros, principais achados.

**Tabela 1:** Dados gerais dos estudos incluídos

<b>Autores/ Ano</b>	<b>Animal</b>	<b>Modelo de osteoartrite</b>	<b>Avaliações/ Delineamentos</b>	<b>Exercício físico/ Parâmetros</b>	<b>Principais achados</b>
<b>Armstrong et al, 1993.</b>	Ovelhas	Traumático: Meniscectomia medial unilateral do joelho	Sistema de graduação histológico-histoquímico de Mankin (modificado); Avaliação feita 6 meses após a cirurgia.	Exercício aeróbico: Realizado em um pasto de 2 Km de extensão; Familiarização de 2 semanas (a distância percorrida aumentou gradativamente de 2 para 8 Km); O treino foi feito 3 vezes por semana, 8 Km por dia; A velocidade foi de 3-4 Km/h.	O exercício físico exacerba as lesões da cartilagem no modelo animal de OA utilizado: - ocorrência de osteófitos; - graduação histológica mais severa; - aumento da densidade de condrócitos; - diminuição de espessura da cartilagem.
<b>Lapveteläinen et al, 2001.</b>	Camundongos	Genético: Inativação de ambos os genes que codificam as cadeias do pró-colágeno tipo II.	Sistema de graduação histológico próprio; Avaliação feita em diferentes períodos (com 3,6,9,12,15 meses de exercício)	Exercício aeróbico: Realizado em uma roda de corrida, inserida na gaiola dos animais; A proposta do estudo foi à prática do exercício de forma voluntária, e não controlada.	A prática de corrida de forma voluntária possui um efeito protetor no modelo animal de osteoartrite: - reorganização da rede de colágeno; - aumento da complacência da cartilagem articular.
<b>Lapveteläinen et al, 2002.</b>	Camundongos	Genético: Camundongos transgênicos com uma mutação de uma cadeia do pró-colágeno tipo II	Avaliação histológica por meio de Densitometria digital e Microscopia de luz polarizada; Avaliação feita após 15 meses de exercício.	Exercício aeróbico: Realizado em uma roda de corrida, inserida na gaiola dos animais; A proposta do estudo teve como objetivo a prática do exercício de forma voluntária, e não controlada.	A prática de corrida de forma voluntária aumenta a incidência e a severidade da doença no modelo animal de osteoartrite utilizado: - aumento do dano da cartilagem do compartimento lateral do joelho; - redução do conteúdo de proteoglicanas da cartilagem.

<b>Galois et al, 2003</b>	Ratos	Traumático: Transecção cirúrgica do ligamento cruzado anterior do joelho.	Mankin (modificado); Avaliação imunohistoquímica para caspase-3. Avaliação feita em diferentes períodos (com 7, 14 e 28 dias após a cirurgia).	Exercício aeróbico: Realizado em esteira elétrica; O treino foi feito com uma frequência de 5 vezes na semana, na velocidade de 30cm/s com duração diária de 30 minutos.	O exercício físico diminui a severidade do modelo de osteoartrite utilizado: - redução da pontuação das lesões histológicas; - redução da expressão da caspase-3.
<b>Galois et al, 2004.</b>	Ratos	Traumático: Transecção cirúrgica do ligamento cruzado anterior do joelho	Sistema de graduação histológico-histoquímico de Mankin (modificado); Imunohistoquímica para caspase-3 e para a proteína de choque térmico (HSP70); Avaliação feita em diferentes períodos (com 7, 14 e 28 dias após a cirurgia).	Exercício aeróbico: Realizado em esteira elétrica; O treino foi feito com uma frequência de 5 vezes na semana; Foram estabelecidos 3 intensidades: leve (30 cm/s por 15 minutos); moderada (30cm/s por 30 minutos); intensa (30cm/s por 60 minutos).	O exercício físico de intensidade leve e moderada exerce benefícios para o modelo de osteoartrite utilizado: - reduz a pontuação das lesões histológicas; - reduz a expressão da caspase-3; - aumenta a expressão da proteína de choque térmico (HPS70).
<b>Kawcak et al, 2008.</b>	Cavalos	Traumático: Indução cirúrgica de um fragmento osteocondral na articulação carpal medial	Radiografia, Citilografia nuclear, Tomografia computadorizada e Ressonância magnética; Avaliação feita após 91 dias de exercício.	Exercício aeróbico: Realizado em esteira elétrica; Feito com uma frequência de 5 vezes na semana; Consistia em um trote inicial (16-19 Km/h por 2 minutos), um galope (32 km/h por 2 minutos) e um trote final.	O exercício físico gera respostas adaptativas no modelo animal de osteoartrite, prevenindo algumas manifestações no exame de imagens características da OA: - edema ósseo, osteófitos e osteólise do osso sub-condral.

<p><b>Lories et al, 2009</b></p>	<p>Camundongos</p>	<p>Genético: Polimorfismo do gene relacionado à proteína frisada.</p>	<p>Radiografia, Sistema de avaliação histológica da OARSI (<i>Osteoarthritis Research Society International</i>); Avaliação feita em diferentes períodos (com 26 e 52 semanas de exercício).</p>	<p>Exercício aeróbico: Foi realizado em uma roda de corrida, inserida na gaiola dos animais; A proposta do estudo teve como objetivo a prática do exercício de forma voluntária, e não controlada.</p>	<p>A prática de corrida de forma voluntária não teve nenhum efeito significativo no modelo animal de osteoartrite utilizado.</p>
<p><b>Cifuentes et al, 2010.</b></p>	<p>Ratos</p>	<p>Farmacológico: Injeção intra-articular de ácido iodoacético.</p>	<p>Sistema de avaliação histológica da OARSI; Avaliação bioquímica da mieloperoxidase, da enzima superóxido dismutase e do conteúdo de tióis totais; Avaliação feita após 8 semanas de exercício.</p>	<p>Exercício aeróbico: Realizado em esteira elétrica; Familiarização de 1 semana (10m/min por 10 minutos, 7 vezes na semana); O treino deve a frequência de 3 vezes na semana, com velocidade de 13 m/min, com duração de 50 minutos por dia, por 8 semanas; Inclinação da esteira de 1%.</p>	<p>O exercício físico contribuiu para a preservação da cartilagem articular no modelo animal de osteoartrite utilizado:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- preservação do conteúdo de proteoglicanas nas áreas superficiais e intermediárias da cartilagem;</li> <li>- preservação do conteúdo de tióis totais.</li> </ul>

<b>Mohammadi et al, 2012.</b>	Ratos	Farmacológico: Injeção intra-articular de ácido iodoacético.	Sistema de avaliação histológica da OARSI; Avaliação feita após 28 dias de exercício.	Exercício aeróbico: Foi realizado em uma esteira elétrica; Familiarização de 1 semana (10m/min por 10 minutos); O treino teve a frequência de 5 vezes na semana, com velocidade de 18 m/min, com duração de 30 minutos por dia, por 4 semanas.	O exercício físico exerce benefícios para o modelo animal de osteoartrite utilizado: - redução da taxa da profundidade das lesões da cartilagem; - redução da largura da degeneração da cartilagem.
<b>Yamaguchi et al, 2013</b>	Ratos	Traumático: Transecção cirúrgica do ligamento cruzado anterior do joelho	Sistema de avaliação histológica da OARSI; Avaliação sérica ( <i>ELISA</i> ) do produto de clivagem do colágeno tipo II e do pró-colágeno tipo II; Avaliação feita após 2 e 4 semanas de exercício.	Exercício aeróbico: Realizado em esteira elétrica; Familiarização de 3 dias; O treino teve a frequência de 3 dias por semana; Foram estabelecidas 2 intensidades: moderada (18 m/min por 30 minutos); intensa (18 m/min por 60 minutos).	O exercício físico de intensidade moderada acarreta na progressão mais leve da degeneração no modelo de osteoartrite utilizado: - menor pontuação das lesões histológicas; - menor expressão sérica do produto de clivagem do colágeno tipo II e do pró-colágeno tipo II.

### Avaliação dos artigos incluídos

Os 10 estudos selecionados também foram separados em 5 categorias : modelo animal de osteoartrite, tipo de exercício físico, instrumento utilizado para a realização do exercício, avaliações e técnicas utilizadas, tipo de desfecho (Tabela 2):

**Tabela 2:** Classificação dos estudos em categorias:

<b>Categoria</b>	<b>Tipos</b>	<b>Total</b>
<b>Modelo animal de osteoartrite</b>	Traumático	5
	Genético	3
	Farmacológico	2
<b>Tipo de exercício físico</b>	Aeróbico	10
<b>Instrumento utilizado para a realização do exercício</b>	Esteira elétrica	6
	Roda de corrida	3
	Pasto	1
<b>Avaliações e técnicas utilizadas</b>	Histologia	9
	Imunohistoquímica	2
	Bioquímica	1
	<i>ELISA</i>	1
<b>Tipo de desfecho</b>	Exames de imagem	1
	Positivo	7
	Negativo	2
	Indiferente	1

#### 4.4. DISCUSSÃO

A análise dos estudos selecionados mostra que a aplicação de exercício físico limita-se a uma pouca variedade de modelos animais de OA, sendo somente aplicados exercícios aeróbicos nesses modelos. A maioria dos estudos encontrou resultados satisfatórios, porém foram poucos estudos que exploraram os parâmetros do exercício físico, com intensidade, duração e frequência.

Somente 2 estudos fizeram a comparação entre a aplicação de diferentes intensidades de exercício físico (Galois et al, 2004; Yamaguchi et al, 2013). Ambos os estudos utilizaram a esteira elétrica e estabeleceram a intensidade do exercício baseada na duração do mesmo (Galois et al, 2004; Yamaguchi et al, 2013). No estudo de Galois et al (2004) foi estabelecido 3 intensidades (leve, moderada e intensa), variando a duração da sessão (15, 30 e 60 minutos, respectivamente) e mantendo constante a velocidade (30 cm/s). Já no estudo de Yamaguchi et al (2013), foram estabelecidos 2 intensidades (moderada e intensa) variando também a duração da sessão de exercício (30 e 60 minutos, respectivamente) e mantendo constante a velocidade (18m/min).

Apesar da frequência semanal dos estudos terem sido diferentes (5 e 3 vezes), ambos os estudos avaliaram o tecido articular após 2 e 4 semanas de exercício. (Galois et al, 2004; Yamaguchi et al, 2013). Obteve-se como resultado a redução das lesões histológicas e redução da atividade apoptótica dos condrócitos (Galois et al, 2004) e também encontrando menor expressão sérica de produtos da clivagem do colágeno tipo II e do pró-colágeno tipo II e menor degeneração da cartilagem (Yamaguchi et al, 2013).

Frente aos resultados positivos expostos, esses 2 estudos estão de acordo com o *American College of Geriatrics (AGS)*, que afirma que exercícios físicos de intensidade moderada não exacerbam a dor, nem aceleram o processo degenerativo da OA (AGS,

2001). Apesar de o exercício físico ter sido considerado benéfico para as propriedades da cartilagem articular (Zangh et al, 2010), respostas catabólicas frente a exercícios já foram relatadas na literatura (Franciozi et al, 2013). Em nossa revisão encontramos 2 estudos que descrevem resultados negativos frente a aplicação de exercício no modelo animal de OA (Armstrong et al, 1993; Lapveteläinen et al, 2002).

Armstrong et al (1993) submeteram seus animais a uma caminhada de 8 Km, na velocidade de 3-4Km/h, 3 vezes na semana por 6 meses. Nesse estudo o exercício físico desencadeou aumento da ocorrência de osteófitos, graduação histológica para OA mais severa, aumento da densidade de condrócitos e diminuição de espessura da cartilagem (Armstrong et al, 1993). Pode-se atribuir o insucesso do exercício nesse estudo a sua duração (em torno de 2 horas), pois o AGS recomenda para o exercício aeróbico na OA uma duração de em torno de 20-30 minutos, com uma progressão para 60-90 minutos (AGS, 2001).

Já no estudo de Lapveteläinen et al (2002), foi desenvolvido o exercício físico de forma não controlada, com a inserção de uma roda de corrida na gaiola do animal para sua utilização de forma voluntária. Após 15 meses, os animais apresentaram aumento do dano à cartilagem do compartimento lateral do joelho e redução do conteúdo de proteoglicanas (Lapveteläinen et al, 2002). Interessantemente, o mesmo grupo de pesquisadores descreveram numa publicação anterior resultados satisfatórios com a aplicação do mesmo tipo de exercício (Lapveteläinen et al, 2001). A única mudança significativa entre os estudos foram os modelos animais de OA utilizados.

Apesar de ambos serem modelos animais geneticamente modificados, um estudo utilizou uma mutação genética (Lapveteläinen et al, 2002) e o outro uma inativação genética (Lapveteläinen et al, 2001) para o estabelecimento da doença. Considerando que o mesmo tipo de exercício físico foi aplicado pelo mesmo grupo de pesquisadores,

uma possível explicação para essa divergência de resultados, descrita pelos próprios pesquisadores (Lapveteläinen et al, 2002), é que o fator determinante para os desfechos não foram o tipo de exercício utilizado e sim os modelos de OA utilizados, sendo um modelos de evolução lenta da OA (Lapveteläinen et al, 2001), e outro de evolução rápida da OA (Lapveteläinen et al, 2002).

Considerando ainda a prática de exercício físico não controlado na roda de corrida, Lories et al (2009) descreveu em seu estudo que a aplicação dessa modalidade de exercício físico, por 26 e 52 semanas, em modelo animal de OA do tipo geneticamente modificado, não apresentou influência nas variáveis da cartilagem articular avaliadas. Baseado nos 3 estudos que realizaram esse tipo de exercício e que todos divergiram em seus resultados, observa-se então que a prática de corrida voluntária e não controlada por modelos animais de OA possui limitações e deve ser interpretada com muita cautela para sua recomendação e estudos futuros.

De uma forma geral é importante reconhecer que a compressão da carga imposta à cartilagem articular por meio de exercícios tem grande influência na organização e fisiologia dos constituintes da matriz cartilaginosa (Arokoski et al., 2002). E que a simples recomendação da prática de exercícios físicos sem controle de parâmetros e sem evidências científicas conclusivas não é suficiente para o tratamento adequado da OA (Zangh et al, 2010).

Apesar de que somente 2 estudos avançaram na pesquisa e comparação de diferentes intensidades de exercício e encontraram resultados positivos (Yamaguchi et al, 2013; Galois et al, 2004), outros estudos também tiveram sucesso com os parâmetros escolhidos para a aplicação do exercício físico (Galois et al, 2003; Kawcak et al, 2008; Cifuentes et al, 2010; Mohammadi et al, 2012).

Cifuentes et al (2010) aplicou o exercício físico 3 vezes na semana, com velocidade de 13 m/min, com duração de 50 minutos por dia, por 8 semanas, e encontrou preservação do conteúdo de proteoglicanas nas áreas superficiais e intermediárias da cartilagem nos animais exercitados. Já Mohammadi et al (2012) aplicou o exercício físico por 5 vezes na semana, com velocidade de 18 m/min, com duração de 30 minutos por dia, por 4 semanas, e encontrou redução da taxa da profundidade das lesões da cartilagem e redução da largura da degeneração da cartilagem nos animais exercitados.

Apesar dos autores (Cifuentes et al, 2010; Mohammadi et al, 2012) não classificarem a intensidade do protocolo de exercício utilizado, os parâmetros são próximos aos utilizados por Galois et al (2004) e Yamaguchi et al (2013). Logo, baseado nos parâmetros utilizados, nos resultados satisfatórios descritos e nas recomendações da *AGS* (AGS, 2001), pode-se estabelecer também que Cifuentes et al (2010) e Mohammadi et al (2012) aplicaram exercício físico moderado em seus modelos animais.

Observa-se também que tanto Cifuentes et al (2010) quanto Mohammadi et al (2012) utilizaram o mesmo modelo animal de OA, o mesmo instrumento para realização do exercício (esteira) e o mesmo sistema de avaliação da *OARSI*. Já Galois et al (2003) e Kawcac et al (2008) também utilizaram a esteira elétrica na aplicação do exercício físico, porém com modelos de OA diferentes e sistemas de avaliações diferentes.

Galois et al (2003) submeteu seus animais a exercício físico por 5 vezes na semana, na velocidade de 30cm/s com duração diária de 30 minutos, e concluiu que o exercício físico diminuiu a severidade do modelo de OA utilizado, reduzindo as lesões histológicas e a atividade apoptótica de condrócitos. Observa-se que o mesmo grupo de pesquisadores avançou na investigação do exercício físico em modelos animais de OA

com um segundo estudo (Galois et al, 2004), que consolidou a intensidade moderada como benéfica para a cartilagem articular.

Observa-se também que a maioria dos estudos, com exceção de Kawca et al, 2008, utilizaram a avaliação histológica da cartilagem como ferramenta de avaliação do efeito do exercício aplicado. As avaliações histológicas mais utilizadas foram o sistema de graduação histológico-histoquímico de Mankin e o sistema de avaliação histológico da OARSI. Destaca-se que a avaliação histológica da cartilagem articular é considerada uma das principais ferramentas na identificação da severidade da osteoartrite (OA) e, conseqüentemente, no respectivo sucesso de seu tratamento (Gerwin et al, 2010). Esta avaliação deve ter sensibilidade para detectar os efeitos de diferentes tratamentos para a OA e reprodutibilidade entre os diferentes pesquisadores da área (Aigner et al, 2010).

Por fim, Kawcac et al (2008) aplicou o exercício aeróbico em esteira elétrica 5 vezes na semana em cavalos, que consista em um trote inicial por 2 minutos (16-19 Km/h), um galope de 2 minutos (32 km/h por 2 minutos) e um trote final igual ao inicial. Esse autor utilizou exames de imagem para investigar os efeitos do exercício em seu modelo animal e encontrou edema ósseo, osteófitos e osteólise do osso sub-condral nas articulações dos animais não treinados em comparação aos treinados (Kawcac et al, 2008) Portanto, os parâmetros utilizados geraram uma resposta positiva para a cartilagem articular.

A escolha dos parâmetros adequados é a maior dificuldade na prescrição de exercício físico na OA (Duarte et al, 2013). Apesar da Sociedade Brasileira de Reumatologia (Coimbra et al, 2002) e o ACR (Hochberg et al, 2012) recomendarem o exercício físico no tratamento da OA, ambos não exploram os parâmetros do exercício. Somente a AGS descreve especificamente os parâmetros recomendados, sendo o exercício aeróbico preconizado com 40-60% da capacidade aeróbica máxima, com uma

progressão de 20-30 minutos diários para 60-90 minutos diários, com uma frequência de 3-5 vezes na semana. Já o exercício resistido é preconizado com uma intensidade de 40-60% de uma repetição máxima, com 6-8 repetições diárias, 2 -3 vezes por semana (AGS, 2001).

Observa-se que a maioria dos estudos avaliados nessa revisão que tiveram bons resultados, utilizaram parâmetros próximos aos preconizados pela AGS para o exercício aeróbico. Apesar das recomendações da AGS serem para humanos com OA, a extrapolação de evidências científicas de estudos com humanos para animais e vice-versa é recomendada. Porém muitas vezes esse processo é difícil. Para facilitar esse processo, os pesquisadores que utilizam modelos experimentais envolvendo exercício devem investir seus esforços para que seus achados possam ser aplicados em indivíduos com doenças crônicas. (Gobatto & Gobatto 2011).

#### **4.5. CONCLUSÃO**

Pode-se concluir que o exercício físico em modelos animais de OA, apesar de pouco investigado, apresentam bons resultados no controle da evolução da doença. Os estudos demonstraram um único tipo de exercício aplicado, o aeróbico. Portanto, todos os protocolos de exercício físico avaliados devem ser considerados e suas implicações clínicas exploradas, porém também se recomenda para novos estudos a utilização de diferentes exercícios físicos em modelos animais de OA, como o exercício resistido.

#### 4.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Kim BJ, Kim DW, Kim SH, Cho JH, Lee HJ, Park DY, Park SR, Choi BH, Min BH. Establishment of a reliable and reproducible murine osteoarthritis model. *Osteoarthritis Cartilage* 2013; 21(12):2013-20

Hinman RS, Bennell KL, Metcalf BR, Crossley, KM. Balance impairments in individuals with symptomatic knee osteoarthritis: a comparison with matched control using clinical tests. *Rheumatology* 2002; 41: 1388 – 1394.

Santos, MLAS. Muscle strength, muscle balance, physical function and plasma interleukin-6 (IL-6) levels in elderly women with knee osteoarthritis (OA). *Archives of Gerontology and Geriatrics*, v. 52, n. 3, p. 322-326, May-Jun 2011

Bennell KL, Rana S, Hinman RS. A review of the clinical evidence for exercise in osteoarthritis of the hip and knee. *Journal of Science and Medicine in Sport* 14: 4–9, 2011.

Aigner, T; Soeder, S; Haag, J. IL-1 and BMPs: Interactive players of cartilage matrix degradation and regeneration. *Eur Cell Mater* 12: 49-56, 2006.

Roos EM. Joint injury causes knee osteoarthritis in young adults. *Curr Opin Rheumatol*, v. 17, p.195-200, 2005.

Zhang, W. OARSI recommendations for the management of hip and knee osteoarthritis, Part II: OARSI evidence-based, expert consensus guidelines. *Osteoarthritis and Cartilage* (2008) 16, 137-162.

Hochberg MC, Altman RD, April KT, American College of Rheumatology 2012 Recommendations for the Use of Nonpharmacologic and Pharmacologic Therapies in Osteoarthritis of the Hand, Hip, and Knee. *Arthritis Care & Research*, Vol. 64, No. 4, pp 465–474, 2012.

Zhang W, Nuki G, Moskowitz RW, Abramson S, et al. (2010). 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 and Cartilage* 18(4):476-99.

Coimbra IB, Pastor EH, Greve JMA, Puccinelli MLC, Fuller R, Cavalcanti FS, Flávio Maciel FMB, Honda E (2002). Consenso Brasileiro para tratamento da osteoartrite (artrose). *Revista Brasileira de Reumatologia*. 42 (6): 371-374.

Bendele, A.M. Animals models of osteoarthritis. *J. Musculoskel Neuron Interact* 1 (4): 363-376, 2001.

Gobatto, CA; Gobatto, FBM. Aplicações de modelos experimentais envolvendo exercício físico no âmbito das políticas públicas: Ações bilaterais entre pesquisa e prática. In: Gustavo Luis Gutierrez, Roberto Vilarta, Roberto Teixeira Mendes. (Org.). *Políticas Públicas, Qualidade de Vida e Atividade Física*. 1ed.Campinas: IPES, , v. 1, p. 35-44, 2011.

Duarte VS, Santos ML, Rodrigues KA, Ramires JB, Arêas GPT, Borges GF. Exercícios físicos e osteoartrose: uma revisão sistemática. *Fisioter. Mov*, v. 26, n. 1, p. 193-202, 2013.

Armstrong SJ, Read RA, Ghosh P, Wilson DM. Moderate exercise exacerbates the osteoarthritic lesions produced in cartilage by meniscectomy: a morphological study. *Osteoarthritis Cartilage*. 1993; 1(2):89-96.

Lapveteläinen T, Hyttinen M, Lindblom J, Långsjö TK, Sironen R, Li SW, Arita M, Prockop DJ, Puustjärvi K, Helminen HJ. More knee joint osteoarthritis (OA) in mice after inactivation of one allele of type II procollagen gene but less OA after lifelong voluntary wheel running exercise. *Osteoarthritis Cartilage*. 2001; 9(2):152-60.

Lapveteläinen T, Hyttinen MM, Säämänen AM, Långsjö T, Sahlman J, Felszeghy S, Vuorio E, Helminen HJ. Lifelong voluntary joint loading increases osteoarthritis in mice housing a deletion mutation in type II procollagen gene, and slightly also in non-transgenic mice. *Ann Rheum Dis*. 2002; 61(9):810-7.

Galois L, Etienne S, Grossin L, Cournil C, Pinzano A, Netter P, Mainard D, Gillet P. Moderate-impact exercise is associated with decreased severity of experimental osteoarthritis in rats. *Rheumatology (Oxford)*. 2003 May;42(5):692-3; author reply 693-4.

Galois L, Etienne S, Grossin L, Watrin-Pinzano A, Cournil-Henrionnet C, Loeuille D, Netter P, Mainard D, Gillet P. Dose-response relationship for exercise on severity of experimental osteoarthritis in rats: a pilot study. *Osteoarthritis Cartilage*. 2004; 12(10):779-86.

Kawcak CE. Effects of exercise vs experimental osteoarthritis on imaging outcomes. *Osteoarthritis and Cartilage* (2008) 16, 1519-1525.

Lories RJ, Peeters J, Szlufcik K, Hespel P, Luyten FP. Deletion of frizzled-related protein reduces voluntary running exercise performance in mice. *Osteoarthritis Cartilage*. 2009; 17(3):390-6.

Cifuentes DJ, Rocha LG, Silva LA, Brito AC, Rueff-Barroso CR, Porto LC, Pinho RA. Decrease in oxidative stress and histological changes induced by physical exercise calibrated in rats with osteoarthritis induced by monosodium iodoacetate. *Osteoarthritis Cartilage*. 2010; 18(8):1088-95.

Mohammadi MF, Moghaddam AH, Mirkarimpur H. The Effects of a Moderate Exercise Program on Knee Osteoarthritis in Male Wistar Rats. *Iran J Basic Med Sci*. 2013; 16(5): 683–688.

Yamaguchi S, Aoyama T, Ito A, Nagai M, Iijima H, Zhang X, Tajino J, Kuroki H. Effects of exercise level on biomarkers in a rat knee model of osteoarthritis. *J Orthop Res*. 2013; 31(7):1026-31.

American Geriatric Society (2001) Exercise prescription for older adults with osteoarthritis pain: consensus practice recommendations. A supplement to the AGS Clinical Practice

Guidelines on the management of chronic pain in older adults. **J Am Geriatr Soc.** 49(6):808-23.

Arokoski JP, Jurvelin JS, Väätäinen U, Helminen HJ. Normal and pathological adaptations of articular cartilage to joint loading. *Scand J Med Sci Sports.* 2000; 10(4):186-98.

Franciozi CES, Gradual strenuous running regimen predisposes to osteoarthritis due to cartilage cell death and altered levels of glycosaminoglycans. *Osteoarthritis and Cartilage* 21, 965-972, 2013.

## 5. ESTUDO II

---

**INFLUÊNCIA DO FORTALECIMENTO MUSCULAR NA OSTEOARTRITE  
DE JOELHO DE RATOS SEGUNDO AS RECOMENDAÇÕES PARA A  
AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA DA OARSI (*OSTEOARTHRITIS RESEARCH  
SOCIETY INTERNATIONAL*).**

**VASILCEAC, FERNANDO AUGUSTO<sup>1</sup>; SOUZA, MARIANA CARVALHO<sup>1</sup>;  
MATTIELLO, STELA MÁRCIA<sup>1</sup>.**

<sup>1</sup> *Departamento de Fisioterapia da Universidade Federal de São Carlos, São Carlos,  
SP, Brasil.*

**OBSERVAÇÃO:** *O manuscrito a ser avaliado foi submetido ao periódico Archives of  
Physical Medicine Rehabilitation (A1 – Área 21 CAPES; JCR = 2.358).*

## RESUMO

**Objetivo:** O objetivo desse estudo foi investigar a influência do fortalecimento muscular na osteoartrite (OA) de joelho de ratos, segundo as recomendações da *OARSI* (*Osteoarthritis Research Society International*) para a avaliação histológica. **Método:** 36 ratos foram divididos igualmente em 6 grupos: Controle (C), Osteoartrite (OA), Sham (S), Exercício (E), Osteoartrite e exercício (OAE), Sham e Exercício (SE). Os grupos E, OAE e SE foram submetidos a 8 semanas do protocolo de fortalecimento muscular. Ao final do experimento, as articulações do joelho de todos os ratos foram coletadas, processadas em parafina e as lâminas confeccionadas foram coradas com Hematoxilina e Eosina para a avaliação histológica segundo as recomendações da *OARSI*. Os dados foram avaliados pelo teste *ANOVA* seguido do teste Post Hoc Tukey para a comparação intergrupos da avaliação histológica. Foi adotado um nível de significância de 5%. **Resultado:** Os grupos OA e S apresentaram os maiores valores para lesão da cartilagem, medidas da extensão da degeneração, presença de osteófitos e dano a camada calcificada e osso sub-condral, quando comparados aos outros grupos. Em todos os itens avaliados, os grupos OAE e SE apresentaram menores valores para a avaliação histológica que os grupos OA e S. **Conclusão:** O exercício de fortalecimento muscular exerceu uma influência positiva nas alterações histológicas da OA em ratos, refletindo numa proteção ao tecido em processo de degeneração. Tornou a evolução da doença mais lenta, com menor extensão da degeneração e lesão da cartilagem. As recomendações da *OARSI* foram fundamentais para a investigação do efeito de uma intervenção na OA de joelho de ratos.

**PALAVRAS-CHAVES:** Osteoartrite; Exercício; Cartilagem; Histologia.

## 5.1. INTRODUÇÃO

Segundo Consenso Brasileiro para tratamento da osteoartrite (OA), o exercício de fortalecimento muscular é indicado para o tratamento não farmacológico da OA (Coimbra et al, 2002). De acordo com a *OARSI (Osteoarthritis Research Society International)*, este possui nível de evidência A, em revisão que avaliou a eficiência de diferentes tratamentos para a OA de joelho (Zhang et al, 2010). O ganho de força muscular, a redução da dor e a melhora da função física são seus principais benefícios (Bennel, Hinman, 2011; Lange et al, 2008).

Foi descrito em uma revisão sobre como o exercício atua na OA de joelho que o fortalecimento muscular gera incremento de força para a musculatura ao redor da articulação, reestabelecendo a estabilidade do complexo articular afetado (Beckwée et al, 2013). Já sob o ponto de vista intrínseco, a aplicação de cargas na cartilagem articular proporcionada pelo exercício, gera deformação dos constituintes da matriz extracelular, afetando o fluxo dos fluidos intracelulares e o transporte de fatores solúveis e nutrientes, desencadeando assim cascatas de sinalização intracelulares pelos condrócitos, levando a alterações de síntese das macromoléculas como proteoglicanas e colágeno (Brandt, Doherty, Lohmander, 2003).

As recomendações do fortalecimento muscular para indivíduos com OA de joelho devem seguir as diretrizes de sociedades internacionais nas áreas de pesquisa da OA. A *American Geriatrics Society (AGS)* preconiza para o tratamento da OA em humanos um protocolo de exercício de fortalecimento muscular com intensidade de 40-60% da resistência máxima (RM), com 8-10 repetições com frequência de 2-3 dias por semana (AGS, 2001). Já as diretrizes do *American College of Sports Medicine (ACSM)* para o fortalecimento muscular de idosos e indivíduos não treinados, ambos saudáveis,

referem-se a uma intensidade de 40-50% da RM, 10-15 repetições (com intervalo de 2-3 minutos por repetição), sendo 1 única sessão com frequência de 2-3 dias por semana com um intervalo de 48 horas entre cada sessão, com progressão de carga (Garber et al, 2011) Logo, não há um consenso em relação ao protocolo ideal, sendo a escolha dos parâmetros mais adequados uma das maiores dificuldades na prescrição de fortalecimento muscular na OA (Bennel, Hinman, 2011).

Como descrito em diferentes revisões, o fortalecimento muscular tem sido bastante aplicado na OA de joelho em humanos, (Bennel, Hinman, 2011; Zhang et al, 2010; Lange et al, 2008). Porém, sua aplicação em modelos de OA em ratos ainda não foi estudada. Foi encontrada na literatura apenas a aplicação de protocolos de exercício aeróbico em modelos de OA em ratos (Yamaguchi et al, 2013; Cifuentes et al, 2010; Galois et al, 2004). Todos os autores estudaram a aplicação de corrida de intensidade moderada, mostrando bons resultados, como a redução da apoptose de condrócitos (Galois et al, 2004), a diminuição da expressão de biomarcadores de estresse oxidativo (Cifuentes et al, 2010), e redução de diferentes alterações histológicas da cartilagem características da OA (Yamaguchi et al, 2013).

Baseado nesses estudos identifica-se uma lacuna na aplicação de exercício em modelos de OA em rato, havendo a necessidade de um estudo que aplique o exercício de fortalecimento muscular nesse modelo, tendo como partida os resultados satisfatórios com a intensidade moderada de exercício e com a investigação histológica da cartilagem (Yamaguchi et al, 2013; Cifuentes et al, 2010; Galois et al, 2004).

Destaca-se que a avaliação histológica da cartilagem articular é considerada uma das principais ferramentas na identificação da severidade da osteoartrite (OA) e, conseqüentemente, no respectivo sucesso de seu tratamento (Gerwin et al, 2010). Esta avaliação deve ter sensibilidade para detectar os efeitos de diferentes tratamentos para a

OA e reprodutibilidade entre os diferentes pesquisadores da área (Aigner et al, 2010). Na tentativa de corresponder a esses requisitos, a *OARSI* publicou recomendações para a avaliação histológica na OA de ratos, que contemplam as principais alterações da doença, sendo o primeiro sistema de avaliação histológico específico para os modelos de OA em ratos (Gerwin et al, 2010).

Diante do exposto, considerando o exercício de fortalecimento muscular indicado na OA, sua aplicação em modelos de OA em ratos parece relevante, sobretudo no que diz respeito em investigar a sua influência nas alterações histológicas da cartilagem. A utilização de uma avaliação histológica desenvolvida especificamente para esse modelo fornecerá melhores informações para o delineamento de programas de reabilitação. Logo, a hipótese desse estudo foi que nosso protocolo de exercício demonstrasse menor lesão e degeneração frente à histologia da cartilagem na OA.

## **5.2. OBJETIVO**

O objetivo desse estudo foi investigar a influência de um protocolo de exercício de fortalecimento muscular na osteoartrite de joelho de ratos, utilizando as recomendações da *OARSI* para avaliação histológica da cartilagem articular.

### **5.3. MÉTODOS**

#### **Animais**

Foram utilizados 36 ratos machos (Wistar), 4 meses de idade ( $300\pm 5.05$  g) do Biotério Central da Universidade Federal de São Carlos, que permaneceram agrupados em gaiolas plásticas, com livre acesso a água e ração. Os ratos foram mantidos no biotério do Departamento de Fisioterapia (UFSCar), com as condições ambientais controladas (luminosidade: ciclo de 12h claro/escuro). O experimento foi conduzido de acordo com recomendações éticas internacionais (National Research Council, 1996) e o projeto foi aprovado no Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de São Carlos (Parecer CEA/UFSCar n° 021/2010).

#### **Grupos Experimentais**

Os ratos foram divididos aleatoriamente em 6 grupos: Controle (C), n=6; Osteoartrite (OA), n=6; Sham (S), n=6; Exercício (E), n=6; Osteoartrite e Exercício (OAE), n=6; Sham e Exercício (SE), n=6.

#### **Fluxograma dos procedimentos experimentais**

Segue abaixo fluxograma com descrição detalhada dos procedimentos experimentais realizados no estudo (Figura 1):

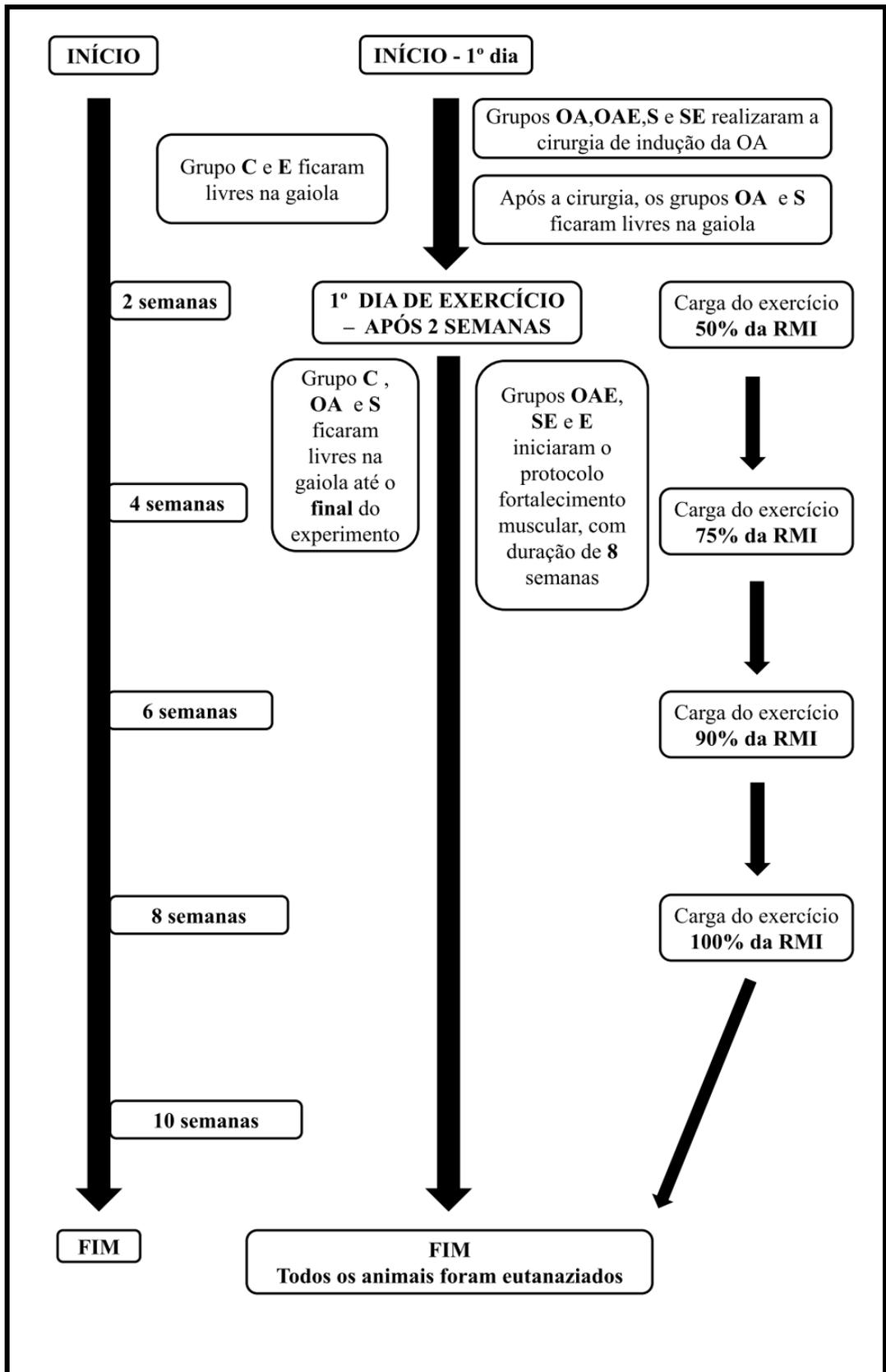


Figura 1. Fluxograma dos procedimentos experimentais.

### **Modelo de OA em rato**

O modelo de OA em rato utilizado foi o da transecção cirúrgica do ligamento cruzado anterior (LCA) do joelho (Galois et al, 2004). Os grupos OA, OAE, S e SE foram submetidos a todos os procedimentos cirúrgicos da transecção do LCA, sendo que os grupos S e SE não tiveram o LCA rompido.

### **Protocolo de fortalecimento muscular**

O protocolo de fortalecimento muscular foi adaptado de Hornberger, Farrar (2004). Os ratos escalaram uma escada vertical (1,1 x 0,18 m, degrau de 2 cm, inclinação de 80°) com uma carga presa em suas caudas. O aparato de carga foi preso à porção proximal da cauda do rato com uma fita-adesiva (Micropore®). No topo da escada os ratos alcançaram uma gaiola (20 x 20 x 20 cm), como apoio.

Inicialmente foi feita a familiarização dos ratos com o protocolo, que consistia na escalada da escada sem a carga. Os ratos que não se adaptaram à familiarização foram excluídos. Não foi realizado qualquer estímulo nocivo para realizar a escalada.

No primeiro dia do protocolo foi calculada a carga de resistência máxima inicial (RMI) de cada rato. Para isso, foi feita uma escalada inicial com 50% do peso corporal ( $\pm 150$  g), adicionando uma carga de 10% do peso corporal ( $\pm 30$  g) até o mesmo interromper a subida. A RMI foi determinada pela última carga que o rato conseguiu realizar uma escalada completa.

Os ratos fizeram 1 sessão com 1 série de 10 repetições, com 2 minutos de intervalo. Foram 3 sessões por semana, por 8 semanas. A carga do protocolo de exercício resistido foi progressiva, na seguinte evolução: 1<sup>a</sup> e 2<sup>a</sup> semana 50% da RMI, semanas 3 e 4 com 75% da RMI, 5<sup>a</sup> e 6<sup>a</sup> semana 90% da RMI, 7 e 8 semanas com 100% da RMI.

O protocolo utilizado seguiu todas as diretrizes da *American Geriatrics Society* (AGS) para a aplicação de exercícios de fortalecimento muscular no tratamento da OA (AGS, 2001) e também seguiu as recomendações para aplicação de exercícios de hipertrofia muscular em modelos animais (Lowe, Alway, 2002).

### **Processamento histológico das articulações**

Após a eutanásia dos ratos, os joelhos esquerdos foram removidos e desarticulados, separando para o estudo o côndilo femoral medial de cada articulação (Gerwin et al, 2010). O material foi fixado em formol a 10% por 3 dias e submetidos à descalcificação em ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) a 40% durante aproximadamente 30 dias. Esse material foi processado em parafina e embocado, obtendo-se um bloco para cada côndilo femoral. Posteriormente, cada bloco foi cortado no plano sagital em Micrótomo (LEICA<sup>®</sup>, Alemanha). Os 30 primeiros cortes de 6 µm foram descartados, e a partir daí, cortes de 6µm foram selecionados para a confecção das lâminas (Gerwin et al, 2010).

### **Avaliação histológica para modelo de OA em rato segundo as recomendações da OARSI**

Para a avaliação histológica segundo as recomendações da *OARSI* as lâminas foram coradas com Hematoxilina e Eosina (H.E). Foram capturadas fotomicrografias das lâminas confeccionadas, sendo utilizado o software *Axion Vision Image Analysis 4.1* (AxioLab, Carl Zeiss, Jena, Alemanha). Foram feitas fotomicrografias das lâminas por meio de um microscópio óptico (AxioLab, Carl Zeiss, Jena, Alemanha) com uma câmera digital acoplada (Sony DSCs75, Tokyo, Japão). Foram selecionados aleatoriamente 3 campos de cada imagem capturadas ao longo da extensão de cada lâmina, visualizados sob um aumento de 200 vezes. Foi utilizado o analisador de imagens *Image J* (Versão 1.45, Instituto Nacional de

Saúde, Bethesda, EUA). A avaliação foi feita por 2 avaliadores independentes e cegos quanto aos grupos avaliados.

Segue abaixo descrição das recomendações para a avaliação histológica da *OARSI* desenvolvidas em nosso estudo:

**1. Extensão da perda da matriz cartilaginosa:** Estabeleceu-se 3 regiões de profundidade: superfície (0% de profundidade); camada média (50% de profundidade) e *tidemark* (100% de profundidade). Mensurou-se em micrômetros a extensão da perda da matriz cartilaginosa de cada região.

**2. Pontuação da degeneração da cartilagem:** Estabeleceu-se 3 zonas iguais na cartilagem, partindo da margem exterior até a margem interior da cartilagem (zona exterior; zona central, zona interior). Calculou-se a área total de cada zona e a área de degeneração de cada zona. Por fim dividiu-se a área da degeneração pela área total, obtendo um valor em porcentagem que foi convertido em uma pontuação de 0-5 segundo tabela abaixo (Tabela 1).

**Tabela 1.** Pontuação da degeneração da cartilagem:

AVALIAÇÃO	PONTUAÇÃO
Sem degeneração	0
Mínima degeneração (5-10% de redução de matriz ou condrócitos)	1
Média degeneração (11-25% de redução de matriz ou condrócitos)	2
Moderada degeneração (26-50% de redução de matriz ou condrócitos)	3
Acentuada degeneração (51-75% de redução de matriz ou condrócitos)	4
Severa degeneração (> 75% de redução de matriz ou condrócitos)	5

**3. Extensão total da degeneração da cartilagem:** Estabeleceu-se a extensão total da cartilagem em micrômetros para posterior mensuração da extensão total, em micrômetros, da região de maior degeneração da cartilagem. Dividiu-se a medida da

extensão da degeneração pela extensão total da cartilagem, obtendo um valor em porcentagem.

**4. Extensão da degeneração significativa da cartilagem:** Essa medida foi feita da mesma forma do item anterior, sendo que somente deveria ser feita se a degeneração da cartilagem atingisse uma profundidade maior que 50%, segundo avaliação da extensão da perda da matriz cartilaginosa (item 1).

**5. Taxa de profundidade das lesões por zona da cartilagem:** Estabelecida as 3 zonas da cartilagem (item 2), mensurou-se a profundidade em micrômetros de cada zona e a profundidade da degeneração da cartilagem de cada zona (partindo-se do ponto central da zona). Obteve-se um valor em porcentagem da profundidade de lesão de cada zona dividindo a profundidade da lesão pela profundidade total da zona.

**6. Osteófitos:** O maior osteófito encontrado pelo observador em cada corte foi mensurado em micrômetros (partiu-se do ponto mais profundo da sua base na junção osteocondral até a superfície da cartilagem subjacente ao seu ponto mais espesso) e foi classificado segundo tabela abaixo (Tabela 2):

**Tabela 2.** Classificação osteófitos:

<b>OSTEÓFITOS</b>	<b>PONTUAÇÃO</b>
Marginais (< 200 $\mu\text{m}$ )	<b>0</b>
Pequenos (<200-299 $\mu\text{m}$ )	<b>1</b>
Moderados(300-399 $\mu\text{m}$ )	<b>2</b>
Grandes (400-499 $\mu\text{m}$ )	<b>3</b>
Muitos grandes (= 500 $\mu\text{m}$ )	<b>4</b>

**7. Pontuação do dano da cartilagem calcificada e osso sub-condral:** Por meio de uma avaliação qualitativa, classificou-se o dano da cartilagem calcificada e osso sub-condral segundo tabela abaixo (Tabela 3):

**Tabela 3.** Pontuação cartilagem calcificada e osso sub-condral

AVALIAÇÃO	PONTUAÇÃO
Nenhuma alteração	0
Basofília aumentada em <i>tidemark</i> , ausência de fragmentação do <i>tidemark</i> , nenhuma alteração da medula ou, se presente, mínima e focal.	1
Basofília aumentada em <i>tidemark</i> , fragmentação da <i>tidemark</i> de mínima para moderada, mudança mesenquimais da medula (células fibroblásticas) envolvendo cerca de ¼ da região sub-condral, aumento da espessura do osso sub-condral.	2
Basofília aumentada em <i>tidemark</i> , fragmentação da <i>tidemark</i> de moderada para acentuada (múltiplas áreas) com redução do osso sub-condral, mudança mesenquimais da medula envolvendo cerca de ¾ da área total, áreas de condrogênese medular podendo ser evidente, mas sem grande colapso de cartilagem articular do osso epifisário.	3
Basofília aumentada em <i>tidemark</i> , fragmentação da camada calcificada de acentuada para severa, mudança mesenquimais da medula envolvendo mais de ¾ da área, cartilagem articular entrou em colapso na epífise a uma profundidade de 250 µm ou menos de <i>tidemark</i> .	4
Basofília aumentada em <i>tidemark</i> , fragmentação da camada calcificada de acentuada para severa, mudança mesenquimais da medula envolvendo mais de ¾ da área, cartilagem articular entrou em colapso na epífise a uma profundidade superior a 250 µm da <i>tidemark</i> .	5

### **Processamento estatístico dos dados**

Os dados foram analisados por meio do software *Statistica*<sup>®</sup> *Software* (versão 7, StatSoft, Inc., Tulsa, USA). Inicialmente foi feita a estatística descritiva (média e desvio padrão). Foi calculado o coeficiente de correlação intra-classe (CCI) entre os observadores. Aplicou-se o teste de Shapiro-Wilk para a verificação da normalidade dos dados. Como os dados apresentaram distribuição normal, foi aplicado o teste ANOVA (*Analysis of Variance*), seguido do teste Post Hoc Tukey para a comparação intergrupos. Para todos os testes estatísticos foi considerado o nível de significância de 5% ( $p \leq 0.05$ ).

## 5.4. RESULTADOS

### **Reprodutibilidade das avaliações**

O coeficiente de correlação intra-classe (ICC) foi calculado para todos os itens da avaliação histológica segundo as recomendações da *OARSI*, mostrando excelente correlação entre os avaliadores desse estudo (Tabela 4):

**Tabela 4.** Coeficiente de correlação intra-classe e intervalo de confiança entre os avaliadores para cada item da avaliação:

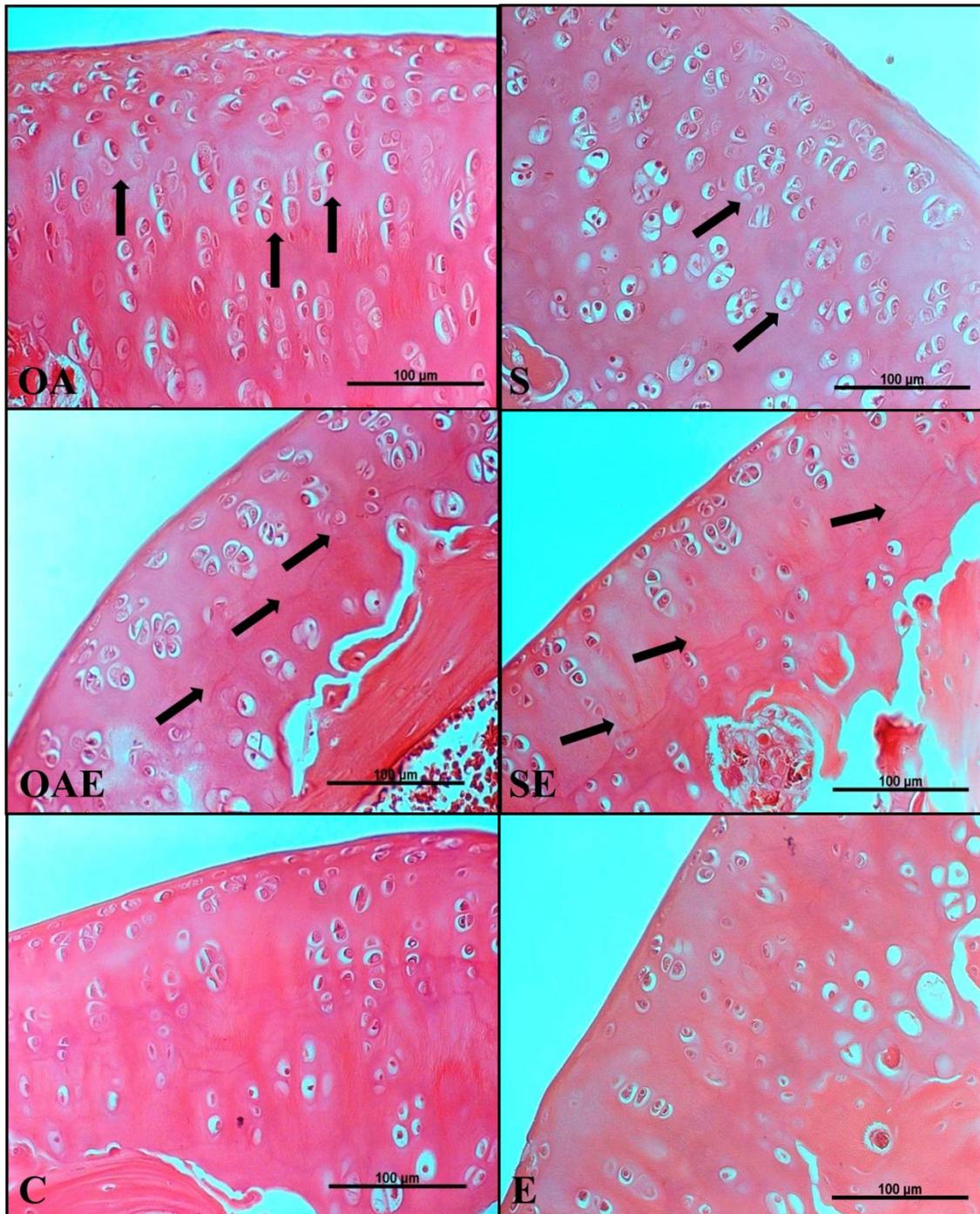
<b>Itens da Avaliação Histológica</b>	<b>ICC (95% IC)</b>
1. Extensão da perda da matriz cartilaginosa	0.78 (0.71 - 0.85)
2. Pontuação da degeneração da cartilagem	0.80 (0.70 - 0.90)
3. Extensão total da degeneração da cartilagem	0.81 (0.74 – 0.89)
4. Extensão significativa da degeneração da cartilagem	0 *
5. Taxa de profundidade de lesões por zona	0.78 (0.72-0.94)
6. Osteófitos	0.77 (0.69-0.86)
7. Dano à cartilagem calcificada e osso sub-condral	0.91 (0.83-0.98)

*ICC = coeficiente de correlação intra-classe; IC = intervalo de confiança.*

*\* O valor do ICC foi zero, pois essa análise apresentou pontuação 0 (zero) para ambos avaliadores.*

### **Avaliação comparativa dos dados da avaliação histológica entre os grupos**

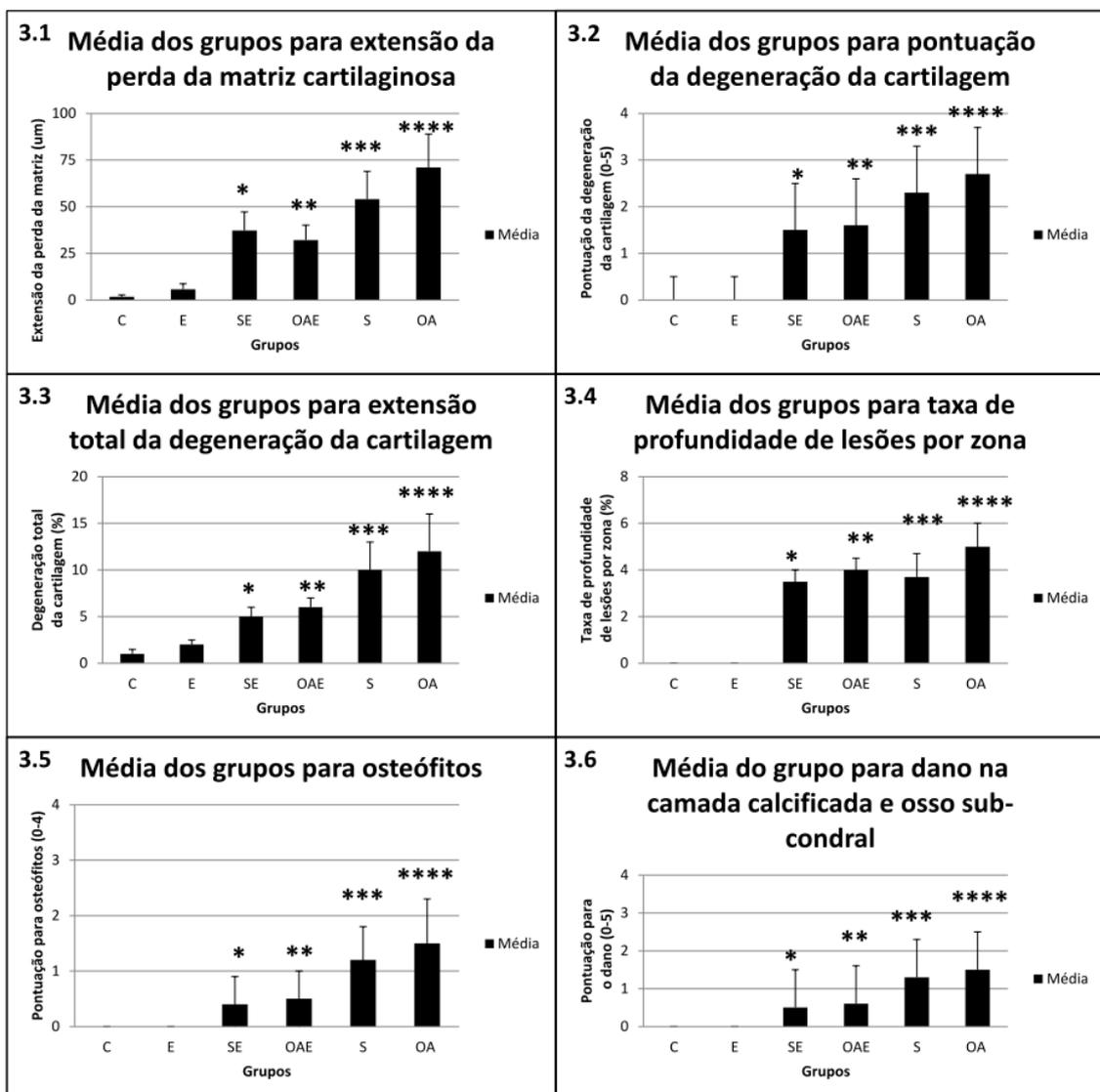
As lâminas coradas com H.E. para a avaliação histológica dos grupos pode ser visualizada abaixo (Figura 2).



**Figura 2.** Fotomicrografias das lâminas coradas com H.E. Nos grupos **OA** e **S** podem-se observar hiper celularidade e migração celular para a superfície (setas), característico da OA. Nos grupos **OAE** e **SE** se observa avanço discreto da tidemark para as camadas superiores (setas) e também se observam a proliferação celular, porém com menor intensidade de que os grupos **OA** e **S**. Nos grupos **C** e **E** observam-se atividade celular considerada normal (Barra = 100µm; Aumento de 100x).

Dos 7 itens aplicados em nosso estudo, somente o item “extensão da degeneração significativa da cartilagem (nº 4)” apresentou graduação nula para todos os grupos, ou seja, todos os grupos apresentaram 0% para essa avaliação.

Os grupos OA e S apresentaram os maiores valores para as medidas da extensão da degeneração, pontuação da degeneração da cartilagem, extensão da perda da matriz, taxa da profundidade das lesões, presença de osteófitos e pontuação para o dano a camada calcificada e osso sub-condral, quando comparados aos outros grupos. Em todos os itens avaliados, os grupos OAE e SE apresentaram menores valores para a avaliação histológica que os grupos OA e S. O grupo C e E não apresentaram diferença entre as análises (Figura 3).



**Figura 3:** Representação gráfica da média dos grupos para cada item avaliação histológica segundo as recomendações da OARSI:

**3.1 Extensão da Perda da Matriz Cartilaginosa** \* SE e C ( $p=0.01$ ); SE e E ( $p=0.02$ ); \*\* OAE e C ( $p=0.02$ ); OAE e E ( $p=0.02$ ); \*\*\* S e C ( $p=0.01$ ); S e E ( $p=0.01$ ); S e OAE ( $p=0.02$ ); S e SE ( $p=0.01$ ); \*\*\*\*OA e C ( $p=0.01$ ); OA e E ( $p=0.01$ ); OA e OAE ( $p=0.02$ ); OA e SE ( $p=0.01$ );

**3.2 Pontuação da Degeneração da Cartilagem** \* SE e C ( $p=0.01$ ); SE e E ( $p=0.02$ ); \*\* OAE e C ( $p=0.02$ ); OAE e E ( $p=0.02$ ); \*\*\* S e C ( $p=0.01$ ); S e E ( $p=0.01$ ); S e OAE ( $p=0.02$ ); S e SE ( $p=0.01$ ); \*\*\*\*OA e C ( $p=0.01$ ); OA e E ( $p=0.01$ ); OA e OAE ( $p=0.02$ ); OA e SE ( $p=0.01$ );

**3.3 Extensão Total da Degeneração da Cartilagem** \* SE e C ( $p=0.01$ ); SE e E ( $p=0.03$ ); \*\* OAE e C ( $p=0.01$ ); OAE e E ( $p=0.02$ ); \*\*\* S e C ( $p=0.01$ ); S e E ( $p=0.01$ ); S e OAE ( $p=0.02$ ); S e SE ( $p=0.01$ ); \*\*\*\*OA e C ( $p=0.01$ ); OA e E ( $p=0.01$ ); OA e OAE ( $p=0.03$ ); OA e SE ( $p=0.01$ );

**3.4 Taxa de Profundidade de Lesões por Zona** \* SE e C ( $p=0.01$ ); SE e E ( $p=0.01$ ); \*\* OAE e C ( $p=0.01$ ); OAE e E ( $p=0.01$ ); \*\*\* S e C ( $p=0.01$ ); S e E ( $p=0.01$ ); S e OAE ( $p=0.03$ ); S e SE ( $p=0.04$ ); \*\*\*\*OA e C ( $p=0.01$ ); OA e E ( $p=0.01$ ); OA e OAE ( $p=0.04$ ); OA e SE ( $p=0.03$ );

**3.5 Osteófitos** \* SE e C ( $p=0.01$ ); SE e E ( $p=0.01$ ); \*\* OAE e C ( $p=0.01$ ); OAE e E ( $p=0.01$ ); \*\*\* S e C ( $p=0.01$ ); S e E ( $p=0.01$ ); S e OAE ( $p=0.01$ ); S e SE ( $p=0.01$ ); \*\*\*\*OA e C ( $p=0.01$ ); OA e E ( $p=0.01$ ); OA e OAE ( $p=0.01$ ); OA e SE ( $p=0.01$ );

**3.6 Pontuação para dano a camada calcificada e osso sub-condral** \* SE e C ( $p=0.01$ ); SE e E ( $p=0.01$ ); \*\* OAE e C ( $p=0.01$ ); OAE e E ( $p=0.01$ ); \*\*\* S e C ( $p=0.01$ ); S e E ( $p=0.01$ ); S e OAE ( $p=0.01$ ); S e SE ( $p=0.01$ ); \*\*\*\*OA e C ( $p=0.01$ ); OA e E ( $p=0.01$ ); OA e OAE ( $p=0.01$ ); OA e SE ( $p=0.01$ );

## 5.5. DISCUSSÃO

O principal resultado desse estudo foi que o exercício de fortalecimento muscular proposto mostrou influenciar as alterações histológicas de modelo de OA em ratos, reduzindo os achados frente à lesão e degeneração do tecido. Seu efeito na histologia da cartilagem articular reflete um possível retardo na progressão da doença.

Como a OA é considerada uma condição irreversível, a aplicação de exercícios deve ser considerada como uma alternativa segura (Zhang et al, 2008), podendo ser uma das opções no tratamento da OA (Beckwée et al, 2013). Porém, o que limita a aplicação de exercícios é a divergência sobre os parâmetros referentes à intensidade, frequência de duração, os quais se espera que sejam seguros e efetivos para os diferentes estágios de lesão da doença (Bennel, Hinman, 2011).

Os parâmetros utilizados na elaboração do protocolo de exercício de fortalecimento muscular proposto neste estudo (1 série de 10 repetições, 3 vezes na semana por 8 semanas, com progressão de carga gradual) buscou adaptar as recomendações da *American Geriatrics Society* (AGS, 2001), e *American College of Sports Medicine* (Garber et al, 2011), além de seguir e recomendações de hipertrofia muscular para animais (Lowe, Alway, 2002). Segundo revisão de Lowe, Alway, 2002, que explora a relevância clínica em humanos da aplicação de exercícios realizados em animais para a indução da hipertrofia muscular, o fortalecimento muscular em animais apresenta vantagens devido a sua similaridade com parâmetros de protocolos utilizados em humanos, possibilidade de reprodução de medidas de hipertrofia muscular (area de secção transversa, por exemplo) e resultados funcionais de fácil interpretação (como dor ou marcha), estabelecendo implicações para a investigação dessa modalidade de exercício em humanos (Lowe, Alway, 2002).

Segundo o *American College of Sports Medicine* (Garber et al, 2011), a intensidade de nosso exercício (50% da RM, com progressão gradual de 75-100%) pode ser classificada como leve ou moderada. Podemos atribuir os resultados satisfatórios de nosso estudo baseado nessa classificação de intensidade do exercício e também relacioná-los com os estudos que tiveram bons resultados com a aplicação de exercício aeróbico em modelos animais de OA, pois esses estudos também recomendam a intensidade de leve à moderada em seus protocolos de exercício. (Yamaguchi et al, 2013; Galois et al, 2004). Em ambos os estudos a avaliação histológica também foi utilizada para interpretação da influência do exercício na cartilagem articular, porém em nenhum estudo foi utilizado às recomendações da *OARSI* para a avaliação histológica.

A maioria dos estudos que investiga as alterações histológicas na OA utiliza o sistema de graduação histológica de Mankin (Mankin et al, 1971) em seu formato original ou modificado (Gerwin et al, 2010). O sistema de Mankin é composto por 4 itens de avaliam qualitativamente as irregularidades e fibrilações da superfície da cartilagem, celularidade, ortocromasia para Safranina (presença de proteoglicanas) e integridade da *tidemark* (Mankin et al, 1971). Apesar de ser um sistema de fácil aplicação e de alta reprodutibilidade entre avaliadores (Custer et al, 2007), sua avaliação possui limitações como: avalia somente alterações da cartilagem articular, não envolvendo outros tecidos; não possui nenhuma medida morfométricas da cartilagem; foi desenvolvida em OA severa de humanos, não sendo validada para ratos (Mankin et al, 1971). No entanto, a avaliação histológica utilizada em nosso estudo contempla todas essas limitações, o que fortalece nossos resultados.

Podemos estabelecer que a utilização de uma ferramenta específica para nosso modelo animal foi de fundamental importância na interpretação dos resultados. A avaliação histológica segundo as recomendações da *OARSI* contemplou aspectos

referentes à degeneração da matriz cartilaginosa, como a extensão da degeneração, a profundidade e a porcentagem total da lesão. Assim como, mostrou a presença de osteófitos e alterações da camada calcificada e do osso sub-condral (Gerwin et al, 2010).

Dos 7 itens avaliados, 6 itens ou em torno de 86% das análises foram capazes de mostrar a influência de uma intervenção na evolução da OA. Todos esses itens apresentaram alta correlação entre os avaliadores. No estudo de Gerwin et al, 2010, que publicou as recomendações da *OARSI*, é descrito uma alta correlação entre os avaliadores (no estudo ele classifica como novatos e experientes) para a maioria dos itens, com exceção do item referente à pontuação da degeneração da cartilagem e o item referente à extensão total da degeneração da cartilagem. Mesmo assim, o autor reforça a especificidade das recomendações e sugere a utilização da avaliação histológica elaborada para qualquer pesquisador da área, independente de sua experiência com medidas de histologia da cartilagem (Gerwin et al, 2010).

Outro ponto a ser discutido é o resultado referente ao grupo S, que apresentou similaridade ao grupo OA em toda avaliação aplicada. Atribui-se esse achado aos fatores secundários a cirurgia de indução da OA, como luxação patelar, ruptura da cápsula articular e extravasamento de líquido sinovial. Apesar de nosso modelo de OA ser resultado da ruptura do LCA, acredita-se que esses fatores favoreceram o desenvolvimento da OA no grupo submetido apenas ao procedimento cirúrgico. Além disso, é descrito na literatura que um estímulo irritativo no complexo articular pode estimular os sinoviócitos a secretarem mediadores pró-inflamatórios como a interleucina-1 alfa e beta (IL-1 $\alpha$  e IL-1 $\beta$ ) e o fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), que estimularam os condrócitos a sintetizar e secretar proteases, iniciando todo o processo lesivo na OA (Goldring, Goldring, 2004; Goldring 2000).

Reforçamos que nossos achados devem ser interpretados com cautela devido há uma limitação que encontramos no desenvolvimento do estudo, que foi a não avaliação da área de secção transversa da musculatura ao redor da articulação do joelho dos ratos. Apesar dos estudos que nos baseamos para a formulação do protocolo de exercício descreverem incremento de força e hipertrofia muscular nos animais (Hornberg, Farrar, 2004; Lowe, Alway, 2002), essa medida reforçaria nossos resultados relacioandos ao fortalecimento muscular executado. Para estudos futuros, recomenda-se então a avaliação da hipertrofia do tecido muscular.

## **5.6. CONCLUSÃO**

O protocolo de exercício de fortalecimento muscular proposto no presente estudo exerceu uma influência positiva nas alterações histológicas da OA em ratos, refletindo numa proteção ao tecido em processo de degeneração. A utilização de fortalecimento muscular na OA tornou a evolução da doença mais lenta, com menor extensão da degeneração e lesão da cartilagem. Por fim, a avaliação histológica segundo as recomendações da *OARSI* mostrou ser uma ferramenta sensível, reprodutível e indicada para investigação do efeito de uma intervenção nas características da cartilagem na OA de joelho de ratos.

## 5.7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Coimbra IB, Pastor EH, Greve JMA, Puccinelli MLC, Fuller R, Cavalcanti FS, Flávio Maciel FMB, Honda E (2002). Consenso Brasileiro para tratamento da osteoartrite (artrose). **Revista Brasileira de Reumatologia**. 42 (6): 371-374.

Zhang W, Nuki G, Moskowitz RW, Abramson S, et al. (2010). 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 and Cartilage** 18(4):476-99.

Bennell KL, Rana S, Hinman RS. (2011) A review of the clinical evidence for exercise in osteoarthritis of the hip and knee. **Journal of Science and Medicine in Sport** 14: 4–9.

Lange AK, Vanwanseele B, Singh MAF (2008) Strength Training for Treatment of Osteoarthritis of the Knee: A Systematic Review **Arthritis & Rheumatism (Arthritis Care & Research)** (59) 1488-1494.

Beckwée D, Vaes P, Cnudde M, Swinnen E, Bautmans I (2013). Osteoarthritis of the knee: Why does exercise work? A qualitative study of the literature. **Ageing Research Reviews** 12: 226–236.

Brandt KD, Doherty M, Lohmander LS. **Osteoarthritis** (2003) Second Edition Oxford University Press, New York.

American Geriatric Society (2001) Exercise prescription for older adults with osteoarthritis pain: consensus practice recommendations. A supplement to the AGS Clinical Practice Guidelines on the management of chronic pain in older adults. **J Am Geriatr Soc**. 49(6):808-23.

Garber CE, Blissmer, Deschenes MR, Franklin BA, Lamonte MJ, Lee IM, Nieman DC, Swain DP (2011) Quantity and Quality of Exercise for Developing and Maintaining Cardiorespiratory, Musculoskeletal, and Neuromotor Fitness in Apparently Healthy Adults: Guidance for Prescribing Exercise. **Medicine & Science in Sports & Exercise** 1334-1359.

Yamaguchi S, Aoyama T, Ito A, et al (2013) Effects of Exercise Level on Biomarkers in a Rat Knee Model of Osteoarthritis. **Journal of Orthopaedic Research**. 31(7): 1026-31.

Cifuentes DJ, Rocha LG, Silva LA, Brito AC, Rueff-Barroso CR, Porto LC, et al (2010) Decrease in oxidative stress and histological changes induced by physical exercise calibrated in rats with osteoarthritis induced by monosodium iodoacetate. **Osteoarthritis and Cartilage** (18)1088-1095.

Galois L, Etienne S, Grossin L, Watrin-pinzano A, Cournilhenrionnet C, Loeuille D, et al (2004) Dose–response relationship for exercise on severity of experimental osteoarthritis in rats: a pilot study. **Osteoarthritis and Cartilage** (12) 779-786

Gerwin N, Bendele AM, Glasson S, Carlson CS (2010). The OARSI histopathology initiative e recommendations for histological assessments of osteoarthritis in the rat. **Osteoarthritis and Cartilage** 18:24-34.

Aigner T, Cook JL, Gerwin N, Glasson SS, Lavery S, Little CB, McIlwraith W, Kraus VB (2010). Histopathology atlas of animal model systems - overview of guiding principles. **Osteoarthritis and Cartilage** 18: S2-S6.

National Research Council Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (1996) **National Academy Press**. Washington DC, USA.

Hornberger TA, Farrar RP (2008). Physiological hypertrophy of the FHL muscle following 8 weeks of progressive resistance exercise in the rat. **Can. J. Appl. Physiol** 29:16-31.

Lowe DA, Alway SE (2002). Animal models for inducing muscle hypertrophy: are they relevant for clinical applications in humans? **J Orthop Sports Phys Ther.** 32(2):36-43.

Mankin HJ, Dofman H, Lippiello L, Zarins A (1971). Biochemical and metabolic abnormalities in articular cartilage from osteoarthritic human hips. II. Correlation of morphology with biochemical and metabolic data. **J Bone Joint Surg Am** 53:523-37

Custer RJ, Creemers LB, Verbout AJ, van Rijen MH, Dhert WJ, Saris DB (2007) Reliability, reproducibility and variability of the traditional histologic/histochemical grading system vs the new OARSI Osteoarthritis Cartilage histopathology assessment system. **Osteoarthritis Cartilage** 15(11):1241–1248

Goldring SR, Goldring MB (2004), The role of cytokines in cartilage matrix degeneration in osteoarthritis, **Clin Orthop Rel Res.** 427S: S27-S36.

Goldring, MB (2000). The role of the chondrocyte in osteoarthritis. **Arthritis and Rheumatism**, 43: 16-26.

## 6. ESTUDO III

---

### **EFEITO DO FORTALECIMENTO MUSCULAR NOS BIOMARCADORES DA OSTEOARTRITE DE JOELHO DE RATOS**

**VASILCEAC, FERNANDO AUGUSTO<sup>1</sup>; SOUZA, MARIANA CARVALHO<sup>1</sup>;  
BERTANHA, GABRIELA<sup>1</sup>; SERRÃO, PAULA REGINA MENDES DA SILVA<sup>1</sup>;  
MATTIELLO, STELA MÁRCIA<sup>1</sup>.**

<sup>1</sup> *Departamento de Fisioterapia da Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP, Brasil.*

**OBSERVAÇÃO:** *O manuscrito a ser avaliado será submetido ao periódico **Arthritis Care and Research** (A1 – Área 21 CAPES; JCR = 3.731).*

## RESUMO

**Objetivo:** O objetivo desse estudo foi investigar o efeito do fortalecimento muscular nos biomarcadores da osteoartrite (OA) de joelho de ratos. **Método:** 36 ratos foram divididos igualmente em 6 grupos: Controle (C), Osteoartrite (OA), Sham (S), Exercício (E), Osteoartrite e exercício (OAE), Sham e Exercício (SE). Os grupos E, OAE e SE foram submetidos a 8 semanas do protocolo de fortalecimento muscular. Ao final do experimento, as articulações do joelho de todos os ratos foram coletadas, processadas em parafina e as lâminas confeccionadas foram submetidas à técnica de imunohistoquímica para identificação da expressão da caspase-3, da metaloproteinase-1 (MMP-1), da metaloproteinase-13 (MMP-13), da interleucina 1 beta (IL-1 $\beta$ ), do fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) e da interleucina 6 (IL-6). Foi coletado também o material sanguíneo de todos os ratos para análise sérica da expressão da IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  e IL-6 pelo método *ELISA* (*Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*). Os dados foram avaliados pelo teste *ANOVA* seguido do teste Post Hoc Tukey para a comparação intergrupos de todos os biomarcadores avaliados. Foi adotado um nível de significância de 5%. **Resultado:** Os grupos OAE e SE apresentaram menos valores que os grupos OA e S para expressão de caspase-3, MMP-1, MMP-13 e IL-6. Já para a expressão da IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$ , os grupos OAE e SE não apresentaram diferença entre os grupos OA e S. Os grupos C e E apresentaram os menores valores para expressão de todos os biomarcadores quando comparados aos outros grupos. Não foi detectada a expressão sistêmica da IL-1 e TNF- no soro de nenhum grupo. Em relação a IL-6, somente foi detectada a expressão sistêmica no soro dos grupos OA e S, não apresentando diferença entre si. **Conclusão:** O protocolo de fortalecimento muscular tem um efeito positivo nos biomarcadores relacionados diretamente ao catabolismo dos principais constituintes da cartilagem, porém sua modulação sistêmica se restringe a IL-6 somente. Portanto, o fortalecimento muscular tem potencial para atuar sobre biomarcadores da OA.

**PALAVRAS-CHAVES:** Osteoartrite; Exercício; Fortalecimento muscular; Cartilagem;

Biomarcadores

## 6.1. INTRODUÇÃO

O catabolismo excessivo da cartilagem na osteoartrite (OA) resulta em liberação de produtos de quebra da matriz extracelular (MEC) no fluido sinovial e leva à resposta inflamatória da membrana sinovial, onde os macrófagos recrutam neutrófilos da circulação, promovendo uma sinovite e liberando citocinas pró-inflamatórias e proteinases nos tecidos adjacentes (Ghosh, Smith, 2002). Estes mediadores ativam os condrócitos da cartilagem e os fibroblastos sinoviais, modificando a biossíntese de proteoglicanos e colágeno, e promovendo a liberação de biomarcadores do catabolismo da cartilagem articular (Calich, Domiciano, Fuller, 2010).

Nesse processo, as principais citocinas pró-inflamatórias envolvidas são o fator de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ ), a interleucina 1 beta (IL-1 $\beta$ ) e a interleucina (IL-6) (Kapoor et al, 2011). Estas citocinas estimulam a produção de várias enzimas proteolíticas, como as metaloproteinases (MMPs), que têm a habilidade de quebrar a maioria dos componentes da MEC (Yasuda, 2006). Estudos descrevem que a IL-1 $\beta$  e o TNF- $\alpha$  regulam genes catabólicos como os da MMP-1 e MMP-13, desencadeando a degradação dos constituintes da MEC (Kapoor et al, 2011; Aigner, Soeder, Haag, 2006).

Estudos com camundongos transgênicos têm confirmado a importância da MMP-13 e MMP-1 no desenvolvimento de OA (Holmebeck et al, 1999). Os inibidores da atividade destas enzimas estão sendo investigados com potenciais terapias na OA (Holmebeck et al, 1999). Além disso, há um interesse considerável na compreensão dos fatores que levam ao aumento da atividade dessas enzimas, com a esperança de descobrir novos alvos terapêuticos para a OA (Troeborg, Nagase, 2011).

Assim, alterações bioquímicas importantes como a presença de apoptose de condrócitos são encontradas juntamente com alterações inflamatórias decorrentes da

OA (Mutsuzaki et al 2007; Hattori et al 2006). Autores afirmam que a apoptose de condrócitos é um evento crucial na patogênese da OA (Mutsuzaki et al, 2007; Thomas et al, 2007). No entanto, alguns estudos inferem não saber se a apoptose de condrócitos é causa ou resultado da quebra da MEC da cartilagem articular. (Mutsuzaki et al, 2007; Thomas et al, 2007).

Frisbie et al (2008) relataram que os biomarcadores locais e sistêmicos estão sendo frequentemente utilizados no diagnóstico de OA e podem trazer informações específicas em relação ao anabolismo e catabolismo da MEC, pois as atividades desses envolvem um processo dinâmico de todos os elementos que constituem a articulação (cartilagem, membrana sinovial e osso sub-condral).

Já para o tratamento da OA estão sendo investigadas novas estratégias não farmacológicas. (Breedveld, 2004). Considerando que a OA no joelho gera a diminuição da força do quadríceps, sendo associada a dor na articulação, o exercício de fortalecimento muscular tem sido recomendado no tratamento da OA, principalmente para incremento de força do quadríceps (Lange et al, 2008; Wilk et al, 2006; Fransen et al, 2003).

Apesar da importância do exercício na OA, poucos estudos têm demonstrado os efeitos benéficos do exercício em modelos animais de OA, sendo o exercício de intensidade moderada recomendado em modelo animal de OA (Yamaguchi et al 2013; Galois et al 2004). Já foi descrito que o exercício aeróbico em modelo animal de OA atua na modulação de biomarcadores do stress oxidativo (Cifuentes et al, 2010), porém não há relatos da atuação do exercício de fortalecimentos muscular nos biomarcadores de modelo animal de OA. Logo, a hipótese de nosso estudo é que o exercício seja capaz de modular a expressão desses biomarcadores, favorecendo o controle da doença no modelos de OA investigado.

## **6.2. OBJETIVO**

O objetivo desse estudo foi investigar o efeito do fortalecimento muscular nos biomarcadores da osteoartrite (OA) de joelho de ratos.

### 6.3. MÉTODOS

#### **Animais**

Foram utilizados 36 ratos machos (Wistar), 4 meses de idade ( $300\pm 5.05$  g) do Biotério Central da Universidade Federal de São Carlos, que permaneceram agrupados em gaiolas plásticas, com livre acesso a água e ração. Os ratos foram mantidos no biotério do Departamento de Fisioterapia (UFSCar), com as condições ambientais controladas (luminosidade: ciclo de 12h claro/escuro). O experimento foi conduzido de acordo com recomendações éticas internacionais (National Research Council, 1996) e o projeto foi aprovado no Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de São Carlos (Parecer CEA/UFSCar n° 021/2010).

#### **Grupos Experimentais**

Os ratos foram divididos aleatoriamente em 6 grupos: Controle (C), n=6; Osteoartrite (OA), n=6; Sham (S), n=6; Exercício (E), n=6; Osteoartrite e Exercício (OAE), n=6; Sham e Exercício (SE), n=6. O modelo animal de OA utilizado foi o da transecção cirúrgica do ligamento cruzado anterior (LCA) (Galois et al, 2004). Todos os grupos foram submetidos aos procedimentos cirúrgicos da transecção do LCA, porém os grupos S e SE não tiveram o ligamento seccionado. Os animais ficaram em livre deambulação nas gaiolas por duas semanas após a cirurgia, posteriormente os grupos OAE e SE iniciaram o protocolo de fortalecimento muscular, três vezes por semana, durante oito semanas. Os grupos OA e S permaneceram livres em deambulação no mesmo período do protocolo de exercício. Ao final do experimento, totalizando 10 semanas, todos os animais foram eutanasiados.

### **Protocolo de fortalecimento muscular**

O protocolo de fortalecimento muscular foi adaptado de Hornberger, Farrar (2004). Os ratos escalaram uma escada vertical (1,1 x 0,18 m, degrau de 2 cm, inclinação de 80°) com uma carga presa em suas caudas. O aparato de carga foi preso à porção proximal da cauda do rato com uma fita-adesiva (Micropore®). No topo da escada os ratos alcançaram uma gaiola (20 x 20 x 20 cm), como apoio.

Inicialmente foi feita a familiarização dos ratos com o protocolo, que consistia na escalada da escada sem a carga. Os ratos que não se adaptaram à familiarização foram excluídos. Não foi realizado qualquer estímulo nocivo para realizar a escalada.

No primeiro dia do protocolo foi calculada a carga de resistência máxima inicial (RMI) de cada rato. Para isso, foi feita uma escalada inicial com 50% do peso corporal ( $\pm 150$  g), adicionando uma carga de 10% do peso corporal ( $\pm 30$  g) até o mesmo interromper a subida. A RMI foi determinada pela última carga que o rato conseguiu realizar uma escalada completa.

Os ratos fizeram 1 sessão com 1 série de 10 repetições, com 2 minutos de intervalo. Foram 3 sessões por semana, por 8 semanas. A carga do protocolo de exercício resistido foi progressiva, na seguinte evolução: 1ª e 2ª semana 50% da RMI, semanas 3 e 4 com 75% da RMI, 5ª e 6ª semana 90% da RMI, 7 e 8 semanas com 100% da RMI.

O protocolo utilizado seguiu todas as diretrizes da *American Geriatrics Society* (AGS) para a aplicação de exercícios de fortalecimento muscular no tratamento da OA (AGS, 2001) e também seguiu as recomendações para aplicação de exercícios de hipertrofia muscular em modelos animais (Lowe, Alway, 2002).

### **Processamento histológico das articulações**

Após a eutanásia dos ratos, os joelhos esquerdos foram removidos e desarticulados, separando para o estudo o côndilo femoral medial de cada articulação (Gerwin et al, 2010). O material foi fixado em formol a 10% por 3 dias e submetidos à descalcificação em ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) a 40% durante aproximadamente 30 dias. Esse material foi processado em parafina e embocado, obtendo-se um bloco para cada côndilo femoral. Posteriormente, cada bloco foi cortado no plano sagital em MicrótoMO (LEICA<sup>®</sup>, Alemanha). Os 30 primeiros cortes de 6 µm foram descartados, e a partir daí, cortes de 6µm foram selecionados para a confecção das lâminas (Gerwin et al, 2010).

### **Avaliação Imunohistoquímica da caspase-3, MMP-1, MMP-13, IL-1β, TNF-α e IL-6.**

Para essa avaliação, todas as lâminas receberam os mesmos procedimentos, com exceção da incubação em anticorpo primário específico para cada avaliação. Os cortes das articulações foram desparafinizados em xilol (Qhemis) e reidratados com álcool etílico (Qhemis) em concentrações decrescentes. Foi realizada a recuperação enzimática em tampão Tris-HCl 0,05M pH 8,0 por 5 minutos em panela a vapor (Steamer Philips Walita). Foi feito o bloqueio da peroxidase endógena com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30 volumes (Merck) a 0,5% por 10 minutos e depois o bloqueio das ligações inespecíficas por 20 minutos soro bloqueadoras (Kit ABC Elite Vector PK-6200) com reagente específico (Kit VECTOR PK-6000). Posteriormente, todas as lâminas foram incubadas *overnight* em temperatura ambiente com cada anticorpo primário específico na diluição recomendada pelo fabricante. Após esse procedimento feito separadamente, as lâminas foram incubadas por 30 minutos com anticorpo secundário universal (Kit ABC Elite Vector PK-6200). Por fim as lâminas receberam o reagente ABC (Kit ABC Elite Vector PK-6200) por 30

minutos e o cromógeno por 5 minutos (DAB Substrate Kit Sk-4100). Foram contracoradas com Hematoxilina de Harris (EasyPath EP-101071), desidratadas em álcool etílico crescente, diafanizada com xilol e finalizadas por meio de montagem Permount (Fischer Scientific SP15-500).

Foram feitas fotomicrografias das lâminas por meio de um microscópio óptico (Axiolab, Carl Zeiss, Jena, Alemanha) com uma câmera digital acoplada (Sony DSCs75, Tokyo, Japão). Foram selecionados aleatoriamente 3 campos de cada imagem, imagem capturadas ao longo da extensão de cada lâmina, visualizados em microscópio de luz sob um aumento de 200 vezes. Foi feita uma avaliação semi-quantitativa da expressão de caspase-3, MMP-1, MMP-13, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  e IL-6, determinando o número (porcentagem) de condrócitos ou lacunas que estavam com imunomarcação positiva em relação a todos os condrócitos/lacunas presentes no campo, sendo feita uma média dos 3 campos para cada imagem. Todas as lâminas foram avaliadas por 2 observadores cegados

### **Processamento do material sanguíneo**

Foi feita a punção cardíaca dos ratos antes da eutanásia, sendo que após a coleta o sangue ficou em repouso na geladeira por 4 horas. Posteriormente, foi centrifugado a 1500 rpm por 10 minutos e o sobrenadante foi congelado a -80°C.

### **Avaliação da expressão sérica de TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6**

As citocinas foram quantificadas no fluido sanguíneo acordo com instruções do fabricante (R&D Quantikine). As citocinas TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-6 foram detectadas empregando anticorpos de captura, citocinas-padrão e anticorpos associados à biotina e amplificados com avidina-peroxidase. Como substrato será utilizado TMB e a reação foi

bloqueada adicionando ácido sulfúrico (1 M de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) aos poços. A leitura das amostras foi realizada em filtro de 450 nm e 570 nm.

O limite de sensibilidade do ELISA para a detecção das citocinas no soro foi de: TNF $\alpha$  = 6 pg/mL; IL1 $\beta$  = 5 pg/mL e IL6 - 21 pg/mL, segundo o fabricante do Kit.

### **Processamento estatístico dos dados**

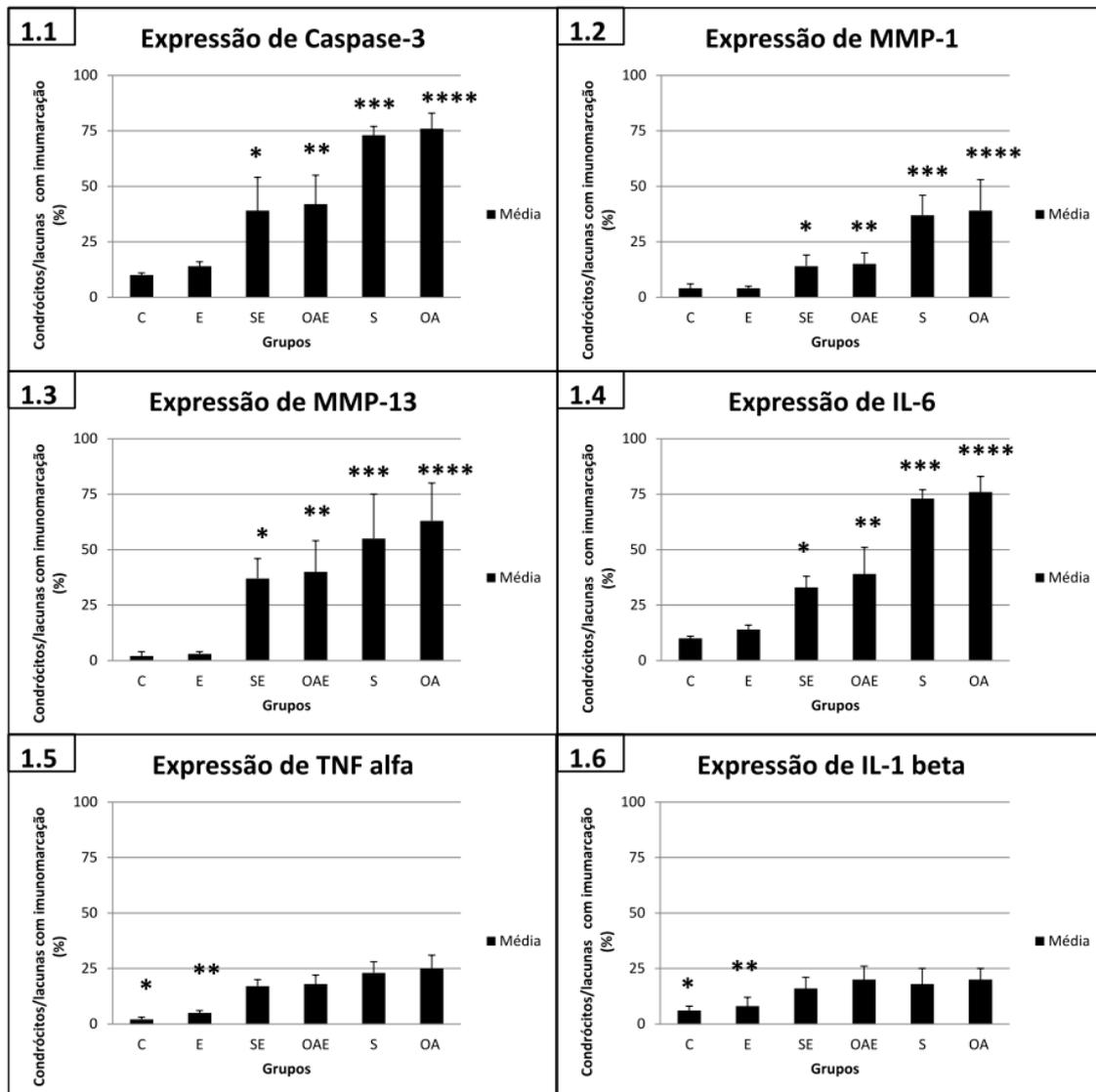
Os dados foram analisados por meio do software *Statistica*<sup>®</sup> *Software* (versão 7, StatSoft, Inc., Tulsa, USA). Inicialmente foi feito a estatística descritiva (média e desvio padrão). Aplicou-se o teste de Shapiro-Wilk para a verificação da normalidade dos dados. Como os dados apresentaram distribuição normal, foi aplicado o teste ANOVA (*Analysis of Variance*), seguido do teste Post Hoc Tukey para a comparação intergrupos. Para todos os testes estatísticos foi considerado o nível de significância de 5% ( $p \leq 0.05$ ).

#### **6.4. RESULTADOS**

De uma forma geral nossos resultados apontam que o protocolo de exercício de fortalecimento muscular utilizado proporcionou modificações na expressão dos biomarcadores da osteoartrite.

##### **Avaliação da expressão da caspase-3, MMP-1, MMP-13, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ e IL-6 na cartilagem articular**

Os grupos OA e S apresentaram os maiores valores para expressão de todos os biomarcadores quando comparados com os outros grupos. Já os grupos submetidos ao protocolo de fortalecimento muscular, OAE e SE, apresentaram menores valores que os grupos OA e S para a expressão dos seguintes biomarcadores: caspase-3, MMP-1, MMP-13 e IL-6. Já em relação ao TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$ , não foi encontrada diferença estatística significativa entre esses grupos. Os grupos C e E apresentaram os menores valores para a expressão de todos os biomarcadores quando comparados aos outros grupos (Figura 1)



**Figura 1.** Representação gráfica da média dos grupos para cada biomarcador avaliado na cartilagem articular:

**1.1 Expressão de caspase-3** \* SE e C ( $p=0.01$ ); SE e E ( $p=0.01$ ); \*\* OAE e C ( $p=0.02$ ); OAE e E ( $p=0.01$ ); \*\*\* S e C ( $p=0.01$ ); S e E ( $p=0.01$ ); S e OAE ( $p=0.01$ ); S e SE ( $p=0.01$ ); \*\*\*\*OA e C ( $p=0.01$ ); OA e E ( $p=0.01$ ); OA e OAE ( $p=0.01$ ); OA e SE ( $p=0.01$ );

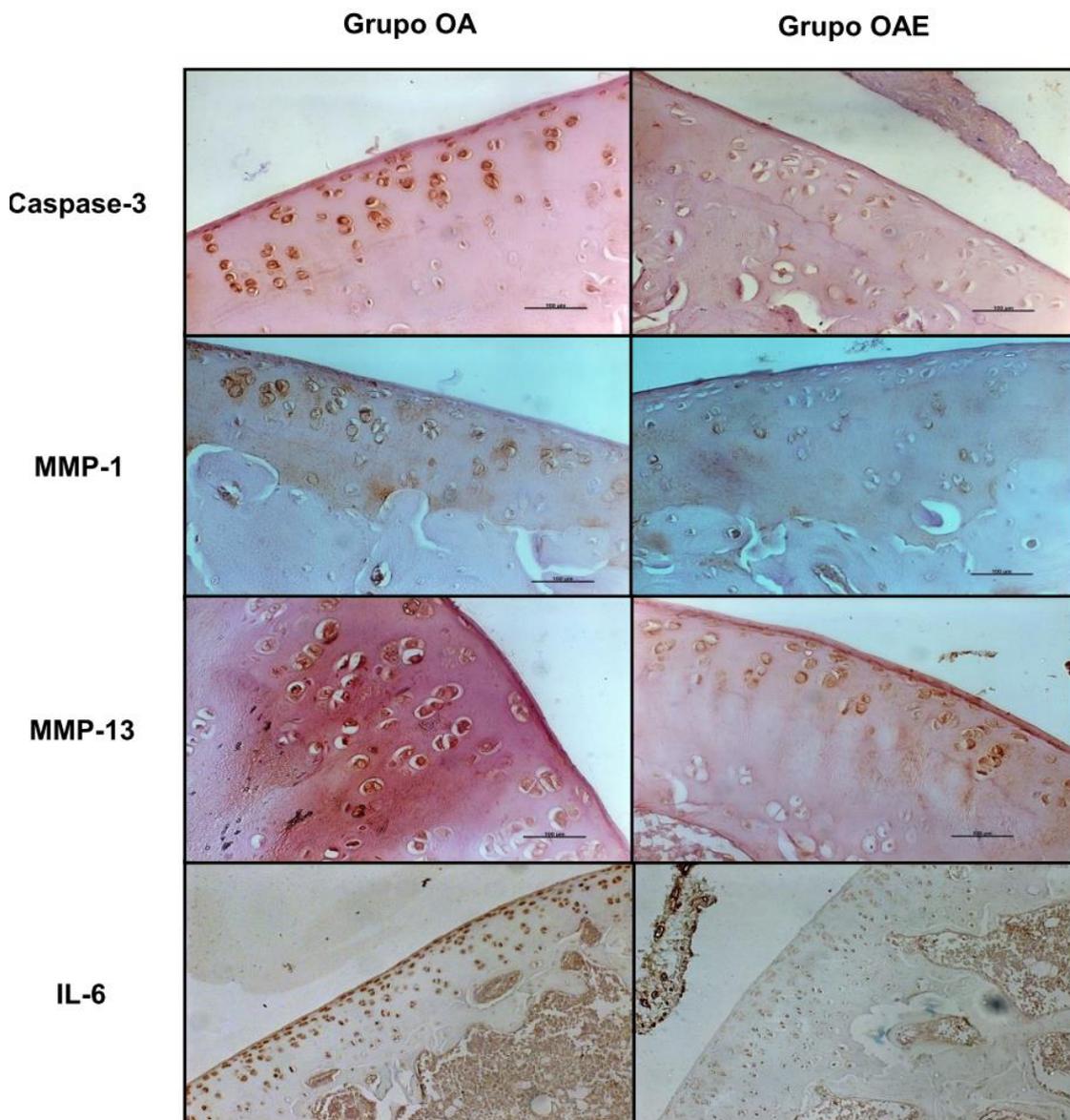
**1.2 Expressão da MMP-1** \* SE e C ( $p=0.01$ ); SE e E ( $p=0.01$ ); \*\* OAE e C ( $p=0.01$ ); OAE e E ( $p=0.01$ ); \*\*\* S e C ( $p=0.01$ ); S e E ( $p=0.01$ ); S e OAE ( $p=0.03$ ); S e SE ( $p=0.03$ ); \*\*\*\*OA e C ( $p=0.01$ ); OA e E ( $p=0.01$ ); OA e OAE ( $p=0.03$ ); OA e SE ( $p=0.02$ );

**1.3 Expressão da MMP-13** \* SE e C ( $p=0.01$ ); SE e E ( $p=0.01$ ); \*\* OAE e C ( $p=0.01$ ); OAE e E ( $p=0.01$ ); \*\*\* S e C ( $p=0.01$ ); S e E ( $p=0.01$ ); S e OAE ( $p=0.01$ ); S e SE ( $p=0.01$ ); \*\*\*\*OA e C ( $p=0.01$ ); OA e E ( $p=0.01$ ); OA e OAE ( $p=0.01$ ); OA e SE ( $p=0.01$ );

**1.4 Expressão da IL-6** \* SE e C ( $p=0.02$ ); SE e E ( $p=0.02$ ); \*\* OAE e C ( $p=0.01$ ); OAE e E ( $p=0.01$ ); \*\*\* S e C ( $p=0.01$ ); S e E ( $p=0.01$ ); S e OAE ( $p=0.02$ ); S e SE ( $p=0.02$ ); \*\*\*\*OA e C ( $p=0.01$ ); OA e E ( $p=0.01$ ); OA e OAE ( $p=0.02$ ); OA e SE ( $p=0.02$ );

**1.5 Expressão da TNF- $\alpha$**  \* C e SE ( $p=0.01$ ); C e OAE ( $p=0.01$ ); C e S ( $p=0.01$ ); C e OA ( $p=0.01$ ) \*\* E e SE ( $p=0.01$ ); E e OAE ( $p=0.01$ ); E e S ( $p=0.01$ ); E e OA ( $p=0.01$ )  
**1.6 Expressão da IL-1 $\beta$** , \* C e SE ( $p=0.01$ ); C e OAE ( $p=0.02$ ); C e S ( $p=0.01$ ); C e OA ( $p=0.01$ ) \*\* E e SE ( $p=0.01$ ); E e OAE ( $p=0.01$ ); E e S ( $p=0.01$ ); E e OA ( $p=0.01$ )

Como pode ser observado, nosso protocolo de fortalecimento muscular desencadeou mudanças na expressão de biomarcadores em nosso modelo animal de osteoartrite (Figura 2).



**Figura 2:** Fotomicrografias das lâminas dos grupos OA e OAE referente a imunohistoquímica da caspase-3, MMP-1, MMP-13 e IL-6. A imunomarcagem positiva para os biomarcadores deve ser observada nas regiões e/ou células com a coloração marrom.

### **Avaliação da expressão da IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ e IL-6 no soro**

Não foi detectada em nenhum grupo a expressão da IL-1 $\beta$  e do TNF- $\alpha$ . A IL-6 foi detectada somente no soro dos grupos OA e S, não apresentando diferença significativa entre os grupos (Tabela 1)

**Tabela 1.** Quantidade de IL-6 detectada no soro:

<b>Grupos</b>	<b>Média (pg/mL)</b>	<b>Desvio Padrão</b>
OA	183.638	$\pm$ 42.176
S	121.448	$\pm$ 10.927

## 6.5. DISCUSSÃO

Os principais achados desse estudo foram que o protocolo de fortalecimento muscular utilizado atuou na modulação da expressão de biomarcadores de nosso modelo animal de OA. Seu efeito nos biomarcadores pode refletir em um controle e/ou um retardo na progressão da doença, mas apesar de significativos, esses achados devem ser interpretados com cautela.

O exercício físico de intensidade moderada já tem seus efeitos descritos em modelos animais de OA, com relato de benefício principalmente para a histologia da cartilagem (Yamaguchi et al, 2013, Galois et al, 2004). Também já foi descrito que o exercício físico tem atuação anti-inflamatória, podendo atenuar manifestações de doenças crônicas e processos degenerativos por meio de redução de biomarcadores relacionados à inflamação (Petersen, Pedersen, 2005).

Em nosso estudo, os animais que foram submetidos ao exercício apresentaram menor expressão da IL-6, e não modificaram a expressão da IL-1 $\beta$  e do TNF- $\alpha$ . Por um lado, pode-se interpretar esse resultado como um efeito ruim do exercício, pois alguns autores descrevem que a IL-6 possui atividade reguladora anti-inflamatória, incluindo efeitos inibitórios sobre a produção e secreção de TNF- $\alpha$  e estímulo da síntese das citocinas anti-inflamatórias como a interleucina 10 (IL-10) (Silva, Macedo, 2011; Petersen, Pedersen, 2005; Moldoveanu, Shephard, Shek, 2001)

Por outro lado, a análise dos mediadores inflamatórios como IL-6, IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$  na OA sugere que a IL-6 aparece como o maior componente nos condrócitos em situações degenerativas. Interpreta-se que, ao responder à estimulação pela IL-6, os condrócitos contribuem para o início da cascata inflamatória, com a síntese de IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$ , tornando assim a IL-6 como a chave mediadora e efetora da angiogênese, inflamação e degeneração articular (Dozin et al, 2002).

Na verdade, o que se pode afirmar é que a IL-6 está diretamente associada às doenças do envelhecimento, tendo-se até já descrito o termo “A citocina dos geriatras” (Ershler, 2003). Por fim, devemos compreendê-la como uma citocina multifuncional que, em algumas situações, tem ação anti-inflamatória e, em outras, pró-inflamatória (Lange et al, 2012; Goldring & Goldring 2004), podendo atuar em processos inflamatórios agudos e crônicos (Lange et al, 2012).

Portanto, observa-se que os estudos da área são contraditórios em relação aos efeitos do exercício sobre esses biomarcadores. Na verdade, o que é consenso entre os pesquisadores é que a resposta do organismo frente ao exercício vai sempre depender os parâmetros eleitos para a aplicação do exercício (Garber et al, 2011). Ao observar os parâmetros de nosso protocolo de exercício, podemos afirmar que foram seguidas as recomendações do fortalecimento muscular para indivíduos com OA de joelho da *American Geriatrics Society (AGS)*, que preconiza um protocolo com intensidade de 40-60% da resistência máxima (RM), com 8-10 repetições, com frequência de 2-3 dias por semana (AGS, 2001).

Outro achado importante do nosso estudo foi que apesar das citocinas inflamatórias consideradas como chave para a patogênese da OA, TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$ , não serem expressas no soro sanguíneo dos animais, nem apresentarem diferença em sua expressão na cartilagem articular após a aplicação de exercício, outros biomarcadores de catabolismo da cartilagem tiveram sua expressão reduzida após o exercício. Já foi proposto que a MMP-1 está envolvida na degradação inicial da OA, principalmente na zona superficial da cartilagem, enquanto que a MMP-13 desempenha um papel mais robusto e tardio na doença, principalmente relacionado à degradação irreversível do colágeno articular. (Rengel, Ospelt, Gay, 2007). Baseado então em nossos achados e

com respaldo na literatura pode-se interpretar que o fortalecimento muscular teve um efeito positivo na modulação da MMP-1 e MMP-13, pois reduziu sua expressão.

E não só em relação às proteinases, mas a atividade apoptótica também foi reduzida com a prática de exercício. Estudos relatam que a inflamação articular pode induzir a apoptose das células sinoviais por meio da ação das citocinas pró-inflamatórias, principalmente o TNF- $\alpha$  (Aizawa et al. 2001, Salamone et al. 2001, Kim 2003). Conseqüentemente, a morte de condrócitos é vista como evento crucial na patogênese da OA (Blanco 1998, Hashimoto 1998). Segundo Lotz, Hashimoto e Kühn (1999). Duas características são importantes para considerar a morte de condrócitos: (1) a cartilagem articular não possui células fagocíticas para a retirada das células mortas da MEC, o que potencialmente afeta a estrutura e função dos condrócitos remanescentes; (2) a cartilagem articular por não ser vascularizada e não possuir células-tronco mesenquimais, apresenta dificuldade na reposição celular, o que pode prejudicar a habilidade da cartilagem em manter e reparar a MEC.

Logo, a redução da expressão da caspase-3 nos grupos submetidos ao exercício físico também pode ser interpretada como um efeito positivo do fortalecimento muscular em nosso modelo animal de OA. Portanto, apesar do exercício não ter tido efeito significativo nos principais e mais estudados mediadores inflamatórios da OA, TNF- $\alpha$  e a IL-1 $\beta$  (Kapoor et al, 2011), pode inferir que ele atua em outros biomarcadores na OA, controlando e/ou retardando a evolução da doença.

Por fim, o fato de não haver expressão sistêmica das citocinas TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$ , pode-se estabelecer que a OA apresente um caráter inflamatório sistêmico somente numa fase mais tardia da doença. Essa afirmação deve ser interpretada com cautela, pois apesar de alguns autores descreverem que as alterações teciduais locais são responsáveis pelo início da OA (Loeser et al, 2012; Pagura et al, 2005), outros autores descrevem que

a OA é uma doença muito mais complexa, com mediadores inflamatórios sinalizando a degeneração pela cartilagem, osso e membrana sinovial (Berenbaum, 2013).

## **6.6. CONCLUSÃO**

O protocolo de fortalecimento muscular utilizado atuou na modulação da expressão de biomarcadores de nosso modelo animal de OA. Seu efeito nos biomarcadores pode refletir em um controle e/ou um retardo na progressão da doença, sendo recomendados novos estudos para sua consolidação como estratégia na reabilitação da OA.

## 6.7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ghosh P, Smith M. Osteoarthritis, genetic and molecular mechanisms. **Biogerontology** 2002; 3: 85-88.

Kapoor M, Martel-Pelletier J, Lajeunesse D, Pelletier, Fahm H. Role of proinflammatory cytokines in the pathophysiology of osteoarthritis. **Nature Reviews Rheumatology** 7, 33-42, 2011.

Aigner T, Soeder S, Haag J. IL-1 $\beta$  and BMPS – Interactive palyers of cartilage matrix degradation and regeneration. *European Cells and Materials*. 12:49-56, 2006.

Troeberg L, Nagase H. Proteases involved in cartilage matrix degradation in osteoarthritis. **Biochimica et Biophysica Acta**. 1824(1):133-45 2011.

Mutsuzaki H, Sakane M, Ikeda K, Ishii T, Hattori S, Tanaka J et al. Histological changes and apoptosis of cartilage layer in human anterior cruciate ligament tibial insertion after rupture. **Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc**. 15, 602-609, 2007.

Hattori S, Sakane M, Mutsuzaki H, Tanaka J, Ochiai N, Nakajima H. Chondrocyte apoptsis and decrease of glicosaminoglycan in cranial cruciate ligament insertion after resection in rabbits. *J Vet Med Sci*. 69, 3: 253-258, 2006.

Thomas CM, Fuller CJ, Whittles CE, Sharif M. Chondrocyte apoptosis is associated with cartilage matrix degradation. *Osteoarthritis Cartilage*. 15:27-34, 2007.

Frisbie, D.D.; Al-Sobayll, F.; Billinghamurst, R.C.; Kawcak, C.E.; McIlwraith, C.W. Changes in synovial fluid and serum biomarkers with exercises and early osteoarthritis in horses. *Osteoarthritis and Cartilage*, 2008.

Lange AK, Vanwanseele B, Singh MAF (2008) Strength Training for Treatment of Osteoarthritis of the Knee: A Systematic Review **Arthritis & Rheumatism (Arthritis Care & Research)** (59) 1488-1494.

WILK KE, BRIEM K, REINOLD MM, DEVINE KM, DUGAS JR, ANDREWS JR. Rehabilitation of articular lesions in the athlete's knee. *J Orthop Sports Phys Ther*, v. 10, p. 815-827, 2006.

Yamaguchi S, Aoyama T, Ito A, et al (2013) Effects of Exercise Level on Biomarkers in a Rat Knee Model of Osteoarthritis. **Journal of Orthopaedic Research**. 31(7): 1026-31.

Galois L, Etienne S, Grossin L, Watrin-Pinzano A, Cournil-Henrionnet C, Loeuille D, Netter P, Mainard D, Gillet P. Dose-response relationship for exercise on severity of experimental osteoarthritis in rats: a pilot study. *Osteoarthritis Cartilage*. 2004; 12(10):779-86.

American Geriatric Society (2001) Exercise prescription for older adults with osteoarthritis pain: consensus practice recommendations. A supplement to the AGS Clinical Practice Guidelines on the management of chronic pain in older adults. **J Am Geriatr Soc**. 49(6):808-23.

Garber CE, Blissmer, Deschenes MR, Franklin BA, Lamonte MJ, Lee IM, Nieman DC, Swain DP (2011) Quantity and Quality of Exercise for Developing and Maintaining Cardiorespiratory, Musculoskeletal, and Neuromotor Fitness in Apparently Healthy Adults: Guidance for Prescribing Exercise. **Medicine & Science in Sports & Exercise** 1334-1359.

Cifuentes DJ, Rocha LG, Silva LA, Brito AC, Rueff-Barroso CR, Porto LC, et al (2010) Decrease in oxidative stress and histological changes induced by physical exercise calibrated in rats with osteoarthritis induced by monosodium iodoacetate. **Osteoarthritis and Cartilage** (18)1088-1095.

Gerwin N, Bendele AM, Glasson S, Carlson CS (2010). The OARSI histopathology initiative e recommendations for histological assessments of osteoarthritis in the rat. **Osteoarthritis and Cartilage** 18:24-34.

Hashimoto S, Ochs RL, Komiya S, Lotz M. Linkage of chondrocytes apoptosis and cartilage degradation in human osteoarthritis. *Arthritis Rheum.* 41:1632-1638, 1998.

Lotz M, Hashimoto S, Kühn K. Mechanisms of chondrocyte apoptosis. *Osteoarthritis Cartilage.* 7:389-391, 1999.

Lowe DA, Alway SE (2002). Animal models for inducing muscle hypertrophy: are they relevant for clinical applications in humans? **J Orthop Sports Phys Ther.** 32(2):36-43.

Goldring, MB (2000). The role of the chondrocyte in osteoarthritis. **Arthritis and Rheumatism**, 43: 16-26.

Goldring SR; Goldring MB. The role of cytokines in Cartilage Matrix Degeneration in Osteoarthritis. **Clin Orthop Rel Res.** 427S:27-36, 2004.

Blanco FJ, Guitian R, Vazquez-Martul E, de Toro FJ, Galdo F. Osteoarthritis chondrocytes die by apoptosis. A possible pathway for osteoarthritis pathology. **Arthritis Rheum.** 41:284-289, 1998.

DOZIN, B.; MALPELI, M.; CAMARDELLA, L.; CANCEDDA, R.; PIETRANGELO, A. Response of young, aged and osteoarthritic human articular chondrocytes to inflammatory cytokines: molecular and cellular aspects. **Matrix Biology** 21: 449-459, 2002.

EKDAHL, C.; ANDERSSON, S.I., SVENSSON, B. Muscle function of the lower extremities in rheumatoid arthritis and osteoarthrosis. A descriptive study of patients in a primary health care district. **J Clin Epidemiol.** v. 42, n. 10, p 947-954, 1989.

ERSHLER, W.B, Biological Interactions of Aging and Anemia: A focus on Cytokines. **J Am Geriatr Soc.** 51:18-21.2003.

Moldoveanu AI, Shephard RJ, Shek PN. The cytokine response to physical activity and training. **Sports Med** 2001;31:115-44.

Petersen AMW, Pedersen BK. The anti-inflammatory effect of exercise. **J Appl Physiol** 2005;98:1154-62.

ADAMOPOULOS, S. Physical training reduces peripheral markers of inflammation in patients with chronic heart failure, **Eur Heart J**, v, 22, n, 9, p, 791-7, 2001.

Kim BJ, Kim DW, Kim SH, Cho JH, Lee HJ, Park DY, Park SR, Choi BH, Min BH. Establishment of a reliable and reproducible murine osteoarthritis model. **Osteoarthritis Cartilage** 2013; 21(12):2013-20

Pagura, S.M.C.; Thomas, S.G.; Woodhouse, L.J.; Shereen, E.; Marks, P. Circulating and synovial levels of IGF-I, cytokines, physical function and anthropometry differ in women awaiting total knee arthroplasty when compared to men. **Journal of Orthopaedic Research**. v.23, p.397-405, 2005.

F. Berenbaum. Osteoarthritis as an inflammatory disease (osteoarthritis is not osteoarthrosis!). **Osteoarthritis and Cartilage** 21 (2013) 16-21.