



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



**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA TERAPIA LASER DE BAIXA INTENSIDADE  
ASSOCIADA OU NÃO AO TREINAMENTO RESISTIDO NO TRATAMENTO  
DA OSTEOARTRITE**

**LUIZ HENRIQUE GOMES SANTOS**

**São Carlos – SP**  
**2017**

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



**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA TERAPIA LASER DE BAIXA INTENSIDADE  
ASSOCIADA OU NÃO AO TREINAMENTO RESISTIDO NO TRATAMENTO  
DA OSTEOARTRITE DE JOELHO**

**LUIZ HENRIQUE GOMES SANTOS**

Tese de Doutorado apresentada ao programa de Pós-graduação em Fisioterapia da UFSCAR – PPG-Ft, como parte dos requisitos para a 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> Ana Claudia Muniz Rennó**

**Coorientador: Prof. Dr. Paulo Sérgio Bossini**

**São Carlos – SP  
2017**



## UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Biológicas e da Saúde  
Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia

---

### Folha de Aprovação

---

Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de Tese de Doutorado do candidato Luiz Henrique Gomes Santos, realizada em 30/03/2017:

---

Profa. Dra. Ana Claudia Muniz Renno  
UNIFESP

---

Prof. Dr. Richard Eoin Liebano  
UFSCar

---

Profa. Dra. Patricia Driusso  
UFSCar

---

Profa. Dra. Natália Camargo Rodrigues Iosimuta  
UFSCar

---

Profa. Dra. Daniela Cristina Carvalho de Abreu  
USP

### **Dedicatória**

Dedico esta tese de doutorado à minha família. Meus pais que sempre foram exemplos de perseverança na construção do processo de educação de seus filhos, que mantiveram suas vidas voltadas para garantir aos filhos o máximo para a construção de bons seres humanos. À minha esposa que esteve ao meu lado em todas as etapas, e que suportou todas as adversidades para que possamos chegar a mais esta fase de superação.

Espero poder retribuir sempre, todo o esforço destinado às nossas conquistas.

## Agradecimentos Especiais

Agradeço primeiramente a **Deus!** Sempre me considerei uma pessoa abençoada, por tudo que consegui construir, e por todas as pessoas que ele tem colocado em meu caminho me fazendo crescer e ser uma pessoa melhor. Ele me conduziu até aqui, com fé para enfrentar todas as experiências encontradas na construção desta tese.

Agradeço à minha esposa, **Jamili**, por estar sempre próxima e paciente em todos os momentos desta caminhada. Amor, carinho, companheirismo, e acima de tudo, paciência, foram fundamentais para que eu pudesse superar todas as experiências impostas após a decisão de construir uma tese de doutorado. Saiba que toda a distância vivida neste período em que vivemos, e as inúmeras provas que a vida nos impôs, só fortaleceu o amor que sempre senti por você. Poucas vezes dividi contigo as dificuldades vividas neste processo de pós-graduação, porém, a sua presença sempre foi um alento para superar as barreiras. Agradeço a Deus por ter me escolhido para ser o seu parceiro por toda a nossa vida, e espero que sejamos realizados por isso. Amo você, Obrigado.

Aos meus pais, **Nonato** e **Gabriela** pela dedicação, simplicidade, humildade e ao amor incondicional que sempre tiveram por mim. Sempre serão meus maiores exemplos na vida, por mostrar que a evolução do ser humano depende de seus valores pessoais, e que o estudo pode transformar pessoas, mas, o amor de uma família entrega alegria de viver ao ser humano. Todo o meu crescimento pessoal e profissional eu dedico á vocês, pela dedicação e todo o esforço dispendido para que eu me tornasse o profissional que eu sempre almejei. Esta etapa de vida é mais uma das difíceis que superamos juntos, e tenho certeza que terei muitas outras para viver na companhia de vocês. Amo (incondicionalmente) vocês.

Agradeço a minha irmã **Juliana**, por ser minha grande companheira, torcedora e muitas vezes “mãe”. Por me fazer refletir direta e indiretamente nos valores que construímos constantemente em nossa família, e demonstrar que existe vida além de trabalho e estudos. Por ser um grande exemplo de organização e planejamento, espero

ter um dia todos estes atributos na construção do meu ser. Obrigado por tudo minha querida.

Agradeço a **Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Ana Claudia Muniz Rennó**, minha orientadora. Com a chegada destes momentos finais de construção e elaboração desta tese, tive uma grande certeza, que não tive a oportunidade (por questões profissionais) de aproveitar mais as inúmeras qualidades e habilidades encontradas em você, como professora e pesquisadora, porém, ganhei um enorme presente em mais uma etapa da minha vida, ser orientado por você. A professora que eu conheci em 2003, infelizmente no meu último ano de graduação, porém foi o suficiente para que eu pudesse entender o perfil de profissional que eu deveria ter como exemplo para o meu crescimento na Fisioterapia. Minha história pessoal e profissional tem grandes momentos de satisfação com a sua presença marcante. Desde o convite para assistir sua defesa de doutorado, até a indicação de uma ex-aluna para ser sua aluna de pós-graduação, que confesso ter sido o momento de maior satisfação como profissional. Porém, em dezembro de 2013 ter recebido o convite para ser seu orientando, foi uma surpresa misturada com grande felicidade. Em todos estes momentos vividos como aluno especial e após um ano, ter me tornado aluno regular, pude perceber o quanto eu teria que abdicar de muitas coisas para estar imerso neste mundo que é a pós-graduação. Pude vivenciar sua forma diferenciada de orientar, que proporciona segurança, por saber cada passo dado nas etapas da pesquisa e por acompanhar a evolução de seus alunos. Sinto por não ter podido aproveitar tudo o que teria a me oferecer, devido a questões profissionais e pessoais que me impediram de estar mais próximo de suas capacidades de raciocínio e dinâmica. Porém, agradeço pela oportunidade que me ofereceu, e tenha certeza que me fez crescer muito mais, como pessoa e como profissional, por ter me mostrado os caminhos e ter me feito conselhos, cobranças e alertas, nos momentos necessários para que a minha trajetória fosse a melhor possível. Seu profissionalismo (admirável) e a sua dinâmica de valorização pessoal e profissional são exemplos que levarei para toda a minha vida. Será sempre meu maior exemplo. Obrigado por tudo!

## Agradecimentos

Agradeço **aos membros da minha banca** por aceitarem o convite de participarem deste momento tão importante pra mim e contribuírem com a minha formação profissional. E por de alguma forma terem feito parte da minha formação profissional, mesmo antes deste momento inesquecível em minha vida. Obrigado pela atenção e dedicação.

Agradeço aos meus colegas do laboratório de Eletrotermofototerapia, **Kido, Tatimatsu, Carla, Cintia, Lia, Vitor, Ana, Julia** e aos amigos que fizeram parte deste grupo de pesquisa. É muito bom poder contar com pessoas especiais que tem interesse em ajudar no seu crescimento. Foram momentos muito importantes com alegrias e grandes experiências, que jamais esquecerei. Sentirei muitas saudades das conversas, das reuniões, do cafezinho e principalmente da alegria que cada um pode transmitir quando na minha presença. Sempre haverá de mim, enorme gratidão.

Agradeço ao **Prof. Dr. Paulo Sergio Bossini** pela coordenação, generosidade, amizade e por compreender todo o processo para chegar até aqui. Foi muito importante em diversas etapas na construção do meu conhecimento e consequentemente contribuiu no meu crescimento pessoal e profissional.

Agradeço aos meus colegas do laboratório da UNIFESP de Santos, **Paulo, Kelly, Victor, Renata**, e aos amigos que tive o prazer de convivência nos poucos momentos em que estive por lá. São grandes pesquisadores e que colaboraram muito com a minha pesquisa, com paciência e esclarecimentos. À minha ex-aluna e hoje doutoranda, **Angela Magri**, agradeço pela preocupação e vontade constante em ajudar, me considero um ser humano realizado por ter vivido a experiência de ter meu trabalho corrigido por ela, que é hoje é motivo de enorme orgulho, satisfação e humildade.

Agradeço às pessoas que considero como minhas grandes mentoras, **Carla Tim e Livia Assis**, pela paciência, ensinamentos e enorme participação em todas as fases da minha vida no doutorado. Conselhos, preocupações, orientações e amizade dentro e fora do ambiente de estudos, foram fundamentais para que eu chegasse até o final desta etapa.

Aos professores doutores, (que tive o prazer da convivência), **Thiago Russo, Adriana, Tatiane, Renata, Cleiton, Tania, Stela, Fabio Serrão, Richard, Tiago Alexandre, Aparecida Catai, Audrey e Patrícia**, agradeço pelos enormes ensinamentos e por acrescentar grande conhecimento a minha formação profissional.

Agradeço ao **Prof. Dr. Nivaldo A. Parizotto** pela pessoa rica em sabedoria, paciência e humildade. Obrigado por participar da minha formação de forma tão importante, por ter me recebido em seu laboratório com tanta generosidade e por colaborar com a minha pesquisa.

Agradeço também aos **funcionários** que fazem parte desta equipe brilhante da pós-graduação em Fisioterapia.

Agradeço a **Yolanda** pela simplicidade, generosidade e carisma, características imensuráveis e que são fundamentais para a excelente convivência de todos.

Aos funcionários do biotério central, **Roberto e Rivair**, e a **empresa fornecedora de maravalha** pela atenção e cooperação no andamento da pesquisa.

Agradeço à **Reitoria, professores e colegas de trabalho do UNIFEG**, por estarem presentes de alguma forma com palavras de carinho, incentivo e colaboração para que pudéssemos manter a qualidade de ensino que buscamos diariamente e que garantiram a minha reconhecida eficiência como coordenador ao longo destes 7 anos. Em especial aos professores do curso de Fisioterapia, que sempre me incentivaram e cooperaram de forma muito profissional para que houvesse menor sobrecarga a mim neste período, e que me fazem comemorar com orgulho 10 anos na instituição.

Aos **meus amigos e familiares** pelas palavras de força e apoio. Foram muito importantes na realização de todas as etapas, por me proporcionarem incentivo no cumprimento das etapas deste projeto profissional, muito obrigado.

E por fim, a todas as pessoas que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho, Gratidão!



## Resumo

O objetivo da tese foi apresentar os efeitos da LLLT, exercício físico e a associação dos mesmos sobre o catabolismo na cartilagem articular em joelhos de ratos submetidos a um modelo experimental de osteoartrite induzida através da transecção do ligamento cruzado anterior (TLCA). Para isto, inicialmente foi realizada uma breve revisão sistemática onde foram consideradas intervenções em estudos clínicos. A busca foi realizada nas bases de dados Medline, PubMed, Scopus, Cochrane e por busca ativa em lista de referências bibliográficas dos artigos selecionados de 1994 até outubro de 2016. A pesquisa foi realizada de acordo com as orientações do guia PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta- Analyses). Foi realizada a busca nos bancos de dados com as seguintes terminologias: laser therapy and exercise and knee osteoarthritis. As análises do conteúdo dos ensaios clínicos selecionados demonstraram que os exercícios terapêuticos associados à LLLT que podem ser utilizados para melhora da dor e qualidade de vida são: exercícios resistidos e exercícios resistidos associados à alongamentos. Porém, estes não são suficientes metodologicamente para demonstrar melhora da funcionalidade apresentando qualidade moderada para os estudos animais e alta qualidade para os estudos clínicos. Como os estudos clínicos incluídos nesta revisão sistemática têm uma alta qualidade metodológica, pode-se concluir que os exercícios terapêuticos utilizados pelos estudos melhoraram dor e funcionalidade na OA de joelho. Porém sugerem-se estudos experimentais com animais que possam apresentar maior qualidade metodológica para explicar os mecanismos de ação dos recursos terapêuticos. Para isso, o segundo estudo realizado, investigou os efeitos do protocolo de exercícios resistidos e LLLT (associados ou não) no metabolismo da cartilagem em um modelo experimental de OA no joelho. Quarenta ratos Wistar machos foram aleatoriamente divididos em 4 grupos: OA controle (OAC); OA e LLLT (OAL); OA e Exercício (OAE); OA e Exercício e Laser (OAEL). O programa de exercícios resistidos iniciado 2 semanas após a lesão do LCA, e foram realizados três vezes por semana por 8 semanas, totalizando 24 sessões que consistiam de exercícios de escalada, com pesos atados em suas caudas e a irradiação de laser (dois pontos-faces medial e lateral da articulação esquerda. Os resultados mostraram que todos os grupos tratados apresentaram a capacidade de modular alguns dos aspectos relacionados com o processo degenerativo devido à transecção ligamentar. Porém, a associação do exercício resistido com a LLLT diminuiu significativamente a densidade de condrócitos, e em animais OAE houve aumento de densidade. Além disso, os grupos com exercícios resistidos (com ou sem LLLT) modularam a imunexpressão de IL-1 $\beta$ , caspase-3 e MMP-13. Estes resultados sugerem que os exercícios resistidos modularam as alterações morfológicas relacionadas à progressão da OA. Também, o programa de exercícios apresentou efeitos anti-inflamatórios nos joelhos dos ratos com OA. Com isso, o presente trabalho evidencia a grande necessidade de estudos experimentais que possam explicar os mecanismos clínicos que favorecem o uso destes recursos no tratamento de pacientes com OA em joelho.

**Palavras chaves:** Terapia a laser de baixa intensidade; exercícios resistidos, cartilagem articular; osteoartrite de joelho.

## Abstract

The aim of the thesis was to present the effects of LLLT, physical exercise and their association on joint cartilage catabolism in the knees of rats submitted to an experimental model of osteoarthritis induced by anterior cruciate ligament (TLCA) transection. For this, a brief systematic review was initially performed where interventions in experimental and clinical studies with animals were considered. The search was performed in the Medline, PubMed, Scopus, Cochrane databases and by active search in a list of bibliographic references of the articles selected until October 2016. The research was carried out according to the guidelines of the PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta- Analyzes). We searched the databases with the following terminologies for animal studies: laser therapy and exercise and knee osteoarthritis and animal model. The analyzes of the content of the selected clinical trials demonstrated that LLLT associated therapeutical exercises that can be used to improve pain and quality of life are: resistance exercises and resistance exercises associated with stretching. However, these are not methodologically sufficient to demonstrate improved functionality presenting moderate quality for animal studies and high quality for clinical studies. As the clinical studies included in this systematic review have a high methodological quality, it can be concluded that the therapeutic exercises used by the studies improved pain and functionality in knee OA. However, we suggest experimental studies with animals that may present higher methodological quality to explain the mechanisms of action of therapeutic resources. For this, the second study, investigated the effects of the protocol of resistance exercises and LLLT (associated or not) on the metabolism of cartilage in an experimental model of OA in the knee. Forty male Wistar rats were randomly divided into 4 groups: OA control (OAC); OA and LLLT (OAL); OA and Exercise (OAE); OA and Exercise and Laser (OAEL). The resisted exercise program started 2 weeks after the ACL injury, and were performed three times a week for 8 weeks, totaling 24 sessions consisting of climbing exercises with weights attached to their tails and laser irradiation (two- The results showed that all treated groups had the capacity to modulate some of the aspects related to the degenerative process due to ligament transection, but the association of resistance exercise with LLLT significantly decreased the density of chondrocytes (With or without LLLT) modulated the immunoexpression of IL-1 $\beta$ , caspase-3 and MMP-13. These results suggest that resisted exercises modulate the changes The present work evidences the great need of experimental studies that may explain the clinical mechanisms that favor the use of these resources. In the treatment of patients with OA in the knee.

**Keywords:** Low intensity laser therapy; Endurance exercises, articular cartilage; Osteoarthritis of the knee.

## Lista de Figuras

<b>Figura 1.</b> Fluxograma da estratégia da revisão sistemática.....	31
<b>Figura 2.</b> Fotomicrografias representativas das lâminas histológicas 8 semanas de intervenção. A organização dos condrócitos (#); fibrilação e irregularidades ( <b>➡</b> ).A) OA controle; B) OA e LLLT;C) OA e exercício; D) OA exercício e LLLT. (Coloração: H.E.; Barra de Escala: 100 $\mu$ m).....	51
<b>Figura 3.</b> Avaliação histopatológica utilizando o sistema OARSI. Resultados expressos como média $\pm$ erro padrão da média. OA controle (OAC); OA e LLLT (OAL); OA e exercício (OAE); OA exercício e LLLT (OAEL). (indicado como * $p < 0,001$ versus OA).....	52
<b>Figura 4.</b> Densidade de condrócitos.; OA controle (OAC); OA e LLLT (OAL); OA e exercício (OAE); OA exercício e LLLT (OAEL). (indicado como * $p < 0,05$ versus OA). Resultados expressos como média $\pm$ erro padrão da média. (indicado como * $p < 0,05$ versus OA).....	53
<b>Figura 5.</b> Densidade de espessura. OA controle (OAC); OA e LLLT (OAL); OA e exercício (OAE); OA exercício e LLLT (OAEL). (indicado como * $p < 0,05$ versus OA). Resultados expressos como média $\pm$ erro padrão da média. (indicado como * $p < 0,05$ versus OA).....	54
<b>Figura 6.</b> Secções representativas de imunomarcção para IL-1 $\beta$ . Condrócitos imunomarcados (flecha). A) OA controle; B) OA e LLLT; C) OA e exercício; D) OA exercício e LLLT. (Barra de Escalas: 50 $\mu$ m).....	55
<b>Figura 7.</b> Secções representativas de imunomarcção para caspase-3. Condrócitos imunomarcados (flecha). A) OA controle; B) OA e LLLT;C) OA e exercício; D) OA exercício e LLLT. (Barra de Escalas: 50 $\mu$ m).....	56
<b>Figura 8.</b> Secções representativas de imunomarcção para MMP-13. Condrócitos imunomarcados (flecha). A) OA controle; B) OA e LLLT;C) OA e exercício; D) OA exercício e LLLT. (Barra de Escalas: 50 $\mu$ m).....	57

## Lista de Tabelas

<b>Tabela 1.</b> LLLT associado com exercício físico em osteoartrite de joelho: Características dos ensaios clínicos e efeitos de tratamentos no período máximo de 15 semanas.....	33
<b>Tabela 2.</b> LLLT associado com exercício físico em osteoartrite de joelho: Características dos ensaios clínicos e efeitos de tratamentos no período máximo de 12 sessões.....	34
<b>Tabela 3.</b> Avaliação da LLLT associada aos exercícios físicos no controle da dor em pacientes com OA de joelho - GRADE.....	35
<b>Tabela 4.</b> Avaliação da LLLT associada aos exercícios físicos na funcionalidade em pacientes com OA de joelho - GRADE.....	36
<b>Tabela 5.</b> Avaliação metodológica dos estudos clínicos – Escala PEDro.....	37

## SUMÁRIO

Apresentação da Tese	13
<b>1. Contextualização</b>	<b>15</b>
<b>2. Objetivo</b>	<b>23</b>
<b>3. Estudo 1</b>	<b>25</b>
3.1. Introdução	27
3.2. Métodos	28
3.3. Resultados	31
3.4. Discussão	37
3.5. Referências Bibliográficas	39
<b>4. Estudo 2</b>	<b>43</b>
4.1. Introdução	45
4.2. Métodos	46
4.3. Resultados	50
4.4. Discussão	57
4.5. Conclusão	60
4.6. Referências Bibliográficas	60
<b>5. Considerações Finais e Perspectivas Futuras</b>	<b>65</b>
<b>6. Referências</b>	<b>66</b>
<b>7. Anexos</b>	<b>75</b>

## APRESENTAÇÃO

---

Esse trabalho foi estruturado na forma de artigos, sendo dividido em três partes e redigido de acordo com as exigências do programa de pós-graduação em Fisioterapia.

A primeira parte é constituída de uma contextualização e objetivo.

A segunda parte compreende dois artigos que possuem como fundamentação, que será descrita a seguir. O primeiro trabalho é sobre uma revisão sistemática sobre os efeitos da associação da terapia laser de intensidade e do exercício resistido em osteoartrite de joelho, denominado "Efeito da terapia a laser de baixa intensidade associado ao exercício terapêutico em osteoartrite de joelho: Uma revisão sistemática de estudos clínicos", submetido ao periódico Brasileiro de Reumatologia (B1 – Area 21 Capes; JCR = 0,864). O segundo artigo aborda os aspectos relacionados aos efeitos dos tratamentos investigados na revisão sistemática na progressão da osteoartrite de joelho, induzida em ratos, intitulado "Terapia a laser de baixa intensidade (LLLT) e exercícios resistidos modularam as alterações morfológicas relacionadas à progressão de osteoartrite nos joelhos de ratos", submetido ao periódico Lasers in Medical Science (A1 – Area 21 Capes; JCR = 2,46). Vale ressaltar que cada um dos artigos está apresentado seguindo as normas de publicação dos referidos periódicos.

A terceira parte é composta das considerações finais, perspectivas futuras, referências bibliográficas e anexos.

## **Parte I**

---

### **1. CONTEXTUALIZAÇÃO**

### **2. OBJETIVO**

## 1. CONTEXTUALIZAÇÃO

A cartilagem articular é um tecido conjuntivo especializado, avascular e aneural que reveste os componentes ósseos das articulações diartrodiais. Serve como um suporte de carga e absorção de impacto, permitindo assim o movimento articular sem atrito e a dissipação de cargas, sendo assim, desempenha um papel importante na função biomecânica das articulações. O desenvolvimento, manutenção e destruição da cartilagem ocorrem por vários fatores mecânicos ao longo de toda vida (FRANCIOZI *et al.*, 2013). Propriedades únicas deste tecido estão relacionadas com a composição e a estrutura da matriz extracelular, que predominantemente existem células denominadas condrócitos (MARTEL-PELLETIER *et al.*, 2008).

Os condrócitos são o único tipo de célula da cartilagem articular, eles mantêm a homeostase do tecido, reagem as lesões e realizam a remodelação. A morte e a sobrevivência dos condrócitos estão diretamente relacionadas com a integridade da matriz extracelular. A morte destes é denominada como apoptose, sendo uma forma de morte celular programada e um padrão singular de células apoptóticas. Desta forma, estas reações podem induzir a alterações do metabolismo articular, como o desequilíbrio entre a atividade anabólica e catabólica (BOOCOOCK, *et al.*, 2009; SHI *et al.*, 2006). Ainda, os condrócitos e células inflamatórias sintetizam citocinas pró-inflamatórias, como a interleucina 1 (IL-1 $\beta$ ), o fator de necrose tumoral  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) e a caspase 3, que desempenha papel importante no mecanismo de apoptose celular. Com isso, ocorrem sequencialmente estímulos ao aumento da produção de matriz de metaloproteinases (MMP's), que desempenham importante função na cascata de degradação, relacionado ao aumento de enzimas agrecanases, que são sintetizadas pelos condrócitos, tendo como função a inibição dos efeitos catabólicos das MMP's para manter a homeostase tecidual (FRANCIOZI *et al.*, 2013, RAHMATI *et al.*, 2016).

O processo de ativação das metaloproteinases (MMP's) aumenta a degradação do colágeno e proteoglicanas, além de estimular a síntese enzimática, que leva a induzir diminuição da produção de colágeno II e IX e o aumento dos colágenos I e III, consequentemente modificando a morfologia da matriz cartilaginosa (TORZILLI, *et al.*, 2010). Este processo relaciona-se à colagenases, como a MMP-1 (colagenase intersticial) e MMP13 (colagenase-3), que tem papel importante no remodelamento do



tecido cartilaginoso. Porém, a MMP13 parece ser a principal MMP da doença com a sua expressão aumentada em cartilagens osteoartríticas. A IL-1 $\beta$  também possui papel importante na expressão de MMP-1 e MMP13, na cartilagem em processo de degeneração, com isso, pode-se estabelecer que as mesmas são as principais colagenases envolvidas nas doenças degenerativas articulares, conhecidas como osteoartrite (OA) (BERENBAUM, 2013).

A OA é caracterizada por ser uma doença degenerativa progressiva que acomete a cartilagem articular, representando uma das principais causas de incapacidade física em todo o mundo (MARTEL-PELLETIER *et al.*, 2008). A fisiopatologia da OA é considerada multifatorial, e pode estar associada a fatores sistêmicos, como a etnia, idade, gênero, estado hormonal, fatores genéticos e estado nutricional. Ainda, a fisiopatologia da OA pode estar relacionada a alterações locais, tais como histórico de lesões articulares e situações ocupacionais, sobrecarga biomecânica anormal da articulação afetada, que inclui o excesso de peso corpóreo e alteração nos padrões biomecânicos de movimento, que podem proporcionar sobrecarga da mesma (HENROTIN, *et al.*, 2014).

A OA acomete cerca de 4% da população brasileira com diversas complicações físicas (MARTEL-PELLETIER *et al.*, 2008), e aumenta com a idade, onde 13,9% dos adultos com idade igual ou superior a 25 anos têm OA clínica em pelo menos uma articulação, enquanto que 33,6% dos adultos com 65 anos ou mais apresenta OA, ocasionando diversas consequências sociais e econômicas negativas (BERENBAUM, 2013). Em estudos epidemiológicos de grande porte, a OA é frequentemente definida em avaliações radiográficas padrão. A OA sintomática tem sua presença em ambos, tanto por dados radiográficos, como pela presença dos principais sintomas clínicos relevantes, sendo que sua prevalência é geralmente inferior ao da radiográfica (isto é, independentemente dos sintomas). E com o envelhecimento da população e o aumento da obesidade, sua prevalência deverá aumentar (NEOGI, 2013).

Por se tratar de uma articulação de suporte de peso corpóreo, a OA possui grande prevalência na articulação do joelho, e isto ocorre em função de alterações de distribuição dos vetores de forças, por meio da articulação femoropatelar, muitas vezes proporcionada pela fraqueza ou inibição dos músculos do quadril e do próprio joelho (JONES *et al.*, 2012, SHARMA, 2016). Estes desequilíbrios musculares proporcionam diferenças nas forças de reação ao solo, que possibilitam estresses ligamentares,

articulares e conseqüentemente, a indução de processos inflamatórios. Estas características que são advindas das lesões ocasionadas na cartilagem, com presença de sinovite articular, citocinas pró-inflamatórias, espécies reativas de oxigênio, óxido nítrico e enzimas responsáveis pela degradação da matriz extracelular, sendo estes considerados os maiores responsáveis pela OA (LANE *et al.*, 2011; RAHMATI *et al.*, 2016).

Essas modificações metabólicas e estruturais induzem a alterações funcionais do tecido articular, tais como a remodelação do osso subcondral, presença de osteófitos marginais e deformações do tecido articular (RENNER *et al.*, 2006; HENROTIN, *et al.* 2014), que podem acarretar em manifestações de sinais e sintomas clínicos, como dor, edema, rigidez, diminuição da amplitude de movimento (ADM), da força muscular e progressiva perda funcional que conseqüentemente, leva a redução da qualidade de vida dos pacientes (JAMTVEDT, *et al.* 2008; JONES *et al.*, 2012).

Desenvolver novas possibilidades terapêuticas para o tratamento dos pacientes com OA contribuirá para amenizar custos socioeconômicos, sequelas físicas, bem como estabelecer prognóstico de melhora na qualidade de vida dos indivíduos acometidos.

A melhora na ativação das condições neuromusculares (de forma primária), pode prevenir de forma eficaz a progressão de OA em joelhos, e isto poderá ocorrer a partir da regulação de forças transmitidas para a articulação e os tecidos periarticulares. Esta condição tem sido primordial para o avanço nas condições funcionais, e conseqüentemente na melhora da qualidade de vidas destes pacientes, sobretudo, com históricos de instabilidade articular como as possíveis causas de OA (O'CONNOR & BRANDT, 1993).

Neste contexto, diferentes tipos de intervenções têm sido estudadas na tentativa de prevenir e/ou diminuir o dano articular, bem como, amenizar os impactos inerentes a OA. Dentre estes recursos, há a prescrição de exercícios terapêuticos, que tem como objetivo melhorar o controle motor e estabilidade articular, sendo estes, importantes fatores para que se estabeleça condições de melhora funcional. Para isso, tem-se utilizado propostas de exercícios resistidos de mais variadas formas, e estes vem se destacando como um recurso eficiente na redução da dor e conseqüente melhora da função (FRANSEN *et al.*, 2010). Previamente, ou simultaneamente outros tratamentos têm sido propostos, alguns recursos terapêuticos para tratamento dos sinais e sintomas relacionados ao processo inflamatório articular. Existem inúmeras prescrições médicas com a utilização de medicamentos, como sulfato de Condroitina e Glicosamina, que

vem sendo descritas com ação anti-inflamatória, analgésica e com resultados positivos na melhora da morfologia da cartilagem (SILVA *et al* 2009). Porém, existem divergências na literatura, que fazem julgar o potencial efeito destes medicamentos, e consequentemente existem várias recomendações em diretrizes de sociedades internacionais para o tratamento de OA de quadril/ joelho e outras, que não recomendam ou limitam para algumas condições (HEROTIN *et al* 2014).

O exercício terapêutico é recomendado em diretrizes internacionais, como tratamento não farmacológico para osteoartrite de joelho. Vários estudos demonstraram que há reduções significativas da dor, quando submetidos a protocolos de exercícios resistidos, confirmando assim a eficácia do exercício de resistência. Uma dessas revisões incluíram outras intervenções, como exercícios aeróbicos, exercício de desempenho ou exercício misto, considerando-os também eficientes.

Uma revisão em 2013 analisou o efeito do exercício resistido, e encontrou evidências de que a modalidade com resistência apresenta um benefício significativo (em curto prazo) na rigidez, quando comparado a outras modalidades. Devido à expansão das pesquisas na área, ensaios clínicos podem avaliar a eficácia em longo prazo do exercício resistido para osteoartrite de joelho (LI *et al*, 2015).

O exercício físico é uma condição de estímulo ao metabolismo corpóreo, que pode ser recomendado como forma terapêutica de caráter preventivo e reabilitativo na OA de joelho, cujos benefícios são comprovados pelo fortalecimento da musculatura esquelética, melhora da dor, pela restauração da amplitude de movimento, e da realização das atividades de vida diária (WIDEMAN, *et al*, 2014). Estes benefícios podem ser explicados por meio dos estímulos biomecânicos proporcionados pelo exercício, e que geram sinalizações moleculares responsáveis por modular aumento da expressão de genes anabólicos tais como, agrecano (ACAN), colágeno tipo 2 alfa 1 (COL2 $\alpha$ 1) e inibidor de metalopeptídase (TIMPs), e diminuir a expressão da família das MMPs, além de impedir a transcrição de genes responsáveis pela síntese de mediadores pró-inflamatórios (FITZGERALD *et al.*, 2004; MADHAVAN *et al.*, 2006; KNOBLOCH *et al.*, 2008). No entanto, esta modulação é dependente da magnitude, frequência e duração de forças compressivas aplicadas sobre o tecido articular (STODDART *et al.*, 2006).

Mesmo estes sendo considerados como exercícios de cadeia cinética fechada, clinicamente não há relação com a incidência de lesões articulares, e que a prática de atividade física pode ser a chave para se melhor conduzir os sinais clínicos,

demonstrando efeitos benéficos em indivíduos com OA nas mais variadas severidades (CHAKRAVARTY *et al.*, 2008, BENNELL *et al.*, 2011). Quanto à prescrição de exercícios para tratamento da OA, há evidências que apontam favorecimento à prevenção do processo de degradação da cartilagem articular em condições de OA, visto que estes exercem efeitos anabólicos, anti-inflamatórios e antioxidantes sobre o tecido articular (ALFREDO *et al.*, 2011). Foi demonstrado que forças compressivas proporcionadas pelos exercícios resistidos em baixas magnitudes, como exercícios aquáticos, reduzem as possibilidades de dano articular, por aumentar a expressão de proteoglicanas e colágeno, previamente inibidos por citocinas pró-inflamatórias (KNOBLOCH *et al.*, 2008; SOUZA, *et al* 2014).

Resultados semelhantes foram encontrados com a utilização de um protocolo de exercícios resistidos, que atuaram de forma eficiente no remodelamento do colágeno articular em modelo animal. Foi demonstrado que o exercício aplicado três vezes por semana, durante dois meses proporcionou maior densidade de fibras de colágeno e a expressão do colágeno tipo II, beneficiando o remodelamento do tecido cartilaginoso (VASILCEAC 2012).

Ainda nesta premissa, outros estudos corroboram com as informações supracitadas, como o estudo realizado por Cifuentes *et al.* (2010) que apresentaram evidências que 8 semanas de exercício aeróbico moderado em animais com OA induzida por iodoacetato de sódio, foi capaz de reduzir a síntese de citocinas pró-inflamatórias (IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$ ), e principalmente, manter o conteúdo de proteoglicanos, que atuam como sistema de absorção de choque mecânico. Os estudos clínicos supracitados, apresentam efeitos promissores do exercício físico moderado na melhora funcional em pacientes com OA, apesar de ser considerado um modelo experimental agudo (SEMANIK *et al.*, 2012). Porém, existem trabalhos que não corroboram com estudos acima, como por exemplo, a pesquisa de Boudenoty, e colaboradores (2014) que demonstraram efeitos do treinamento resistido intervalado em animais, como, não estimulação á produção de osteócitos nas lacunas ósseas das regiões do osso subcondral, e conseqüentemente não previne aumento das lesões, em condições degenerativas articulares induzidas por agentes químicos. Porém, estes resultados podem estar relacionados à condição inflamatória aguda e conseqüentemente não representa fidedignamente o quadro clínico comum em pacientes que tende a cronicidade.

Apesar da divergência e diversidade de protocolos terapêuticos que avaliam os efeitos do exercício físico em OA, a Sociedade Internacional de Pesquisas em

Osteoartrite (Osteoarthritis Research Society International - OARSI), relata que, tanto os exercícios aeróbicos quanto os exercícios de fortalecimento, exercem efeitos favoráveis sobre a cartilagem em processo artrítico (ZHANG *et al.*, 2010). No entanto, ainda não há um consenso sobre o protocolo de treinamento mais adequado (tipo, intensidade, duração e frequência), para a reabilitação de pacientes portadores de OA, bem como, a elucidação de modificações moleculares e metabólicas globais produzidas pelo exercício físico que determinam seus efeitos benéficos na OA. Isto ressalta a importância de estudos que apresentem estes efeitos isolados do exercício físico ou em associação, com recursos que possam complementar a terapêutica, e o quanto estes podem apresentar potencial para atuar na melhora funcional e da qualidade de vida em pacientes que apresentam o quadro degenerativo.

Com isso, outras propostas fisioterapêuticas tem se tornado cada vez mais promissoras no tratamento da OA, para atuar em associação ao exercício resistido, e uma delas é a Terapia Laser de Baixa Intensidade (LLLT) (RUBIO *et al.*, 2012).

A LLLT é uma modalidade terapêutica não invasiva que pode ser utilizada em inúmeras condições clínicas (SEMANIK *et al.*, 2012). O mecanismo de ação da LLLT é baseado na absorção da luz pelos tecidos, que produz alterações no metabolismo celular. Quando o laser é aplicado nos tecidos, a luz é absorvida por fotorreceptores localizados nas células, denominados cromóforos (COELHO, 2014). Uma vez absorvida, a luz pode modular reações químicas, que atuarão na respiração mitocondrial, a produção de oxigênio molecular e a síntese de ATP (STEIN 2005). Estes efeitos podem aumentar a síntese de DNA, RNA e proteínas reguladoras do ciclo celular, estimulando aumento da proliferação celular e estímulos á neurotransmissores que podem atuar na modulação da dor, mediadores endógenos e anti-inflamatórios (ALFREDO *et al.*, 2011).

Estas características proporcionam efeitos analgésicos, bioestimulante celular e de modulação do processo inflamatório, com grande influência na proliferação de fibroblastos, síntese de colágeno e regeneração óssea. Com isso, a LLLT se torna uma modalidade efetiva na busca da reparação tecidual, reduzindo significativamente condições dolorosas agudas e crônicas articulares, mediadas por mecanismos opióides e hormonais, que recentemente foram importantes para o tratamento da OA quando relacionados à dor e função do joelho (PEPLOW, CHUNG e BAXTER, 2010; ASSIS, *et al.*, 2012; COELHO, 2014). Este potencial terapêutico é dependente da aplicação de parâmetros de tratamento adequados, em especial, comprimento de onda, densidade de energia, potência, irradiância, número e tempo da sessão, dentre outros, assumindo a

existência de dosimetrias que possam potencializar suas ações biomoduladoras (RENNÓ *et al.*, 2011).

Os efeitos analgésicos, anti-inflamatórios e regenerativos encontrados na LLLT, têm sido evidenciados em relação à prevenção de lesões na cartilagem após a indução experimental de OA (BUBLITZ *et al.*, 2014). Pesquisas com modelos experimentais de OA evidenciaram que a LLLT promove uma série de modificações metabólicas e estruturais na cartilagem articular, tais como, aumento da síntese de proteoglicanas (GOTTLIEB *et al.*, 2006) e mucopolissacarídeo (sulfato de Condroitina) (LIN *et al.*, 2006), diminuição da apoptose de condrócitos (LIN *et al.*, 2012), melhor organização de condrócitos e fibras de colágeno (CALATRAVA *et al.*, 2007; GUERINO *et al.*, 2000). Bublitz, *et al* (2014) mostraram que a LLLT 808 nm nas fluências de 10 e 50 J/cm<sup>2</sup>, preveniram a progressão das modificações morfológicas comumente encontradas nas lesões articulares de joelhos em ratos, após transecção de ligamento cruzado anterior. Ainda, em estudos *in vivo* utilizando o modelo experimental de OA por transecção do ligamento cruzado anterior, a LLLT demonstrou atuar de forma preventiva no processo de degradação da cartilagem e diminuição da expressão de caspase-3, demonstrando efeitos importantes na inibição do catabolismo articular da OA. Tais achados podem estar relacionados ao potencial na regulação de IL2 e mediadores inflamatórios como TNF $\alpha$ , reduzindo os sinais e sintomas clínicos presentes na OA (DA ROSA, *et al*, 2012).

Peccinin e colaboradores (2008) demonstraram que o laser HeNe (632,8 nm) na fluência de 6 J/cm<sup>2</sup> induziu ao aumento de condrócitos em lesão osteocondral no joelho de coelhos. Além disso, Lin *et al.* (2010) afirmaram que o laser terapêutico 810 nm na fluência de 3 J/cm<sup>2</sup> preveniu a degradação do tecido articular e a apoptose de condrócitos, comprovado através da diminuição da expressão da caspase-3 da cartilagem de ratos submetidos à transecção do ligamento cruzado anterior .

Adbullah e colaboradores (2014), demonstraram que há efetividade na interação do LLLT combinado com exercício na diminuição do quadro doloroso, aumento da funcionalidade de joelho e conseqüentemente, aumento da performance, quando comparados ao grupo placebo do laser com exercício. Pode haver associação à atividade preventiva da degradação do tecido articular e a apoptose de condrócitos, comprovado através da diminuição da expressão da caspase-3 da cartilagem de ratos submetidos à transecção do ligamento cruzado anterior (LIN *et al.* 2010).

Uma revisão sistemática atual demonstrou que o tratamento (2-4 semanas) com LLLT parecem ser clinicamente relevantes em curto prazo, proporcionando o alívio da dor na OA de joelho. Experiências com animais sugeriram que a LLLT pode regenerar a cartilagem articular, inibir a apoptose de condrócitos e reduzir a inflamação da membrana sinovial. No estudo de revisão sistemática com metanálise proposto por Wang *et al.*, (2014) mostraram que a LLLT administrada dentro do tempo de tratamento citado acima, apresenta resultados relevantes em comparação ao placebo. Foi observada uma diminuição significativa da dor, redução da circunferência do joelho e melhora na microcirculação. Contudo, um sistema de revisão concluiu que os resultados foram conflitantes em diferentes estudos e podem depender do método de aplicação, incluindo comprimento de onda, duração do tratamento, dosagem e local de aplicação.

Diante do exposto, estudos demonstram o potencial de uso da LLLT como um importante recurso para estimular a regeneração ou retardo degenerativo da cartilagem, porém, ainda existem evidências limitadas que demonstram os efeitos deste recurso, principalmente relacionado à grande variabilidade de parâmetros utilizados (BROSSEAU *et al.*, 2000). Além disso, os mecanismos que explicam a ação da LLLT em tecidos como cartilagem, ainda é pouco elucidado, e para muitos esta modalidade de tratamento é indefinida (RUBIO *et al.*, 2012).

A terapêutica de exercícios que tem a associação da LLLT tem apresentado efeitos positivos na diminuição do catabolismo e conseqüentemente atuando no reparo da lesão. Apesar dos inúmeros estudos apontarem o LLLT e exercício resistido como recursos de eficiência no tratamento das condições inflamatórias e degenerativas, ainda há uma lacuna quanto à associação dos mesmos e os mecanismos que explicam os efeitos das inúmeras doses do LLLT, intensidade e modalidades dos exercícios (BENIEKA, *et al* 2011).

Portanto, faz-se necessário, estudos que possam avaliar os efeitos locais da associação de LLLT e exercício resistido, demonstrando os mecanismos que podem fazê-los se tornarem recursos importantes na tentativa de prevenir e/ou diminuir o dano articular, bem como, amenizar os impactos relacionados à função e conseqüentemente à qualidade de vida em indivíduos com OA (CIFUENTES *et al.*, 2011; RUBIO *et al.*, 2012).

## **2. OBJETIVO**

### **2.1. Objetivo geral**

Avaliar os efeitos da LLLT, exercício físico e a associação dos mesmos sobre o catabolismo na cartilagem articular em joelhos de ratos submetidos a um modelo experimental de osteoartrite induzida através da transecção do ligamento cruzado anterior (TLCA).

### **2.2. Objetivos específicos**

Avaliar através de técnicas histológicas se LLLT (associado ou não) e exercícios resistidos são capazes de induzir o retardo na progressão do processo degenerativo da cartilagem;

Avaliar se LLLT (associado ou não) e o exercício são capazes de modular a expressão dos mediadores inflamatórios e metaloproteínases (IL-1 $\beta$ , MMP-13 e caspase-3) que estão presentes da patogênese da OA;

Avaliar a morfologia da cartilagem de joelho com OA submetida aos tratamentos com exercício resistido e LLLT;

Avaliar a eficácia da LLLT associada ao exercício no tratamento de AO de joelho em modelos experimentais.



## Parte II

---

### 3. Estudo 1

"Efeito da terapia à laser de baixa intensidade associado ao exercício terapêutico em osteoartrite de joelho: Uma revisão sistemática de estudos clínicos e experimentais"

### 4. Estudo 2

"Terapia a laser de baixa intensidade (LLLT) e exercícios resistidos modularam as alterações morfológicas relacionadas à progressão de osteoartrite nos joelhos de ratos"

## PARTE II

---

### 3. Estudo 1

#### **Efeito da terapia à laser de baixa intensidade associado ao exercício terapêutico em osteoartrite de joelho: Uma revisão sistemática de estudos clínicos**

Luiz Henrique Gomes Santos<sup>1,2</sup>, Ana Laura Martins de Andrade<sup>1</sup>, Julia Risso Parisi<sup>1</sup>, Carla Roberta Tim<sup>3</sup>, Paulo Sérgio Bossini<sup>1</sup>, Ana Claudia Rennó<sup>1,3</sup>.

<sup>1</sup>Universidade Federal de São Carlos, Departamento de Fisioterapia, Rod Washington Luis Km 235, São Carlos, Brasil, 13565-905.

<sup>2</sup>Centro Universitário da Fundação Educacional Guaxupé - UNIFEG, Avenida Dona Floriana 463, Guaxupé, Brasil, 37800-000.

<sup>3</sup>Universidade Federal de São Paulo, Departamento de Biociências, Av. Ana Costa 95, Santos, Brasil, 11050-240.

#### **Autor para Correspondência**

Luiz Henrique Gomes Santos, Universidade Federal São Carlos, Departamento de Fisioterapia, Rod Washington Luis Km 235, São Carlos, Brasil, 13565-905 Tel.: +55 13 32218058; fax: +55 16 33518985. E-mail: profluizhenrique@yahoo.com.br

**Observação:** O manuscrito a ser avaliado foi submetido ao periódico **Revista Brasileira de Reumatologia** (B1 – Area 21 Capes; JCR = 0,864).

## **Resumo**

Avaliar os efeitos da terapia a laser de baixa intensidade associada à exercícios terapêuticos no tratamento da osteoartrite em joelhos, por meio de uma revisão sistemática onde foi considerado as intervenções em estudos clínicos e experimentais com animais. A busca foi realizada nas bases de dados Medline, PubMed, Scopus, Cochrane e por busca ativa em lista de referências bibliográficas dos artigos selecionados até outubro de 2016. A pesquisa foi realizada de acordo com as orientações do guia PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta- Analyses). Foi realizada a busca nos bancos de dados com as seguintes terminologias: laser therapy and exercise and knee osteoarthritis. As análises do conteúdo dos ensaios clínicos selecionados demonstraram que os exercícios terapêuticos associados à LLLT que podem ser utilizados para melhora da dor e qualidade de vida são: exercícios resistidos e exercícios resistidos associados à alongamentos. Porém, estes não são suficientes metodologicamente para demonstrar melhora da funcionalidade apresentando qualidade alta os estudos. Como os estudos clínicos incluídos nesta revisão sistemática têm uma alta qualidade metodológica, pode-se concluir que os exercícios terapêuticos utilizados pelos estudos melhoraram dor e funcionalidade na OA de joelho. Porém sugere-se que os estudos qualifiquem os protocolos de exercícios associados á LLLT, a fim de demonstrar os efeitos da LLLT na potencialização dos efeitos dos exercícios na OA.

**Palavras-Chave:** Osteoartrite, Laserterapia de baixa intensidade, exercícios terapêuticos

### 3.1. INTRODUÇÃO

Osteoartrite de joelho (OA) é uma doença crônica degenerativa que apresenta sintomas como rigidez matinal, redução da amplitude de movimento, dor articular crônica, e fraqueza muscular<sup>1</sup>. Estas características clínicas podem estar associadas com diminuição de cargas na arquitetura dos músculos, assim como a consequente diminuição da força de tensão dos fascículos e fibras musculares<sup>2,3</sup>. A redução de absorção de cargas pela estrutura muscular pode promover um impacto negativo na funcionalidade dos pacientes, pois proporciona potencial redução na velocidade de contração muscular, pela interferência na diminuição dos sarcômeros em série<sup>3,5</sup>.

Estas características estruturais e biomecânicas possuem repercussões clínicas importantes, e muitas vezes, o controle primário dos sintomas da OA é realizado por meio de terapias não farmacológicas, como alongamentos e exercícios resistidos, e estas ferramentas terapêuticas estão fundamentadas através de *guidelines*<sup>2</sup>. O tratamento preconizado para a maioria dos pacientes com OA é o tratamento conservador, que ajuda a reduzir e aliviar os sintomas, melhorar a realização de atividades funcionais, prevenir a perda de força muscular e retardar a progressão da OA. Dentre os diversos tratamentos conservadores, os exercícios têm sido indicados para a redução da dor e melhora funcional, sendo que, para a OA de joelho, já existe bom nível de evidência clínica para o exercício aeróbico e o treinamento de força muscular<sup>5</sup>.

O tratamento fisioterapêutico atua diretamente na melhora da dor, função, qualidade de vida, mobilidade, função articular, estabilização do joelho, redução de cargas na articulação, promoção de atividades de adaptação, e prevenção de deformidades decorrentes da progressão da doença<sup>4</sup>. Em uma análise de revisão sistemática, Jamtvedt *et al.*<sup>5</sup>, apresentaram estudos que apontaram a fisioterapia como a principal responsável pelo tratamento na OA de joelho, com alta qualidade de evidência, principalmente para exercícios, que implicam em grande potencial de melhora na função e dor. Além destas, a acupuntura, estimulação nervosa transcutânea (TENS) e a laserterapia de baixa intensidade (LLLT) com moderada qualidade de evidências para as mesmas variáveis<sup>5</sup>. E outras intervenções apresentaram baixa qualidade ou não demonstraram evidência quando relacionado às mesmas variáveis. LLLT demonstrou sucesso no controle da dor aguda e crônica, em distúrbios musculoesqueléticos como osteoartrite da coluna cervical<sup>6</sup>, epicondilite lateral e medial<sup>7</sup>, e dor na coluna lombar<sup>8</sup>.

Porém, são necessários estudos que apontem os efeitos da LLLT e expliquem os mecanismos de ação significantes para o efeito clínico nas condições de dor, e funcionalidade em diversas condições músculoesqueléticas<sup>9</sup>. Alfredo e colaboradores (10), demonstraram que há efetividade na interação do LLLT combinado com exercício, na diminuição do quadro doloroso, aumento da funcionalidade de joelho e conseqüentemente, aumento da performance, quando comparados ao grupo placebo do laser com exercício. Considerando os níveis de evidências para a terapêutica de LLLT e os exercícios físicos com eficiência de forma isolada no tratamento da OA, fazem-se necessários estudos que avaliem a interação destas ferramentas terapêuticas. Em vista da necessidade de compreender os mecanismos que possam explicar a eficácia do LLLT associado aos exercícios físicos na OA, esta revisão tem como objetivo fornecer evidências científicas sobre os efeitos da associação do LLLT e exercícios físicos na OA de joelho de estudos clínicos e experimentais.

## **3.2. METODOLOGIA**

### **3.2.1 Estratégia de Busca**

A revisão sistemática da literatura foi realizada após levantamento bibliográfico junto aos bancos de dados Medline, PubMed, Scopus, Cochrane e por busca ativa em lista de referências bibliográficas dos artigos selecionados de 1994 até outubro de 2016. A pesquisa foi realizada de acordo com as orientações do guia PRISMA 32 (*Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta- Analyses*). Foi realizada a busca nos bancos de dados com as seguintes terminologias: *laser therapy and exercise and knee osteoarthritis*.

### **3.2.2. Critério de inclusão**

Foram selecionados artigos completos publicados em periódicos nacionais e internacionais, em Inglês e Português, desde o artigo mais antigo publicado sobre o assunto de 1994 até outubro de 2016, que abordaram o uso do LLLT associado ao exercício resistido no controle da dor e funcionalidade de pacientes com osteoartrite de

joelho. Ainda, foram inclusos estudos experimentais que realizaram análises histológicas e bioquímicas.

### **3.2.3. Tipo de estudo**

Foram selecionados ensaios clínicos randomizados publicados como artigos completos que utilizam o laser de baixa intensidade associado ao exercício físico como o principal recurso para o tratamento da OA de joelho, visando melhora da dor e funcionalidade.

### **3.2.4. Tipo de participantes**

Foram incluídos apenas os estudos que relataram resultados em indivíduos portadores de osteoartrite de joelho.

### **3.2.5. Tipo de intervenção**

Foram selecionados os estudos que investigam a ação do laser de baixa intensidade associado ao exercício físico como principais recursos para tratamento da dor e funcionalidade, decorrente da osteoartrite de joelho.

### **3.2.6. Tipos de resultados relatados**

Foram incluídos estudos que investigaram variáveis relacionadas à dor e funcionalidade de indivíduos com OA de joelho. Os artigos clínicos incluídos nesta revisão tiveram sua qualidade metodológica avaliada pela escala PEDro - Physiotherapy Evidence Database.

### **3.2.7. Avaliação da qualidade e relevância dos estudos clínicos**

Utilizou-se a Escala PEDro, baseada na lista de Delphi<sup>11</sup> e traduzida para a língua portuguesa em 2009<sup>11</sup>, para avaliar a qualidade metodológica dos estudos incluídos. Ela é constituída de 11 itens que avaliam a qualidade metodológica dos ensaios clínicos aleatórios, observando dois aspectos do estudo: se ele apresenta validade interna e se contém informações estatísticas suficientes para torná-lo interpretável. Apenas dez dos 11 critérios avaliados recebem pontuação<sup>11</sup>. Cada critério é pontuado de acordo com a sua presença ou ausência no estudo avaliado. A pontuação final é obtida pela soma de todas as respostas positivas. Estudos com escore igual ou maior a 5 (50%) foram considerados de alta qualidade. Desta forma, estes foram classificados em pequenas (< 0,20), moderada (cerca de 0,50) ou grande (> 0,80), de acordo com Moseley *et al.*,<sup>13</sup>. No entanto, de acordo com Maher<sup>14</sup>, devido à impossibilidade de se alcançar certas condições, como cegamento dos terapeutas ou sujeitos em estudos de intervenção, a máxima pontuação que poderia ser alcançada por um estudo de intervenção seria 8/10. Assim, para a presente revisão, todos os estudos randomizados com pontuação maior ou igual a 5 (5/8) foram considerados estudos de alta qualidade metodológica.

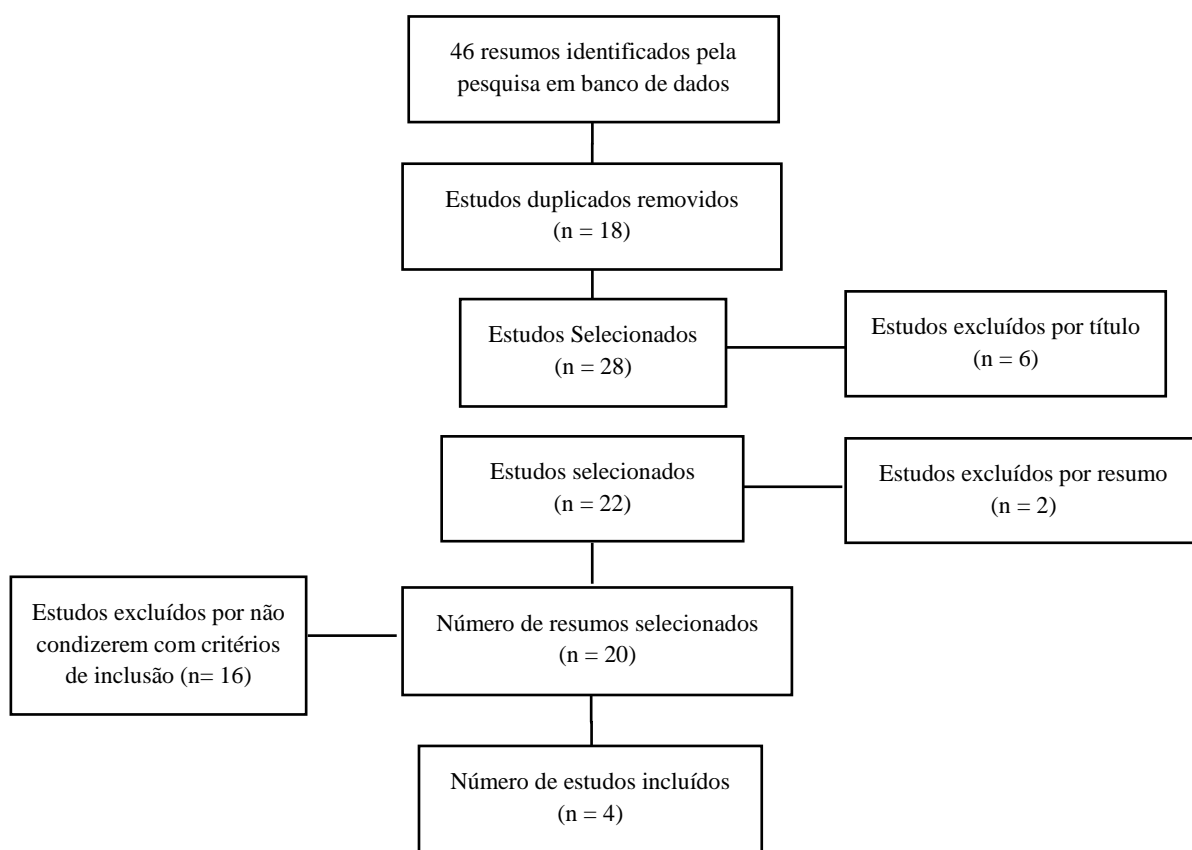
Os estudos classificados por meio da Escala PEDro foram analisados de forma independente por dois avaliadores (A.L.M.A., J.R.P.) e, nos casos em que houve divergência, os itens discrepantes foram revistos e discutidos com um terceiro avaliador (L.H.G.S.) até a obtenção de consenso sobre a pontuação.

Devido à heterogeneidade dos estudos primários, não foi possível realizar uma meta-análise. A fim de comparar o tamanho do efeito (ES) de cada técnica, foi calculada a diferença média para cada grupo de comparação separadamente, considerando os valores antes e após a intervenção. Com isso, há possibilidade de garantir a média ponderada ou normalizada.

## **3.3. RESULTADOS**

### **3.3.1. Seleção dos estudos**

Na busca por estudos clínicos foram encontrados 41 artigos (PubMed: 21; Cochrane:13; Scopus: 8) e para os estudos laboratoriais cinco (PubMed: 3; Cochrane: 2) totalizando 46 estudos. Após esta etapa, os estudos duplicados foram removidos, totalizando 28 artigos. Em seguida, foi realizada a leitura do título e resumo, para aqueles que não estavam condizentes com a proposta desta revisão foram excluídos, resultando 20 artigos. Ainda, foi feita uma análise seguindo os critérios de inclusão e assim, dezesseis estudos foram removidos. Desta forma, ao final das etapas foram considerados 4 estudos para a revisão (Figura 1).



**Figura 1** – Fluxograma da estratégia da revisão sistemática.

### 3.3.2. Dados gerais dos artigos selecionados

Para facilitar a visualização dos artigos incluídos nesta revisão, selecionaram-se algumas informações, as quais foram resumidas nos seguintes indicativos: Estudo, número de participantes, Período de tratamento, Avaliação da dor por meio da escala visual e analógica de dor (VAS) pré e pós-intervenção (VAS - pré, VAS - após),



Avaliação dos índices de qualidade de vida por meio do questionário Western Ontario & McMaster Universities Osteoarthritis Index, pré e pós-intervenção (WOMAC – pré, WOMAC - após). O tamanho da amostra dos 4 estudos clínicos variou de 46 a 90 indivíduos com OA. Quanto aos efeitos encontrados, na maioria dos estudos, houve melhora significativa quanto à dor e qualidade de vida, que foram evidenciados pela escala analógica de dor e pelo questionário WOMAC, quando comparado entre as avaliações pré e pós-intervenção. Todos os estudos foram ensaios clínicos, com avaliações pré e pós-intervenção, e teve como maior limitação o fato de não haver nenhum estudo com avaliação em longo prazo (seguimento) do tratamento (Tabela 1).

As análises do conteúdo dos ensaios clínicos selecionados demonstraram que os exercícios terapêuticos associados à LLLT que podem ser utilizados para melhora da dor e qualidade de vida são: exercícios resistidos e exercícios resistidos associados à alongamentos. E o comprimento de onda predominante foi de 904nm, com um estudo em que foi utilizado 830nm da LLLT. A largura de pulso teve variação de 700<sup>17,18</sup> a 2800 Hz<sup>16</sup>, energia por ponto variou de 2<sup>16</sup> a 6<sup>17</sup> joules, com grande variação dos pontos de aplicação no joelho que foram de 2<sup>16</sup> a 12<sup>18</sup> pontos, conseqüentemente grande variação na energia total (1.25J<sup>19</sup> à 27J<sup>18</sup>) e uma média de sessões que variou de 9 a 12 sessões<sup>17,18</sup>. Apesar desta grande variação dos parâmetros e dos protocolos de exercícios, todos os resultados foram considerados positivos na avaliação proposta (Tabela 2).

**Tabela 1:** LLLT associado com exercício em osteoartrite de joelho: Características dos ensaios clínicos e efeitos de tratamentos no período máximo de 15 semanas. VAS – Escala visual analógica de dor pré e pós-intervenção; WOMAC – Questionário de avaliação da qualidade de vida em pacientes com osteoartrite pré e após intervenção.

<b>Estudo</b>	<b>Nº de participantes</b>	<b>Período de tratamento</b>	<b>VAS (pré)</b>	<b>VAS (após)</b>	<b>WOMAC (pré)</b>	<b>WOMAC (após)</b>
<b>Gur et al., 2003</b>	90	14 semanas	GRUPO I (LLLT of 5 Min, 3 J + exercício) 7.21	GRUPO I (LLLT of 5 Min, 3 J + exercício) 3.58	GRUPO I ( LLLT of 5 Min, 3 J + exercício): 54.5	GRUPO I ( LLLT of 5 Min, 3 J + exercício): 29.5
			GRUPO II (LLLT of 3 Min, 2 J + exercício) 7.44	GRUPO II (LLLT of 3 Min, 2 J + exercício) 3.8	GRUPO II (LLLT of 3 Min, 2 J + exercício): 49.5	GRUPO II (LLLT of 3 Min, 2 J + exercício): 26.6
			Placebo			
<b>Alfredo et al., 2012</b>	40	11 semanas	5.32	2.58	46.05	26.65
<b>Kheshie et al., 2014</b>	53	6 semanas	7.68	2.97	44.37	24.53
<b>Youssefl, et al., 2016</b>	60	8 semanas	GRUPO I (LLLT of 3 J/cm <sup>2</sup> ): 5.8	GRUPO I (LLLT of 3 J/cm <sup>2</sup> ):4	GRUPO I (LLLT of 3 J/cm <sup>2</sup> ): 52.9	GRUPO I (LLLT of 3 J/cm <sup>2</sup> ):42.8
			GRUPO II (LLLT of 6 J/cm <sup>2</sup> ):5.6	GRUPO II (LLLT of 6 J/cm <sup>2</sup> ):4.3	GRUPO II (LLLT of 6 J/cm <sup>2</sup> ):53.1	GRUPO II (LLLT of 6 J/cm <sup>2</sup> ):44.6

**Tabela 2** - LLLT associado com exercício em osteoartrite de joelho: Características dos ensaios clínicos e efeitos de tratamentos no período máximo de 12 sessões.

Estudos	Exercícios	$\lambda$ (nm)	Output Power (W)	Frequência de Pulso (Hz)	Duração do Pulso ( $\mu$ s)	Energia por ponto	Tempo (sec)	Total de pontos irradiados	Energia Total	Total Aplicações (sessões)	Resultados
<b>Gur et al., 2003</b>	Exercícios resistidos	904	20	2500	2000	1,5 J	300	2	6J	10	+
	Sem carga			2800		1 J	120		4J		
<b>Alfredo et al., 2012</b>	Exercícios Resistidos Alongamento Equilíbrio	904	20	700	4300	2,3 J	50	9	27J	9	+
<b>Kheshie et al., 2014</b>	Exercícios Resistidos + Alongamentos Mobilização	830	0.8	1000	—	—	33	—	1.25J	12	+
<b>Youssef et al., 2016</b>	Exercícios Resistidos + Alongamentos	904	20	700	4300	3J	50	9	48	—	+
		880							27		

### 3.3.3. Avaliação da qualidade dos estudos

Para a avaliação da qualidade dos estudos, pode-se observar que, quanto ao item dor, pacientes com OA de joelho submetidos a intervenções com exercícios resistidos associados à LLLT, apresentaram melhora significativa com dados pouco conclusivos demonstrando uma avaliação moderada pelo GRADE. Quanto à avaliação dos efeitos foi relacionada ao item funcionalidade e dor, pode-se observar que não houve nível de evidência para a aplicação das metodologias avaliadas (Tabela 3 e 4 respectivamente).

**Tabela 3** – Avaliação da LLLT associada aos exercícios na funcionalidade em pacientes com OA de joelho - GRADE

**Laser de baixa intensidade associado a exercícios resistidos**

Resultados	Limitações	Inconsistência	indireta	Imprecisão	Viés de Publicação	(n)	Comparação(n)	Estatística	GRADE Nível de evidência
LLLT + protocolo de exercício X controle/Sham (WOMAC)									
					Gur <i>et al.</i> , 2003	60	30	-0.318	
								-0.444	
					Alfredo <i>et al.</i> , 2011	23	23	-0.15	
					Kheshie <i>et al.</i> , 2014	34	17	-0.546	
					Youssef <i>et al.</i> , 2016	36	15		
	Não	Não	Não	Série	Não detectado				Moderado

**Tabela 4** - Avaliação da LLLT associada aos exercícios no controle da dor em pacientes com OA de joelho - GRADE

<b>Laser de baixa intensidade associado a exercícios resistidos</b>									
<b>Resultados</b>	<b>Limitações</b>	<b>Inconsistência</b>	<b>indireta</b>	<b>Imprecisão</b>	<b>Viés de Publicação</b>	<b>(n)</b>	<b>Comparação(n)</b>	<b>Estatística</b>	<b>GRADE</b>
									<b>Nível de evidência</b>
LLLT + protocolo de exercício X controle/Sham (VAS)									
					Gur <i>et al.</i> , 2003	60	30	-0.275	
								-0.212	
					Alfredo <i>et al.</i> , 2011	23	23	0.0401	
					Kheshie <i>et al.</i> , 2014	34	17	-0.524	
					Youssef <i>et al.</i> , 2016	36	15		
<b>Não</b>	<b>Não</b>	<b>Não</b>	<b>Série</b>	<b>Não detectado</b>					<b>Moderado</b>

De acordo com os critérios estabelecidos pela escala PEDro, os resultados da avaliação metodológica demonstraram que todos os estudos incluídos nesta revisão apresentaram qualidade metodologia alta, sendo a menor pontuação cinco e a maior dez, com uma pontuação média dos estudos de 6,75. Sendo que o estudo que apresentou maior energia do LLLT total e menor tempo de intervenção apresentou-se com a maior pontuação<sup>18</sup> (Tabela 5).

**Tabela 5** – Avaliação metodológica dos estudos clínicos – Escala PEDro

Estudo	Elegibilidade especificada	Randomização de participantes em grupos	Distribuição dos participantes foi cego	Todos os grupos tiveram prognóstico semelhante	Todos os participantes participaram de forma cega	Todos os Fisioterapeutas participaram cega	Todos os avaliadores participaram cega	Houve 85% dos participantes estiveram em ao menos um resultado	Analse aos resuauatos por intenção de tratar	Houve comparações entre grupos	Precisão e variabilidade medidas pelo menos um resultado	Total pontos
Gur <i>et al.</i> , 2003	0	1	0	1	1	0	1	1	0	1	1	7
Alfredo, 2012	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	8
Kheshie <i>et al.</i> , 2014	1	1	0	1	1	0	1	1	0	1	1	7
Youssef <i>et al.</i> , 2016	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	5

### 3.4. DISCUSSÃO

A análise dos estudos destacou que existe uma baixa variedade de exercícios terapêuticos utilizados na prática clínica em fisioterapia com pacientes com OA de joelho. Dos 4 estudos avaliados pela Escala PEDro<sup>11</sup>, todos apresentaram uma pontuação que permitiu considerá-los estudos de alta qualidade metodológica.

As propostas de tratamento dos estudos presentes nesta revisão sistemática foram satisfatórias quando comparado às intervenções placebo, não só quanto aos exercícios terapêuticos utilizados em associação com a LLLT (exercícios resistidos<sup>16, 18</sup>, quanto exercícios resistidos associados a alongamentos<sup>17,19</sup>), mas também quanto à alta qualidade

metodológica. No entanto, cabe ressaltar que não há padrões consideráveis de melhora na funcionalidade.

Em relação aos desfechos avaliados, é importante ressaltar que a utilização de instrumentos validados e com confiabilidade de aplicação tem favorecido a consistência dos resultados encontrados. O questionário Knee injury and Osteoarthritis Outcome Score (KOOS) foi o instrumento de avaliação mais utilizado pelos autores dos estudos incluídos nesta revisão. O KOOS é uma versão validada e baseada no questionário Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis Index (WOMAC)<sup>20</sup>.

A representatividade das amostras pode ser considerada adequada, com média de 62,25 sujeitos por grupo, sendo que apenas um estudo utilizou 46 sujeitos por grupo<sup>18</sup>. A maioria dos estudos usou cálculo amostral para definir o número mínimo de sujeitos em cada grupo<sup>16,17,18,19</sup>.

A fraqueza do quadríceps tem sido alvo de vários estudos que demonstram que seu fortalecimento seria o ponto chave para controlar a dor, a função física e a qualidade de vida dessa população. Além disso, esse recurso terapêutico contribui para a melhora no controle da oscilação postural, conseqüentemente, melhora as habilidades para a realização das tarefas funcionais<sup>20</sup>. No entanto, o presente estudo demonstra dados pouco relevantes em relação à melhora funcional, e pode estar relacionado com o tempo de tratamento e a frequência das sessões e a alta variabilidade nos parâmetros da LLLT, que ainda parecem inconclusivos na literatura, já que varia muito entre os estudos.

Em uma revisão sistemática sobre exercícios para a OA de joelho<sup>21</sup>, com a busca de determinar se o exercício terapêutico teria benefícios na redução da dor articular e melhora da função física, demonstrou que as pesquisas precisam descrever detalhadamente os procedimentos utilizados, como também o tempo de intervenção, frequência de treinamento e intensidade de treino. A falta da descrição completa dos procedimentos dificulta a reprodução da intervenção na clínica e em novos estudos. O mesmo tem sido evidenciado com a LLLT, pois, em uma intervenção do LLLT isolado, observou-se alterações da temperatura, fato que sugere alterações circulatórias que representam benefícios na melhora na dor em curto prazo em pacientes com osteoartrite<sup>22</sup>. Os resultados dos estudos analisados na presente revisão sistemática, os quais utilizaram a LLLT associada ao exercício resistido e o exercício resistido somado ao alongamento, demonstraram efeitos positivos para dor<sup>16,17,18,19</sup>. No entanto, para o desfecho funcionalidade, os estudos não demonstraram nenhuma diferença para essa variável.

Entretanto, na prática clínica, a LLLT associada ou não a exercícios terapêuticos são utilizados pelos fisioterapeutas, mesmo sem evidências científicas que comprovem a efetividade nessa doença. Mediante os resultados encontrados nesta revisão, na qual os estudos apresentaram qualidade metodológica satisfatória, pode-se concluir que a LLLT associada aos exercícios terapêuticos (utilizados pelos estudos) melhoraram parâmetros como dor em OA de joelho, sugerindo que eles podem conduzir decisões clínicas seguras e propiciar resultados mais efetivos nas intervenções OA de joelho<sup>28</sup>. Porém, existem questões seguras que devem ser consideradas, como por exemplo, a OA como fator responsável por desencadear sensibilização central nestes pacientes. A literatura científica pesquisada nesta revisão não considera estas variáveis que são fortemente responsáveis pela cronicidade do quadro clínico<sup>29</sup>. Sugere-se maior número de intervenções que visam avaliar a associação da LLLT e exercícios experimentais com animais, para que se tenha melhor explicação sobre os mecanismos de atuação dos sugeridos recursos na melhora das capacidades físicas e na dor, e estudos clínicos que avaliem as condições relacionadas á sensibilização central como fatores de cronificação da doença.

### **3.5. REFERÊNCIAS**

- 1 - Hunter DJ and Eckstein F. Exercise and osteoarthritis. *J Anat* 2009; 214: 197–207
- 2 - Mairet S, Maisetti O, Rolland E and Portero P. Neuromuscular and architecture alterations of the vastus lateralis muscle in elderly patients with unilateral knee osteoarthritis. *Ann Readapt Phys* 2008; 51: 16–23.
- 3 - Vaz MA, Baroni BM, Geremia JM, et al., Neuromuscular electrical stimulation (NMES) reduces structural and functional losses of quadriceps muscle and improves health status in patients with knee osteoarthritis. *J Orthop Res* 2013; 31(4): 511–516.
- 4 - Huleatt JB, Campbell KJ, La Prade RF. Nonoperative treatment approach to knee osteoarthritis in the master athlete. *Sports Health*. 2014;6(1):56–63.
- 5 - Jamtvedt G, Dahm KT, Christie A, et al., Physical therapy interventions for patients with osteoarthritis of the knee: an overview of systematic reviews. *Phys Ther* 2008; 88: 123–136.



6 - Hegedus B, Viharos L, Gervain M, Galfi M (2009) The effect of low-level laser in knee osteoarthritis: a double blind, randomized, placebo-controlled trial. *Photomed Laser Surg* 27(4):577–584

7 - Ozdemir F, Birtane M, Kokino S (2001) The clinical efficacy of low power laser therapy on pain and function in cervical osteoarthritis. *Clin Rheumatol* 20:181–4

8 - Simunovic Z, Trobonjaca T, Trobonjaca Z (1998) Treatment of medial and lateral epicondylitis—tennis and golfer's elbow—with low laser therapy: a multicenter double-blind, placebo-controlled study on 324 patients. *J Clin Laser Med Surg* 16:145–51

9 - Alghadir A, Omar MTA, Al-Askar AB, Al-Muteri NK. Effect of low-level laser therapy in patients with chronic knee osteoarthritis: a single-blinded randomized clinical study. *Lasers Med Sci* (2014) 29:749–755.

10 - Alfredo PP, Bjordal JM, Dreyer SH, Meneses SRF, Zaguetti G, Ovanessian V, Fukuda TY, Junior WS, Martins RABL, Casarotto RA, Marques AP. Efficacy of low level laser therapy associated with exercises in knee osteoarthritis: a randomized double-blind study. *Clinical Rehabilitation*. 2012; 26(6) 523–533

11 - Miyaguchi M, Kobayashi A, Kadoya Y, Ohashi H, Yamano Y, Takaoka K. Biochemical change in joint fluid after isometric quadriceps exercise for patients with osteoarthritis of the knee. *Osteoarthritis Cartilage*. 2003;11(4):252-9.

12 - Verhagen AP, de Vet HC, de Bie RA, Kessels AG, Boers M, Bouter LM, et al.,. The Delphi list: a criteria list for quality assessment of randomized clinical trials for conducting systematic reviews developed by Delphi Consensus. *J Clin Epidemiol*. 1998;51(12):1235-41.

13 - Hortobágyi T, Garry J, Holbert D, Devita P. Aberrations in the control of quadriceps muscle force in patients with knee osteoarthritis. *Arthritis Rheum*. 2004;51(4):562-9. 13.

14 - Moseley AM, Herbert RD, Sherrington C, Maher CG. Evidence for physiotherapy practice: a survey of the Physiotherapy Evidence Database (PEDro). *Aust J Physiother*. 2002;48(1):43-9. 41.

15 - Maher CG. A systematic review of workplace interventions to prevent low back pain. *Aust J Physiother.* 2000;46 (4):259-69.

16 - Gur A, Cosut A, Sarac AJ, Cevik R, Nas K, Uyar A. Efficacy of different therapy regimes of low-power laser in painful osteoarthritis of the knee: a double-blind and randomized-controlled trial. *Lasers Surg Med.* 2003;33(5):330-8.

17 - Youssef EF, Muaidi QI, Shanb AA. Effect of Laser Therapy on Chronic Osteoarthritis of the Knee in Older Subjects. *J Lasers Med Sci.* 2016 Spring;7(2):112-9

18 - Kheshie AR, Alayat MS, Ali MM. High-intensity versus low-level laser therapy in the treatment of patients with knee osteoarthritis: a randomized controlled trial. *Lasers Med Sci.* 2014 Jul;29(4):1371-6. doi: 10.1007/s10103-014-1529-0.

21 - Marques AP, Alfredo P, Dreyer S, Meneses S, Casarotto R. Low-level laser therapy and exercise in patients with knee osteoarthritis. *Physiotherapy*, 2011, 97, eS753

22 - Fransen M, McConnell S. Exercise for osteoarthritis of the knee. *Cochrane Database Syst Rev.* 2008;8(4).

23 - Hegedus B, Viharos L, Gervain M, Galfi M, The Effect of Low-Level Laser in Knee Osteoarthritis: A Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Trial. *Photomedicine and Laser Surgery* Volume 27, Number 4, 2009.

24 - Reis JG, Gomes MM, Neves TM, Petrella M, De Oliveira RDR, De Abreu DCC. Avaliação do controle postural e da qualidade de vida em idosas com osteoartrite de joelho. *Rev. Bras. Reumatol.* vol.54 no.3 São Paulo maio/jun. 2014.

25 - Meneses SF, Hunter DJ, Marques AP. Effect of low-level laser therapy (904nm) and static stretching exercises in patients with knee osteoarthritis : A randomised controlled trial. *Osteoarthritis and cartilage*, 2015, 23, A167

26 - Ferreira de Meneses SR, Hunter DJ, Young Docko E, Pasqual Marques A. Effect of low-level laser therapy (904 nm) and static stretching in patients with knee osteoarthritis: a protocol of randomised controlled trial. *BMC Musculoskelet Disord.* 2015 Sep 14;16:252.

27 - Melo Mde O, Pompeo KD, Brodt GA, Baroni BM, da Silva Junior DP, Vaz MA. Effects of neuromuscular electrical stimulation and low-level laser therapy on the muscle architecture and functional capacity in elderly patients with knee osteoarthritis: a randomized controlled trial. *Clin Rehabil.* 2015 Jun; 29 (6):570-80.

28 - Coelho C de F, Leal-Junior EC, Biasotto-Gonzalez DA, Bley AS, de Carvalho Pde T, Politti F, Gonzalez Tde O, de Oliveira AR, Frigero M, Garcia MB, Dibai-Filho AV, Gomes CA. Effectiveness of phototherapy incorporated into an exercise program for osteoarthritis of the knee: study protocol for a randomized controlled trial. *Trials.* 2014 Jun 11;15:221.

29 - Alshuft HM, Condon LA, Dineen RA, Auer DP. Cerebral Cortical Thickness in Chronic Pain Due to Knee Osteoarthritis: The Effect of Pain Duration and Pain Sensitization. *PLOS ONE*, September, 22, 2016.

## 4. Estudo 2

### **Modulação das alterações morfológicas relacionadas à osteoartrite em joelhos de ratos após aplicação da fotobiomodulação e exercícios resistidos**

Luiz Henrique Gomes Santos<sup>1,2</sup>, Carla Roberta Tim<sup>3</sup>, Lívia Assis<sup>3</sup>, Paulo Sérgio Bossini<sup>3</sup>, Karina Gramani Say<sup>4</sup>, Mariane Santos Trevisan<sup>4</sup>, Lillian Cristina Lopes Cunha<sup>4</sup>, Fernando Augusto Vasilceac<sup>4</sup>, Nivaldo Antonio Parizotto<sup>1</sup>, Ana Claudia Rennó<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Federal University of São Carlos, Department of Physiotherapy, Rod Washington Luis Km 235, São Carlos, Brazil, 13565-905.

<sup>2</sup>University Center of Educational Foundation Guaxupé - UNIFEG, Avenida Dona Floriana 463, Guaxupe, Brazil, 37800-000.

<sup>3</sup>Federal University of São Paulo, Department of Bioscience, Av. Ana Costa 95, Santos, Brazil, 11050-240.

<sup>4</sup>Federal University of São Carlos, Department of Gerontology, Rod Washington Luis Km 235, São Carlos, Brazil, 13565-905.

#### **Corresponding author**

Luiz Henrique Gomes Santos, Federal University of São Carlos, Department of Physiotherapy, Rod Washington Luis Km 235, São Carlos, Brazil, 13565-905 Tel.: +55 13 32218058; fax: +55 16 33518985. E-mail: profluizhenrique@yahoo.com.br

**Observação:** O manuscrito a ser avaliado foi submetido ao periódico **Lasers in Medical Science** (A1 – Area 21 Capes; JCR = 1,98).

**Resumo:** O objetivo do presente estudo foi investigar os efeitos do protocolo de exercícios resistidos e terapia a laser de baixa intensidade (LLLT) (associados ou não) na inflamação e degradação da cartilagem em um modelo experimental de osteoartrite (OA) no joelho de ratos. Quarenta ratos Wistar machos foram aleatoriamente divididos em 4 grupos: OA controle (OAC); OA e fotobiomodulação (OAL); OA e Exercício resistido (OAE); OA e Exercício e Laser (OAEL). O tratamento foi iniciado 3 semanas após a cirurgia de transecção do ligamento do cruzado anterior (TLCA) realizada a fim de induzir osteoartrite nos joelhos dos ratos. O programa de exercícios resistidos foram realizados três vezes por semana por 8 semanas, 24 sessões que consistiam de exercícios de escalada, com pesos atados em suas caudas. A fotobiomodulação foi realizada em dois pontos, nas faces medial e lateral da articulação esquerda por 24 sessões, 3 dias da semana por 8 semanas. Os resultados mostraram que todos os grupos tratados apresentaram a capacidade de modular inflamação e a degradação da cartilagem, relacionados com a transecção ligamentar. De acordo com o escore encontrado na escala da Associação internacional de pesquisa em osteoartrite (OARSI) demonstraram que os grupos OAE e OAEL apresentaram menor lesão histopatológica em relação aos OAC e OAL. Os grupos OAEL apresentaram diminuição significativa na densidade de condrócitos, e no grupo OAE um aumento de densidade foi observado. Os grupos OAE e OAEL apresentaram resultados que apontam para modulação da imun expressão de IL-1 $\beta$ , caspase-3 e MMP-13. Estes resultados sugerem que os exercícios resistidos modularam as alterações morfológicas relacionadas à progressão da OA. Também, o programa de exercícios apresentou efeitos anti-inflamatórios nos joelhos dos ratos com OA não havendo acréscimo dos efeitos quando submetidos a fotobiomodulação em associação ou isolados.

**Palavras chaves:** Terapia a laser de baixa intensidade; cartilagem articular; osteoartrite nos joelhos; reabilitação.

#### 4.1. Introdução

Osteoartrite (OA) é uma doença articular crônica e progressiva caracterizada pela degeneração da matriz extracelular da cartilagem articular e do osso subcondral da articulação sinovial, resultando por fim em uma deficiência articular [1]. Estima-se que, mundialmente, 10% a 30% dos idosos apresentam sintomas de OA [2]. Além disso, a OA é comumente associada a vários sintomas tais como dor articular, rigidez, diminuição de amplitude de movimento e enfraquecimento da musculatura, que pode levar a uma debilitação significativa nas atividades diárias normais [3].

O tratamento da OA é baseado principalmente na prescrição de exercícios físicos e tratamentos não invasivos, e quando na falha do tratamento conservador, são indicados procedimentos farmacológicos ou cirúrgicos [4]. Recentemente, abordagens terapêuticas não farmacológicas têm sido desenvolvidas tais como, programas de exercícios físicos, que apresentam efeitos positivos no processo inflamatório, e de degradação da cartilagem, e que envolvem baixo custo e baixo risco de efeitos colaterais [5, 6]. Muitos autores demonstraram que programas de exercício físico com objetivo de fortalecimento muscular e atividades aeróbias propiciam a redução de citocinas inflamatórias plasmáticas e articulares, atenuando o processo de proteólise muscular e cartilaginosa, e conseqüentemente, melhorando a função muscular na OA [6-8]. Além disso, os efeitos positivos de exercícios resistidos têm sido destacados, demonstrando que o aumento da força muscular e mecânica muscular produzem uma série de modificações no tecido cartilaginoso, reduzindo a dor e melhorando a função articular em pacientes com OA [9]. Dados de estudos prévios mostram que um programa de 13 semanas de exercícios resistidos, duas vezes por semana, restauraram parcialmente a força muscular em mulheres mais idosas com OA nos joelhos [10]. Além disso, Ciolac *et al* [10] demonstraram que exercícios resistidos restauraram parcialmente a função, equilíbrio e deficiência de carga nos membros inferiores em mulheres mais idosas com OA nos joelhos. Estes resultados sugerem que exercícios resistidos pode ser ferramenta importante na reabilitação da mobilidade em pacientes com OA. Entretanto, é necessário avaliar os efeitos do protocolo de exercícios resistidos, quanto a sua duração e frequência das sessões de forma isolada ou em associação.

Um dos recursos que podem atuar de forma eficaz com os exercícios resistidos na modulação do processo inflamatório e redução da degradação da cartilagem, é a fotobiomodulação. Esta apresenta efeitos estimulatórios no metabolismo do tecido, modulando o processo inflamatório e estimulando a regeneração tecidual após uma lesão [11]. Baseado nesses efeitos, vários estudos têm demonstrado na OA do joelho, que a

fotobiomodulação é capaz de reduzir inflamação e degeneração articular, diminui a expressão dos fatores quimiotáticos e citocinas inflamatórias, bem como produz um aumento nos níveis de enzima antioxidante [11-13]. Testes clínicos demonstraram que LLLT é capaz de reduzir a dor, a rigidez articular, inflamação do joelho, melhorando o desempenho funcional em pacientes com OA [14, 15]. Entretanto, ensaios clínicos reportaram resultados conflitantes, ou seja, não há representação fidedigna da eficácia de um protocolo específico para o tratamento da OA [11].

Além disso, alguns autores têm demonstrado efeitos positivos da associação de exercícios físicos com LLLT no tratamento de OA, tanto em modelos experimentais como em pacientes [12, 14]. O estudo de Assis e colaboradores (2016) investigou os efeitos de um programa de exercícios aeróbios (esteira; 16 m/min; 50 min/dia) associado à irradiação a laser em um modelo experimental de OA nos joelhos de ratos. Os resultados sugerem que exercício associado à fotobiomodulação foi eficaz na prevenção de degeneração de cartilagem e na modulação do processo inflamatório gerados pela OA no joelho [12]. Apesar de evidências positivas, não existem estudos destacando os efeitos de um programa de exercícios resistido associado a LLLT para OA no joelho. Neste contexto, hipotetizou-se que a associação de ambas abordagens terapêuticas pode favorecer o metabolismo da estrutura cartilaginosa no modelo experimental de OA no joelho de ratos, especialmente pelo aumento da força muscular e a modulação do processo inflamatório, conseqüentemente, culminando com uma melhor morfologia tecidual e redução do processo de degradação articular. Portanto, este estudo teve como objetivo investigar os efeitos de um protocolo de treinamento resistido e LLLT (associados ou não) no metabolismo da cartilagem em um modelo experimental de AO no joelho.

## **4.2. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.2.1. Modelo experimental**

Quarenta ratos Wistar machos (*Rattus norvegicus*) (6 semanas de idade pesando  $\pm$  150g) foram utilizados neste estudo. Os animais foram mantidos durante todo procedimento experimental em gaiolas adequadas sob condições ambientais controladas (luminosidade: 12 horas de ciclo claro/escuro e temperatura  $\pm$  22°C), recebendo ração comum e água, ad. Libitum. Todo o manejo e procedimentos com os animais foram conduzidos observando estritamente os Padrões Internacionais para experimentos com animais. Este estudo foi

aprovado pelo Comitê de Ética ao Uso de Animais da Universidade Federal de São Carlos – UFSCAR (814715/2013).

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em 4 grupos (n=10 em cada grupo): Osteoartrite controle (OAC) – animais com OA sem tratamento; Osteoartrite e laser (OAL) – animais com OA submetidos a um protocolo com laser; Animais Osteoartrites e Exercícios (OAE) – animais com OA submetidos a um protocolo de exercícios aeróbios; Animais Osteoartrites e Exercício e Laser (OAEL) – animais com OA submetidos a submetidos a um protocolo com exercícios aeróbios e fotobiomodulação.

#### **4.2.2. Modelo experimental de Osteoartrite através de transecção de ligamento cruzado anterior (TLCA)**

Os animais foram submetidos a anestesia geral induzida através de uma injeção intraperitoneal de xilazina (Syntec®, 20 mg/kg, IP) quetamina (Agener®, 40 mg/kg, IP) e submetidos a TLCA na pata traseira esquerda. O joelho esquerdo foi tricotomizado, esterilizado e isolado de forma esterilizada. Uma artrotomia medial foi realizada. Em seguida a patela foi deslocada e o ligamento cruzado anterior (LCA) foi isolado e seccionado. TLCA foi confirmado através do teste Lachman [16]. Em seguida foi irrigado com uma solução salina estéril, os cortes foram fechados em camadas e tratados de maneira antisséptica. Os ratos receberem os cuidados pós-operatórios adequados e foram colocados em gaiolas individuais onde podiam fazer suas atividades livremente por 3 semanas até a instalação da AO [12].

#### **4.2.3. Protocolo de exercícios de resistência e determinação de carga máxima**

Os exercícios de resistência consistiram em um exercício de escalada utilizando um aparelho com uma escada para treinamento (1,1 x 0,18 m, 2cm grade, inclinação: 80°) com uma câmara de alojamento (20 x 20 x 20 cm) no topo da escada. O tamanho da escada induzia o animal a fazer de oito a doze movimentos dinâmicos por escalada. Uma carga foi atada à cauda sendo presa à parte proximal da cauda com uma fita autoadesiva de espuma. Uma cinta com Velcro foi colocada em volta da tira de espuma e apertada. Se necessário, um estímulo era aplicado à cauda do animal para iniciar o movimento [17]. O treinamento iniciou com 2 sessões de familiarização com intervalo de 24 horas, sem nenhuma carga fixada na cauda do



animal. O objetivo dessa fase foi ensinar o rato a escalar a escada e consistiu em 3 escaladas consecutivas até o topo, com um intervalo de 60 segundos de descanso.

Um dia após a familiarização, realizou-se um teste para determinar a carga máxima suportada por cada animal. O teste consistiu de quatro a oito escaladas na escada carregando cargas progressivamente mais pesadas. Para a escalada inicial, a carga carregada foi de 75% da massa corporal do animal. Em seguida, uma carga adicional de 30g era adicionada, até atingir uma carga com a qual o rato não conseguisse escalar a escada por completo. A não escalada foi determinada quando o animal não conseguia subir até o topo da escada após três estímulos sucessivos na cauda. A carga máxima carregada com sucesso por todo o percurso da escada foi considerada a capacidade máxima a ser carregada para a sessão de treinamento. A sessão de treinamento consistia em 9 escaladas. Durante as escaladas subsequentes, uma carga adicional de 30g era adicionada até que a nova carga máxima fosse determinada. O teste para determinar a carga máxima foi repetida após o protocolo de exercícios resistidos de 8 semanas. O protocolo de exercícios resistido foi realizado três vezes por semana por oito semanas [17].

#### **4.2.4. Protocolo de LLLT**

Foi utilizado o laser diodo Gálio Alumínio Arseneto (GaAlAs) (Photon Laser II, DMC<sup>®</sup> equipamento Ltda, SP, São Carlos, Brazil), Foram utilizados os seguintes parâmetros: potência de saída de 50 mW, área da seção transversal do feixe de 0.028 cm<sup>2</sup>, na fluência de 50 J/cm<sup>2</sup>, fornecendo ao tecido uma quantidade de energia total por ponto igual a 1,4 J. Os tratamentos foram realizados 3 vezes por semana, durante 60 dias. As irradiações foram feitas em 2 pontos (técnica pontual em contato), um na região medial e outro na região lateral do joelho, por 24 sessões. A fibra óptica foi posicionada perpendicular à pele. Os animais do grupo OAEL foram irradiados imediatamente após o protocolo de exercício.

Onze semanas após a cirurgia, todos os animais foram eutanasiados individualmente por asfixia com dióxido de carbono e posteriormente removido o joelho esquerdo para análises.

#### **4.2.5. Análise Histológica**

Amostras foram fixadas em formaldeído, descalcificada em 10% EDTA e divididos em duas partes na perpendicular, com o uso de uma lâmina, no ponto médio entre ambos os

côndilos. As amostras foram embebidas em blocos de parafina e secções histológicas foram obtidas (4  $\mu\text{m}$ ) em um plano sagital, a partir da margem medial da articulação com um micrômetro (Leica RM – 2145, Alemanha). As amostras foram marcadas com hematoxilina e eosina (HE- Merck, Alemanha) e Toluidina Azul (Merck, Alemanha). Além disso, 3 secções foram obtidas para análise imunoistoquímica.

#### **4.2.6. OARSI**

O escore OARSI foi utilizado para avaliar a progressão da lesão do tecido cartilaginoso na OA em todos os grupos experimentais, seguindo as recomendações da Sociedade Internacional de Pesquisa de Osteoartrite [18]. O sistema utiliza uma escala com 24 pontos baseado em uma combinação de graus de OA (0–6 points) e estágio de OA (0–4 points). Grau de osteoartrite (OARSI graus 0-6), estágio de osteoartrite (OA estágios 0-4) e escores de osteoartrite são determinados a partir da fórmula grau vezes estágio, o qual fornece uma avaliação combinada de gravidade e extensão do dano estrutural na articulação, variando de 0 à 24 pontos (escores de OA: [OARSI grau] x [OA estágio]) [18]. Dois observadores experientes (LA e LM) realizaram o escalonamento de forma cega.

#### **4.2.7. Análise morfométrica de densidade de condrócitos e espessura**

Para a análise morfométrica, foi realizada em um corte por lâmina e escolhido de forma aleatória e corada com HE. Foi realizada análise de imagem microscópica obtida por meio do programa Axiovision 3.1 (Carl Zeiss, Oberkochen, Alemanha). Esta que foi utilizada para analisar as imagens e medir a densidade dos condrócitos e a espessura da cartilagem em cada área selecionada aleatoriamente. Três áreas de 80.000  $\mu\text{m}^2$ , nas regiões, anterior, central e posterior de cada lâmina foram escolhidas para a contagem do número de condrócitos e a média das três áreas foi obtida. A espessura também foi medida em 3 regiões, uma central e 2 laterais (300  $\mu\text{m}$ ) à esquerda e à direita da primeira região), desde o osso subcondral até a superfície articular. Dois observadores experientes (LA e LM) realizaram o escalonamento de forma cega. [12].

Para esta análise, a parafina foi removida dos cortes histológicos e um protocolo padrão para reidratação foi utilizado. Posteriormente, o material foi pré-incubado com 0,3 % de peróxido de hidrogênio em uma solução de tampão de fosfato salino (PBS) por 5 min através

da inativação de peroxidase endógena e, então, bloqueada com 5 % de soro de cabra normal diluído em solução PBS por 10 min. As amostras foram, então, incubadas com anticorpos primários caspase (coelho anti-rato policlonal, ab6671, abcam, Cambridge, MA, Reino Unido), interleucina-1 (IL-1 $\beta$ ) (coelho anti-rato policlonal, sc-7884, Sta Cruz biotecnologia, California, EUA), metaloproteína 13 (MMP 13) (coelho anti-rato policlonal, ab75606, abcam, Cambridge, MA, Reino Unido). As secções de tecido foram desparafinizadas, reidratadas, e incubadas em um preparado com 30% peróxido de hidrogênio diluído em tampão de fosfato salino (PBS) por 30 min. Este procedimento foi seguido de uma aplicação de anticorpos secundários marcados com biotina (ABC kit, PK-6200, Vector laboratórios, Burlingame, CA, USA) a diluição de 1:5 por 30 min. A detecção colorimétrica foi realizada com substrato de diaminobenzidina (DAB, SK-4100, Vector laboratórios, Burlingame, CA, USA) e hematoxilina. Para um controle negativo, o anticorpo primário foi omitido e somente o PBS foi aplicado. Imagens digitais com aumento de 100x foram capturadas por microscópio ótico (Leica Microsystems AG, Wetzlar, Alemanha). Células marcadas em marrom foram consideradas positivas para IL1-  $\beta$ , MMP-13 e na expressão caspase-3. Os resultados foram avaliados qualitativamente (a presença de células positivas imunomarcadas) [19].

#### **4.2.9. Análise estatística**

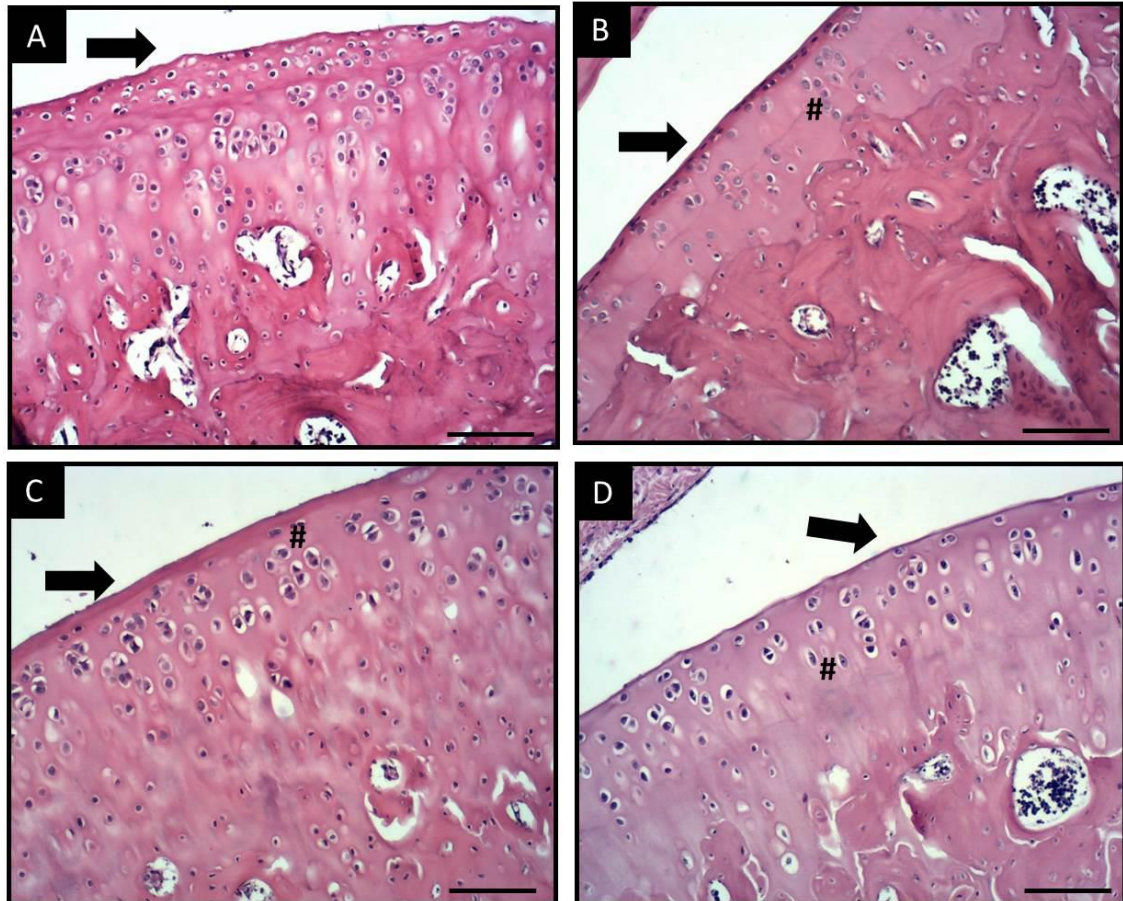
Os dados são expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (SEM). Os testes de Shapiro-Wilk e Levene foram aplicados para avaliar a normalidade e homogeneidade dos resultados, respectivamente. Para as variáveis que exibiram distribuição normal, as comparações entre grupos experimentais foram realizadas através da análise de variância (one-way ANOVA), e o pós-teste de Tukey foi utilizado para comparar grupos individuais. Para as variáveis que exibiram distribuição não normal, o teste Kruskal-Wallis foi utilizado. Um valor  $P < 0,05$  foi considerado significativo. Todas as análises foram realizadas utilizando um GraphPad Prism 6.0 (GraphPad Software, San Diego CA, EUA).

### **4.3. RESULTADOS**

#### **4.3.1. Análise descritiva histológica**

A análise histopatológica revelou que animais do grupo OAC mostraram sinais intensos de degradação de tecido cartilaginoso, com fibrilações por toda a superfície articular,

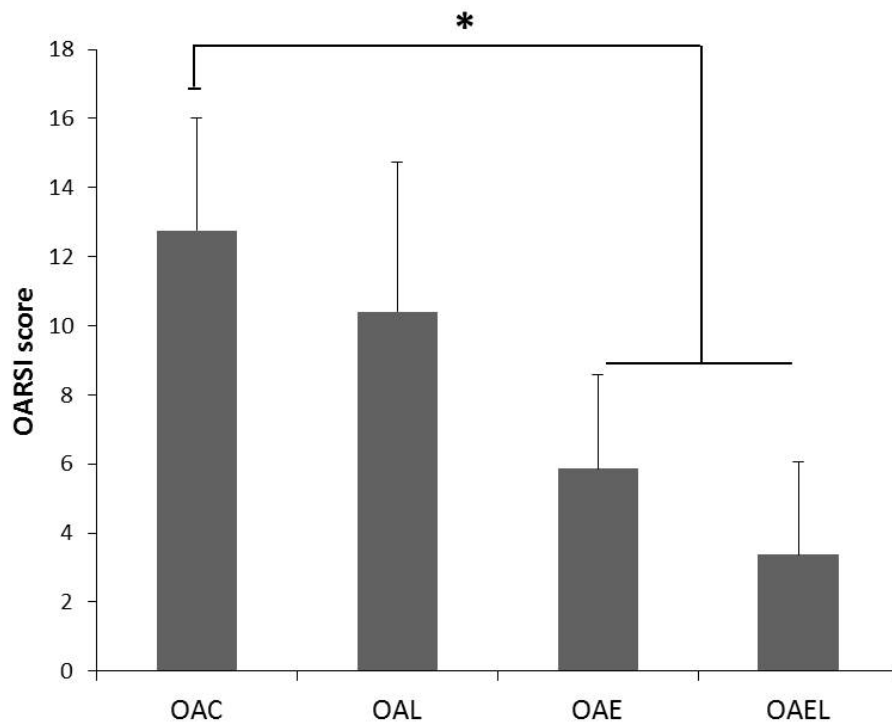
hipercelularidade e desorganização dos condrócitos na região da cartilagem (Figura 2A). Para OAE, OAL e OAEL, resultados histológicos similares aos grupos OAC foram observados, onde foram observados sinais iniciais de degradação de tecido, com algumas áreas de fibrilação e irregularidades por toda a superfície articular (Figuras 2B, 2C e 2D).



**Figura 2.** Fotomicrografias representativas das lâminas histológicas 8 semanas de intervenção. A organização dos condrócitos (#); fibrilação e irregularidades (➡). A) OA controle; B) OA e LLLT; C) OA e exercício; D) OA exercício e LLLT. (Coloração: H.E.; Barra de Escala: 100  $\mu$ m)

#### 4.3.2. Sistema de pontuação OARSI

Para as análises utilizando o escore OARSI, os dados encontrados, mostram que o grupo OAC teve pontuação significativamente mais alta quando comparado com os encontrados nos grupos OAE ( $p = 0,028$ ) e OAEL ( $p = 0,0005$ ; Figura 3). Nenhuma outra diferença estatística foi observada.

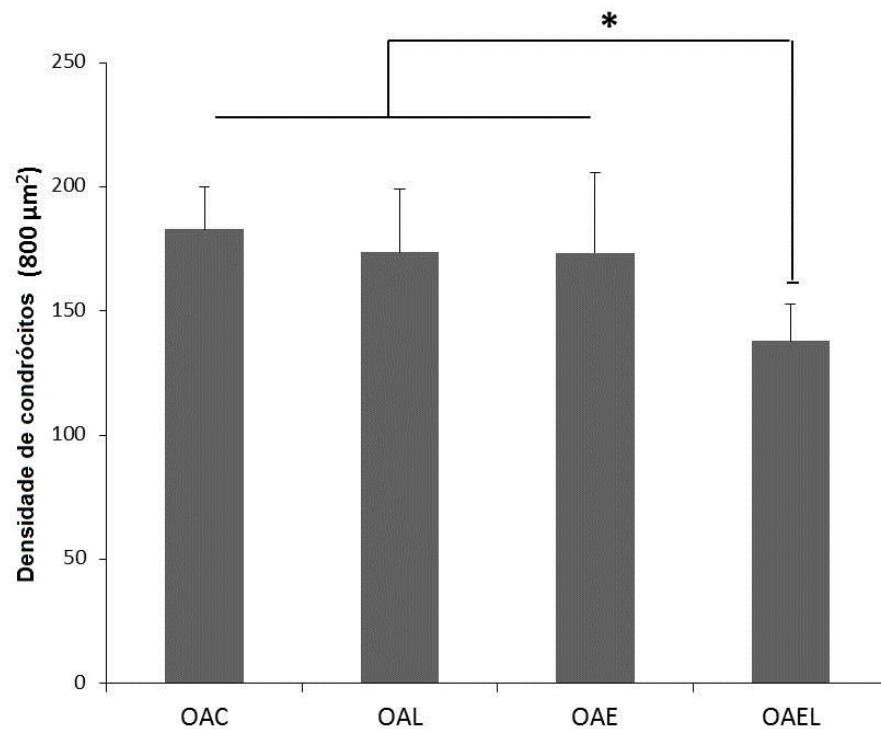


**Figura 3.** Avaliação histopatológica utilizando o sistema OARSI. Resultados expressos como média  $\pm$  erro padrão da média. OA controle (OAC); OA e LLLT (OAL); OA e exercício (OAE); OA exercício e LLLT (OAEL). (indicado como \*  $p < 0,001$  versus OA).

#### 4.3.3. Densidade de condrócitos

Figuras 4 mostra a avaliação morfométrica da densidade de condrócito.

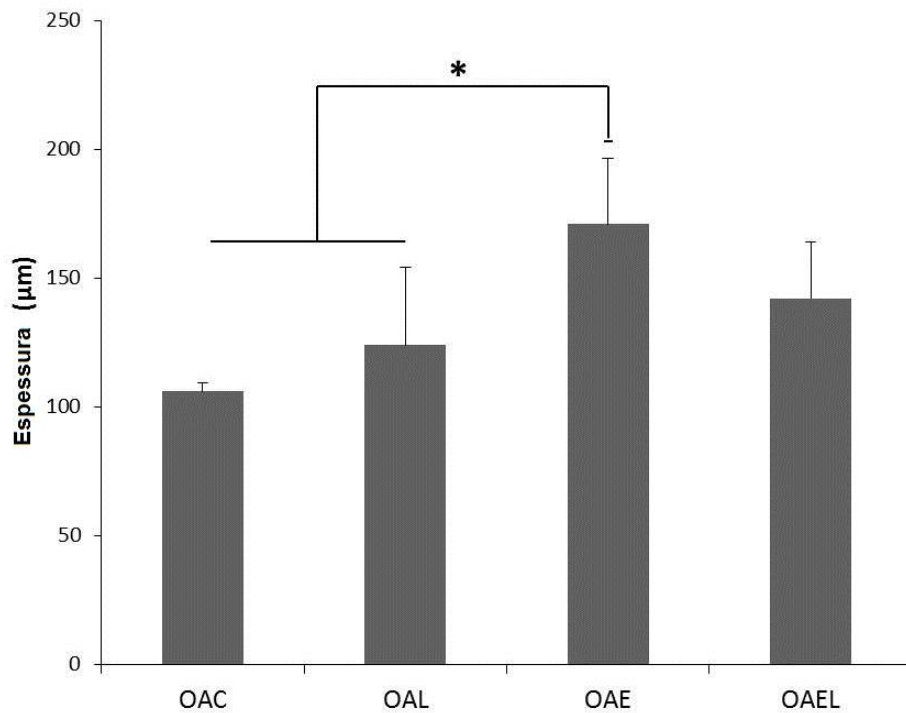
A densidade de condrócitos em OAEL foi menor quando comparada com OA ( $p = 0,0011$ ), OAL ( $p = 0,015$ ) e OAE ( $p = 0,0097$ ). Resultados similares para os grupos experimentais foram observados ( $p > 0,05$ ).



**Figura 4.** Densidade de condrócitos.; OA controle (OAC); OA e LLLT (OAL); OA e exercício (OAE); OA exercício e LLLT (OAEL). (indicado como \* $p < 0,05$  versus OA). Resultados expressos como média  $\pm$  erro padrão da média. (indicado como \* $p < 0,05$  versus OA)

#### 4.3.4. Densidade de espessura

Análise de espessura demonstrou que OAE apresentou valores significativamente maiores quando comparados com OAC ( $p = 0,0007$ ) e OAL ( $p = 0,0069$ ; Figura 5). Nenhuma outra diferença significativa foi encontrada entre os grupos experimentais ( $p > 0,05$ ; Figura 5).



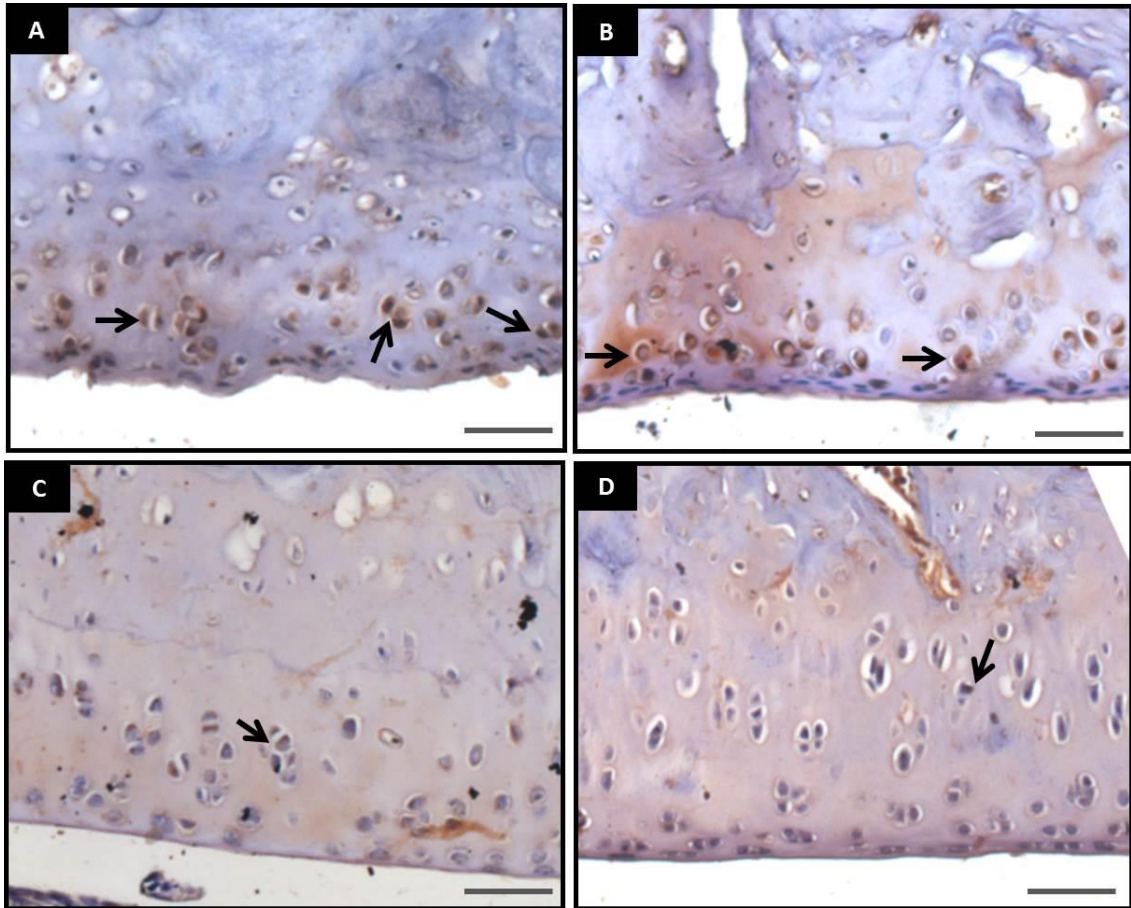
**Figura 5.** Densidade de espessura. OA controle (OAC); OA e LLLT (OAL); OA e exercício (OAE); OA exercício e LLLT (OAEL). (indicado como \* $p < 0,05$  versus OA). Resultados expressos como média  $\pm$  erro padrão da média. (indicado como \* $p < 0,05$  versus OA)

### 4.3.5. Análise imunoistoquímica

#### 4.3.5.1. Expressão IL-1 $\beta$

A avaliação imunoistoquímica demonstrou que a expressão IL-1 $\beta$  foi observada principalmente nos núcleos dos condrócitos para todos os grupos. Também, uma expressão IL-1 $\beta$  intensa foi observada em OAC e OAL (Figuras 6A e 6B). Em contraste, OAE e OAEL apresentaram uma imunoexpressão IL-1 $\beta$  moderada nos núcleos de condrócitos (Figura 6C e 6D).



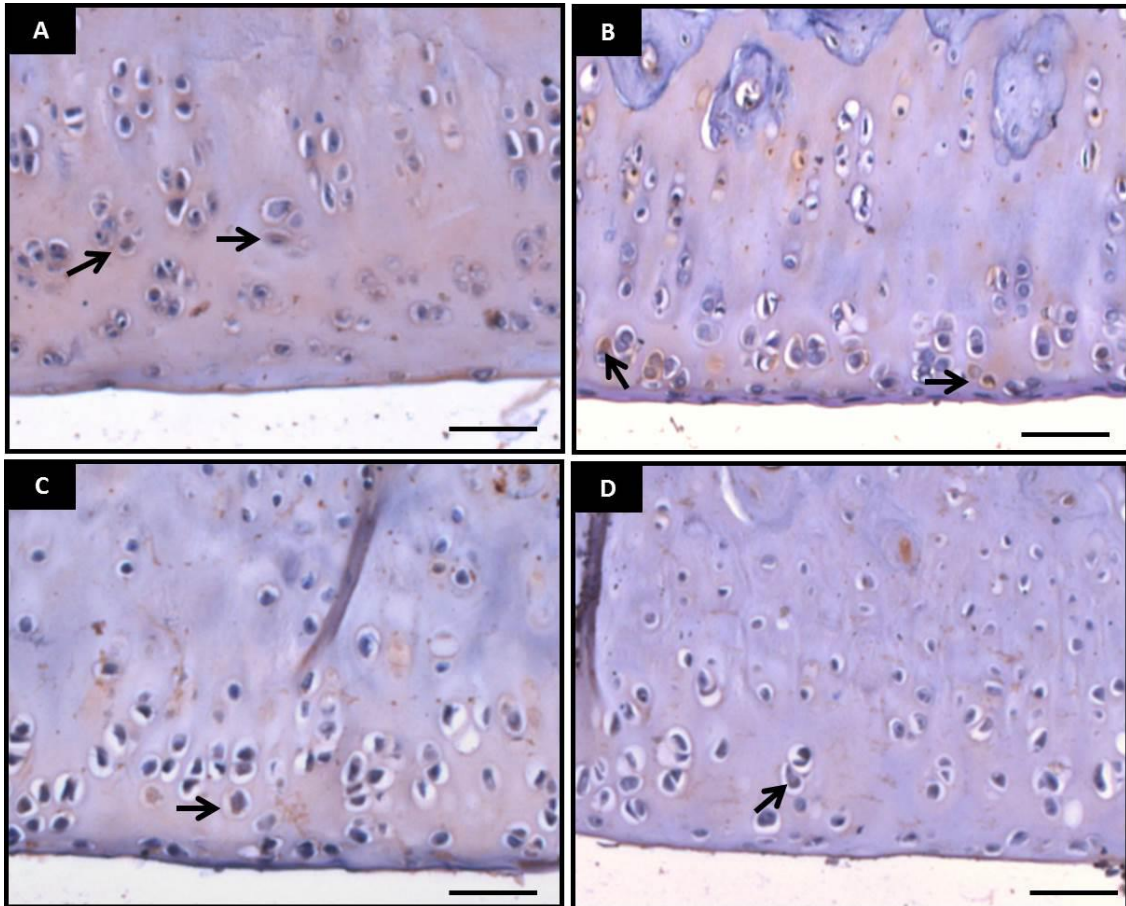


**Figura 6.** Secções representativas de imunistoquímica IL-1 $\beta$ . Condrócitos imunomarcados (flecha). A) OA controle; B) OA e LLLT; C) OA e exercício; D) OA exercício e LLLT. (Barra de Escalas: 50  $\mu$ m).

#### 4.3.5.2. Expressão Caspase-3

Imunoexpressão Caspase-3 foi detectada principalmente nos condrócitos para todos os grupos experimentais (Figura 7). Além disso, uma imunoexpressão caspase-3 intensa foi observada em OAC e OAL (Figuras 7A e 7B). Interessantemente, OAE e OAEL apresentaram uma expressão moderada para esse imunomarcador (Figuras 7C e 7D).

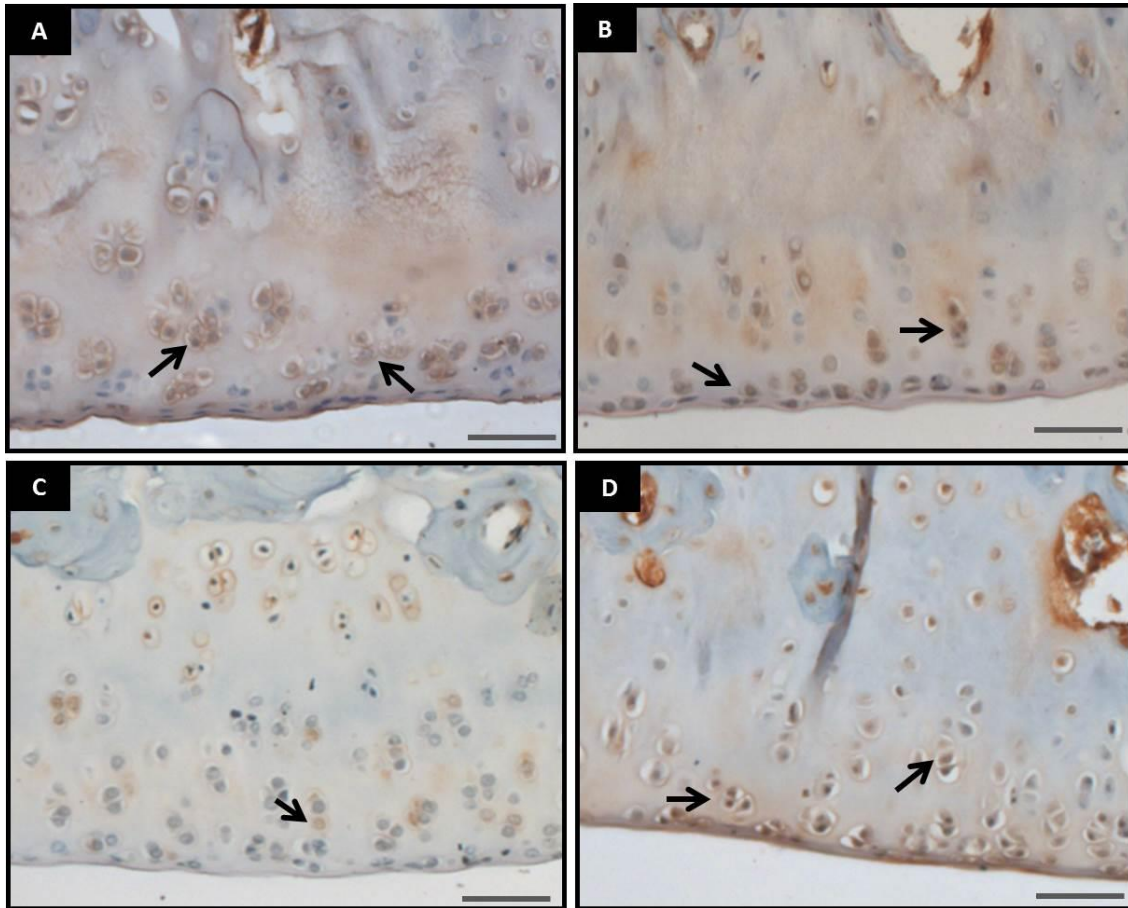




**Figura 7.** Seções representativas de imunistoquímica caspase-3. Condrócitos imunomarcados (flecha). A) OA controle; B) OA e LLLT; C) OA e exercício; D) OA exercício e LLLT. (Barra de Escalas: 50  $\mu$ m).

#### 4.2.5.3. Expressão MMP-13

A expressão de MMP-13 também foi detectada nos núcleos dos condrocitos em todos os grupos (Figura 8). É possível observar na figura 8A, uma imunomarcagem MMP-13 intensa para OAC (Figure 8A). Também, uma immunoexpressão MMP-13 moderada foi observada em OAL e OAEL (Figuras 8B e 8D). Entretanto, OAE apresentou um número menor de condrocitos imunomarcados (Figura 8C).



**Figura 8.** Secções representativas de imunistoquímica MMP-13. Condrócitos imunomarcados (flecha). A) OA controle; B) OA e LLLT; C) OA e exercício; D) OA exercício e LLLT. (Barra de Escalas: 50  $\mu$ m).

#### 4.4. DISCUSSÃO

O trabalho investigou os efeitos do treinamento com exercícios resistidos e LLLT no tecido da cartilagem usando um modelo experimental de OA nos joelhos de ratos. Os resultados histológicos revelaram que após o período experimental, sinais de degradação de tecido e fibrilação foram observados em animais com OA não tratados. Além disso, ambos os tratamentos (e sua associação) obtiveram sucesso em modular aspectos relacionados com o processo degenerativo da OA como inflamação e degradação articular, como demonstrado nas análises imunistoquímicas. O escore OARSI demonstrou que os grupos com exercícios físicos (com ou sem LLLT) obtiveram efeitos significativos na modulação do processo degenerativo. Também, a associação do treinamento físico com LLLT diminuiu significativamente a densidade de condrocitos, e demonstrou aumento de espessura da cartilagem em animais do grupo OAE. Além disso, grupos com exercício físico (com ou sem LLLT) demonstraram que houve modulação da imunexpressão IL-1 $\beta$ , caspase-3 e MMP-13.

O exercício físico é uma das estratégias de tratamento não farmacológicas mais eficazes para OA no joelho [20]. Diferentes regimes de exercícios com forte evidência do benefício para o tratamento de OA incluem aqueles que focam em condicionamento aeróbio/cardiovascular e treinamento de força na extremidade inferior. Alguns estudos têm demonstrado que fortalecimento muscular através de treinamento com exercícios resistidos melhoram a função, diminui o nível de dor e reduz a deficiência causada pela OA [9].

Os resultados histológicos apresentados neste estudo revelaram que um programa de exercícios resistidos possibilitou a redução do processo de degradação da cartilagem e modificações no tecido em ratos com OA, mantendo a organização do tecido e melhorando os escores OARSI quando comparados ao grupo OAC, fato que indica um efeito positivo desta abordagem no metabolismo do tecido. Possivelmente, o ganho de força muscular e a melhora na função articular, associada ao estímulo mecânico produzido pelo exercício físico, determinou um efeito estimulante no metabolismo das células condrócitos que pode levar a regeneração da cartilagem, culminando com maior acúmulo de matriz extracelular e colágeno na estrutura da cartilagem, diminuindo os sinais de degeneração [21-23].

Sabe-se que a fotobiomodulação tem efeitos de estimular tecidos biológicos e na modulação do processo inflamatório [13, 19]. Muitos autores demonstraram que a energia produzida pela fotobiomodulação produziu um efeito significativo na redução de fatores que levam a degradação da cartilagem como citocinas inflamatórias, prevenindo a desorganização celular e posteriormente, morte de células por apoptose, que pode ser responsável pela amenização de modificações morfológicas relacionadas à OA [18, 24, 25]. Entretanto, resultados morfológicos encontrados no grupo de animais tratados com fotomodulação, não corroboraram com os resultados encontrados na literatura, que demonstraram por algumas vezes, que a fotobiomodulação é capaz de manter a densidade da cartilagem e [13, 19]. Possivelmente, os parâmetros de laser utilizados no estudo presente não conseguiu oferecer energia suficiente aos tecidos para modular o metabolismo do tecido cartilaginoso e assim, prevenir degeneração. Além disso, a fotobiomodulação não produziu nenhum efeito extra na estimulação dos animais que exercitaram, o que também pode ser explicado pelos parâmetros utilizados para o estímulo.

A progressão da OA é baseada principalmente no desequilíbrio entre o anabolismo e catabolismo celular, que pode afetar a capacidade de proliferação e diferenciação dos condrócitos [26, 27]. Um número maior de condrócitos foi observado nos animais em OA, OAE e OAL, demonstrando que, ambas as intervenções terapêuticas, aplicadas separadamente, não obtiverem sucesso em reverter os efeitos do processo degenerativo

relacionado à OA. Interessantemente, os animais OAL demonstraram um decréscimo no número de condrócitos, indicando um efeito positivo dos tratamentos combinados na modulação da proliferação de células. Possivelmente, a normalização da passagem de fluidos e a homeostase do tecido produzido pela carga do exercício resistido [28] associado ao efeito estimulante celular produzido pelo treinamento de exercícios juntamente com a energia do laser devem ter atuado no metabolismo celular, evitando a apoptose e a degradação de proteoglicanos.

No estudo presente, o aumento da espessura cartilaginosa foi observado nos animais que exercitaram. A redução da espessura na cartilagem está relacionada à degradação dos proteoglicanos na presença da AO, portanto, o exercício, possibilita a redução do processo de degradação [29]. O treinamento com exercícios resistidos modularam significativamente a degradação de proteoglicanos, afetando positivamente sua espessura. A terapia a laser não influenciou nessa variável, o que possivelmente pode ser explicado pela quantidade de energia oferecida ao tecido.

Durante a evolução da OA, muitos mediadores inflamatórios (tais como interleucina 1 (IL-1 $\beta$ ) e fator de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ )) se manifestam durante a evolução da progressão da doença [30, 31], que são os causadores da inibição de síntese matricial e apoptose celular [32]. Além disso, caspases, colagenases e metaloproteinase de matriz (MMP) também contribuem para a degradação da matriz da cartilagem articular [33, 34]. No estudo presente, um aumento na expressão de marcadores inflamatórios foi encontrado em animais OA e OAL, indicando a progressão da doença e da ausência de efeitos positivos do LLLT. Aparentemente, o efeito do LLLT nos tecidos é proporcional à dose e uma quantidade de energia ideal precisa ser aplicada para se obter uma resposta melhor do tecido [35]. Provavelmente, nossos resultados podem estar relacionados aos parâmetros do laser utilizados no estudo presente, que não foi o suficiente para modular o processo inflamatório relacionado à progressão da OA. A ausência de efeitos positivos do LLLT na análise imunoistoquímica não corrobora com os autores que mostraram um efeito anti-inflamatório do LLLT no processo degenerativo [8, 12].

Interessantemente, os animais que exercitaram (com ou sem tratamento a laser) apresentaram uma modulação de IL-1 $\beta$ , caspase-13 e uma expressão de MMP-13. Muitos autores afirmam que estímulos mecânicos devido ao exercício físico produz efeitos anti-inflamatórios em modelos experimentais de OA [7]. Zhang *et al* [7, 17] demonstraram que o programa de exercício físico demonstrou produzir uma diminuição na expressão de marcadores inflamatórios em pacientes com OA.

O treinamento com exercícios de resistência foi adequado para a melhora dos parâmetros avaliados no estudo presente. Além disso, a fotobiomodulação, nos parâmetros utilizados, não produziu efeitos estimulatórios na cartilagem. Possivelmente, esses efeitos se deram devido à quantidade de energia oferecida ao tecido. Além do mais, a ausência de estímulo adicional da fotobiomodulação no grupo de animais OAEL, bem como a investigação da associação de ambas as terapias precisam ser mais investigadas. Sugerimos avaliar comparativamente utilização de dosagens da fotobiomodulação associadas a exercícios físicos, pois, podem responder a lacuna existente na ciência e conseqüentemente constituir tratamento mais eficaz para estimular o tecido da cartilagem na presença do processo degenerativo.

### **Conclusão**

O estudo mostrou que o treinamento de exercício resistido modulou as alterações morfológicas na progressão da OA. Também, o programa de exercícios apresentou efeitos anti-inflamatórios, porém, quando associados ao LLLT não houve significativa potencialização dos efeitos já encontrados no grupo submetido ao tratamento isolado. Porém, estudos mais aprofundados devem ser realizados para fornecer mais informações a respeito dos efeitos de ambos os tratamentos no processo evolutivo da AO em modelos experimentais.

### **Agradecimentos**

Agradecemos as entidades financiadoras Brasileiras Fapesp e CNPq pelo apoio financeiro para essa pesquisa.

- [1] Fibel KH, Hillstrom HJ, Halpern BC. State-of-the-Art management of knee osteoarthritis. *World Journal of Clinical Cases: WJCC*. 2015; 3: 89
- [2] Busija L, Bridgett L, Williams SRM, *et al.* Osteoarthritis. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*. 2010; 24: 757-768
- [3] McAlindon TE, Driban JB, Henrotin Y, *et al.* OARSI Clinical Trials Recommendations: Design, conduct, and reporting of clinical trials for knee osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage*. 2015; 23: 747-760
- [4] Clausen B, Holsgaard-Larsen A, Søndergaard J, Christensen R, Andriacchi TP, Roos EM. The effect on knee-joint load of instruction in analgesic use compared with neuromuscular exercise in patients with knee osteoarthritis: study protocol for a randomized, single-blind, controlled trial (the EXERPHARMA trial). *Trials*. 2014; 15: 444

- [5] Bossen D, Kloek C, Snippe HW, Dekker J, de Bakker D, Veenhof C. A Blended Intervention for Patients With Knee and Hip Osteoarthritis in the Physical Therapy Practice: Development and a Pilot Study. *JMIR research protocols*. 2016; 5: e32
- [6] Gomes WF, Lacerda ACR, Mendonça VA, *et al.* Effect of aerobic training on plasma cytokines and soluble receptors in elderly women with knee osteoarthritis, in response to acute exercise. *Clinical rheumatology*. 2012; 31: 759-766
- [7] Zhang S-L, Liu H-Q, Xu X-Z, Zhi J, Geng J-J, Chen J. Effects of exercise therapy on knee joint function and synovial fluid cytokine levels in patients with knee osteoarthritis. *Molecular medicine reports*. 2013; 7: 183-186
- [8] Lim J-Y, Tchai E, Jang S-N. Effectiveness of aquatic exercise for obese patients with knee osteoarthritis: a randomized controlled trial. *PM&R*. 2010; 2: 723-731
- [9] Vincent KR, Vincent HK. Resistance exercise for knee osteoarthritis. *PM&R*. 2012; 4: S45-S52
- [10] Ciolac EG, Silva JMRd, Greve JMDA. Effects of resistance training in older women with knee osteoarthritis and total knee arthroplasty. *Clinics*. 2015; 70: 7-13
- [11] Huang Z, Chen J, Ma J, Shen B, Pei F, Kraus VB. Effectiveness of low-level laser therapy in patients with knee osteoarthritis: a systematic review and meta-analysis. *Osteoarthritis and Cartilage*. 2015; 23: 1437-1444
- [12] Assis L, Milares LP, Almeida T, *et al.* Aerobic exercise training and low-level laser therapy modulate inflammatory response and degenerative process in an experimental model of knee osteoarthritis in rats. *Osteoarthritis and Cartilage*. 2016; 24: 169-177
- [13] Oliveira P, Santos AA, Rodrigues T, *et al.* Effects of phototherapy on cartilage structure and inflammatory markers in an experimental model of osteoarthritis. *Journal of biomedical optics*. 2013; 18: 128004-128004
- [14] Kheshie AR, Alayat MSM, Ali MME. High-intensity versus low-level laser therapy in the treatment of patients with knee osteoarthritis: a randomized controlled trial. *Lasers in medical science*. 2014; 29: 1371-1376
- [15] Brosseau L, Welch V, Wells G, *et al.* Low level laser therapy for osteoarthritis and rheumatoid arthritis: a metaanalysis. *The Journal of rheumatology*. 2000; 27: 1961-1969
- [16] Williams JM, Felten DL, Peterson RG, O'Connor BL. Effects of surgically induced instability on rat knee articular cartilage. *Journal of anatomy*. 1982; 134: 103
- [17] Patrocinio T, Sardim AC, Assis L, Fernandes KR, Rodrigues N, Renno ACM. Effect of low-level laser therapy (808 nm) in skeletal muscle after resistance exercise training in rats. *Photomedicine and laser surgery*. 2013; 31: 492-498

- [18] Pritzker KPH, Gay S, Jimenez SA, *et al.* Osteoarthritis cartilage histopathology: grading and staging. *Osteoarthritis and cartilage*. 2006; 14: 13-29
- [19] Bublitz C, Medalha C, Oliveira P, *et al.* Low-level laser therapy prevents degenerative morphological changes in an experimental model of anterior cruciate ligament transection in rats. *Lasers in medical science*. 2014; 29: 1669-1678
- [20] Esser S, Bailey A. Effects of exercise and physical activity on knee osteoarthritis. *Current pain and headache reports*. 2011; 15: 423-430
- [21] Ikenoue T, Trindade MCD, Lee MS, *et al.* Mechanoregulation of human articular chondrocyte aggrecan and type II collagen expression by intermittent hydrostatic pressure in vitro. *Journal of orthopaedic research*. 2003; 21: 110-116
- [22] Kamiya T, Tanimoto K, Tanne Y, *et al.* Effects of mechanical stimuli on the synthesis of superficial zone protein in chondrocytes. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 2010; 92: 801-805
- [23] Sun HB. Mechanical loading, cartilage degradation, and arthritis. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2010; 1211: 37-50
- [24] Kühn K, D’Lima DD, Hashimoto S, Lotz M. Cell death in cartilage. *Osteoarthritis and Cartilage*. 2004; 12: 1-16
- [25] Thomas CM, Fuller CJ, Whittles CE, Sharif M. Chondrocyte death by apoptosis is associated with cartilage matrix degradation. *Osteoarthritis and cartilage*. 2007; 15: 27-34
- [26] Martel-Pelletier J, Boileau C, Pelletier J-P, Roughley PJ. Cartilage in normal and osteoarthritis conditions. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*. 2008; 22: 351-384
- [27] Almonte-Becerril M, Navarro-Garcia F, Gonzalez-Robles A, Vega-Lopez MA, Lavalle C, Kouri JB. Cell death of chondrocytes is a combination between apoptosis and autophagy during the pathogenesis of Osteoarthritis within an experimental model. *Apoptosis*. 2010; 15: 631-638
- [28] Galois L, Etienne S, Grossin L, *et al.* Dose–response relationship for exercise on severity of experimental osteoarthritis in rats: a pilot study. *Osteoarthritis and Cartilage*. 2004; 12: 779-786
- [29] Narmoneva DA, Cheung HS, Wang JY, Howell DS, Setton LA. Altered swelling behavior of femoral cartilage following joint immobilization in a canine model. *Journal of orthopaedic research*. 2002; 20: 83-91
- [30] Cuellar VG, Cuellar JM, Golish SR, Yeomans DC, Scuderi GJ. Cytokine profiling in acute anterior cruciate ligament injury. *Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic & Related Surgery*. 2010; 26: 1296-1301

- [31] Wojdasiewicz P, Poniatowski ŁA, Szukiewicz D. The role of inflammatory and anti-inflammatory cytokines in the pathogenesis of osteoarthritis. *Mediators of inflammation*. 2014; 2014:
- [32] D'Lima D, Hermida J, Hashimoto S, Colwell C, Lotz M. Caspase inhibitors reduce severity of cartilage lesions in experimental osteoarthritis. *Arthritis & Rheumatism*. 2006; 54: 1814-1821
- [33] Stone AV, Loeser RF, Vanderman KS, Long DL, Clark SC, Ferguson CM. Pro-inflammatory stimulation of meniscus cells increases production of matrix metalloproteinases and additional catabolic factors involved in osteoarthritis pathogenesis. *Osteoarthritis and Cartilage*. 2014; 22: 264-274
- [34] Troeberg L, Nagase H. Proteases involved in cartilage matrix degradation in osteoarthritis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics*. 2012; 1824: 133-145
- [35] Renno ACM, McDonnell PA, Crovace MC, Zanotto ED, Laakso L. Effect of 830 nm laser phototherapy on osteoblasts grown in vitro on Biosilicate® scaffolds. *Photomedicine and laser surgery*. 2010; 28: 131-133



## **Parte III**

---

### **5. CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS**

### **6. REFERÊNCIAS**

### **7. ANEXOS**

## **5. Considerações finais e Perspectivas Futuras**

O presente trabalho apresentou resultados oriundos da revisão sistemática, que demonstraram existir poucos estudos relacionados à interação da LLLT associada a exercícios resistidos, porém, os mesmos apresentaram qualidade metodológica satisfatória. Estes resultados levaram a concluir que a LLLT associada aos exercícios terapêuticos (utilizados pelos estudos) foram capazes de evoluir positivamente, parâmetros como dor em OA de joelho. Porém, sugere-se maior número de intervenções que visam avaliar a associação da LLLT e exercícios em estudos experimentais com animais, para que se tenha melhor explicação sobre os mecanismos de atuação dos sugeridos recursos na melhora das capacidades físicas e na dor.

No estudo experimental incluso no presente trabalho, veio elucidar as informações citadas previamente, pois, o treinamento de exercício resistido associado à LLLT modulou as alterações morfológicas na progressão da OA com características anti-inflamatórias evidenciadas. Estudos mais aprofundados em longo prazo devem ser realizados para fornecer mais informações a respeito dos efeitos de ambos os tratamentos nos últimos estágios da OA, elaborando programas terapêuticos no futuro, para reduzir limitações funcionais e melhorar a qualidade de vida com base nos efeitos anti-inflamatórios e principalmente na modulação de IL-1 $\beta$ , caspase-13 e expressão de MMP-13, fatores importantes na degradação da cartilagem.

## 6. Referências Bibliográficas

Alfredo PP, Bjordal JM, Dreyer SH, Meneses SRF, Zaguetti G, Ovanessia V, Fukuda TY, Junior WS, Álvaro R, Martins BL, Casarotto RA, Marques AP. Efficacy of low level laser therapy associated with exercises in knee osteoarthritis: a randomized double-blind study. *Clinical Rehabilitation*, 2011, 26 (6) 523–533.

Appleton CT, McErlain DD, Pitelka V, Schwartz N, Bernier SM, Henry JL, Holdsworth DW, Beier F. Forced mobilization accelerates pathogenesis: characterization of a preclinical surgical model of osteoarthritis. *Arthritis Res Ther*. 2007;9(1):R13. Erratum in: *Arthritis Res Ther*. 2008; 10 (5):407.

Assis L, Moretti AI, Abrahão TB, Cury V, Souza HP, Hamblin MR, Parizotto NA. Low-level laser therapy (808 nm) reduces inflammatory response and oxidative stress in rat tibialis anterior muscle after cryolesion. *Lasers Surg Med*. 2012 Sep 21.

Assis L, Moretti AI, Abrahão TB, de Souza HP, Hamblin MR, Parizotto NA. Low-level laser therapy (808 nm) contributes to muscle regeneration and prevents fibrosis in rat tibialis anterior muscle after cryolesion. *Lasers Med Sci*. 2012 Aug 17.

Bennell KL, Hinman RS. A review of the clinical evidence for exercise in osteoarthritis of the hip and knee. *J Sci Med Sport*. 2011 Jan;14(1):4-9.

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

Biniecka M, Kennedy A, Ng VT, Chang TC, Balogh E, Fox E, Veale DJ, Fearon U, O'Sullivan JN. Successful tumoral necrosis factor (TNF) blocking therapy suppresses oxidative stress and hypoxia-induced mitochondrial mutagenesis in inflammatory arthritis. *Arthritis Res Ther*. 2011, 13: 121.

Bondeson J, Wainwright SD, Lauder S, Amos N, Hughes CE: The role of synovial macrophages and macrophage-produced cytokines in driving aggrecanases, matrix

metalloproteinases, and other destructive and inflammatory responses in osteoarthritis. *Arthritis Res Ther*. 2006, 8:R187.

Boocock M, McNair P, Cicuttini F, Stuart A, Sinclair T. The Short-term of running on the deformation of knee articular cartilage and relationship to biomechanical loads at the knee. *Osteoarthritis and Cartilage*. 2009. 17. 883-890.

Boudenoty A, Preslez N, Uzbekov R, Toumi H, Pallu S, Lespessailles E. Effect of interval-training exercise on subchondral bone in a chemically-induced osteoarthritis model. *Osteoarthritis and Cartilage*. 22 (2014) 1176 e 1185.

Brand CA, Ackerman IN, Bohensky MA, Bennell KL. Chronic Disease Management A Review of Current Performance Across Quality of Care Domains and Opportunities for Improving Osteoarthritis Care. *Rheum Dis Clin N Am* 39 (2013) 123–143.

Brosseau L, et al.,“Low level laser therapy for osteoarthritis and rheumatoid arthritis: a metanalysis,”*J. Rheumatol*.27(8), 1961–1969 (2000).

Brown AW, Weber DC (2000) Physical agent modalities. In: Braddom RL (ed) *Physical medicine and rehabilitation*. Saunders, London, pp 440–458.

Chahade WH, Giorgi RDN, Pastor EMH. Osteoartrose. *Revista Brasileira de Medicina* 58:304- 324. 2001.

Chakravarty EF; Hubert HB; Lingala VB; Zatarain E; Fries JF. Long Distance Running and Knee Osteoarthritis: A Prospective Study. *Am J Prev Med* 2008;35 (2).

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 iodecetate. *Osteoarthritis and Cartilage*., v.8, p. 1088-1095, 2010.

Coelho CF, Leal-Junior EC, Gonzalez DAB, Bley AS, De Carvalho PTC, Politti F, Gonzalez TO, Oliveira AR, Frigero M, Garcia MBS, Filho AVD, Gomes CAF. Effectiveness of phototherapy incorporated into an exercise program for osteoarthritis of the knee: study protocol for a randomized controlled trial. *Trials*, 2014, 15:221.

Cunha-Miranda, L; Faustino, A; Alves, C.; Vicente, V.; Barbosa, S. Avaliação das magnitudes da desvantagem da osteoartrite na vida das pessoas: estudo MOVES. *Rev. Bras. Reumatol.*, v. 55, p. 22-30, 2015.

Da Silva Junior, F, S. Osteoartrite experimental em ratos: Efeito de Sulfato de glicosamina e sulfato de Condroitina sobre a incapacitação articular e lesão da cartilagem, Tese de doutorado, Departamento de clínica médica, Faculdade de medicina da Universidade de São Paulo, 2007.

Da Rosa AS, dos Santos AF, da Silva MM, Facco GG, Perreira DM, Alves AC, Leal Junior EC, de Carvalho P de T. Effects of low-level laser therapy at wavelengths of 660 and 808 nm in experimental model of osteoarthritis. *Photochem Photobiol.* 2012, 88 : 161-166.

De Souza RA; Xavier M; Maciel N; Santos AP; Pinheiro ALB; Villaverde AB;

Silveira Jr L. Raman spectroscopy detection of molecular changes associated with two experimental models of osteoarthritis in rats. *Lasers Med Sci* (2014) 29:797–804.

Dieppe P. Disease modification in osteoarthritis: are drugs the answer? *Arthritis Rheumatology* 2005; 52: 1956-9.

Elsaidy KA; Zhang L; Wallerx K; Toftez J; Teeplek E; Flemingxk EG; Jayzx GD. The impact of forced joint exercise on lubricin biosynthesis from articular cartilage following ACL transection and intra-articular lubricin's effect in exercised joints following ACL transection. *Osteoarthritis and Cartilage* 20 (2012) 940-948.

Fávaro–Pípi E.; Ribeiro D. A.; Ribeiro J. U.; Bossini P.; Oliveira P.; Parizotto N. A.; Tim C.; Araújo H. S. S., Renno A. C. M. Low-Level Laser Therapy Induces Differential

Expression of Osteogenic Genes During Bone Repair in Rats. *Photomedicine and Laser Surgery*. 2011; 29: 5.

Ferland C.E. Laverty S. Beaudry F. Vachon P. Gait analysis and pain response of two rodent models of osteoarthritis. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 97 (2011) 603–610.

Fitzgerald JB, Jin M, Dean D, Wood DJ, Zheng MH, Grodzinsky AJ. Mechanical compression of cartilage explants induces multiple time-dependent gene expression patterns and involves intracellular calcium and cyclic AMP. *J Biol Chem*. 2004 May 7;279(19):19502-11. Epub 2004 Feb 11.

Fransen M; McConnell S; Hernandez-Molina G; Reichenbach S. Does land-based exercise reduce pain and disability associated with hip osteoarthritis? A meta-analysis of randomized controlled trials. *Osteoarthritis and Cartilage* 18 (2010) 613-620.

French Hp, Cusack T, Brennan A, White B, Gilsean C, Fitzpatrick M, O'Connell P, Kane D, Fitzgerald O, Mccarthy GM. Exercise and manual physiotherapy arthritis research trial (EMPART): a multicentre randomised controlled trial. *BMC Musculoskelet Disord*. 2009 Jan 19;10:9.

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 Oct;12(10):779-86.

Garstang SV, Stitik TP (2006). Osteoarthritis: epidemiology, risk factors, and pathophysiology. *Am J Phys Med Rehabil* 85(Suppl):S2–S11.

Gerwiny N. Bendelez A.M. Glassonx S. Carlsonk C.S. The OARSI histopathology initiative recommendations for histological assessments of osteoarthritis in the rat. *Osteoarthritis and Cartilage* 18 (2010) S24 e S34.

Goldring SR, Goldring MB. Clinical aspects, pathology and pathophysiology of osteoarthritis. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 2006; 6:376-378.

Henrotin Y & Lambert C. Chondroitin and Glucosamine in the Management of Osteoarthritis: An Update. *Curr Rheumatol Rep* (2013) 15:361.

Henrotin Y, Lambert C, Richette P. Importance of Synovitis in osteoarthritis: Evidence for the use of glycosaminoglycans against synovial inflammation. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*. 43. 2014. 579-587.

Huang MH, Lin YS, Yang RC, Lee CL. A comparison of various therapeutic exercises on the functional status of patients with knee osteoarthritis. *Semin Arthritis Rheum*. 2003 Jun;32(6):398-406.

Jamtvedt G; Dahm KT; Rikke AC; Moe H; Haavardsholm E; Holm I; Hagen KB. Physical Therapy Interventions for Patients With Osteoarthritis of the Knee: An Overview of Systematic Reviews. 88 : 123-136. *PHYS THER*. 2008.

Jia YL, Guo ZY. Effect of low-power He-Ne laser irradiation on rabbit articular chondrocytes in vitro. *Lasers Surg Med*. 2004;34(4):323-8. Retraction in: *Lasers Surg Med*. 2005 Oct;37(4):330.

Jones A, Silva PG, Silva AC, Colucci M, Tuffanin A, Jardim JR, Natour J. Impact of cane use on pain, function, general health and energy expenditure during gait in patients with knee osteoarthritis: a randomised controlled trial. *Ann Rheum Dis*. 2012 Feb;71(2):172-9.

Knobloch TJ, Madhavan S, Nam J, Agarwal S Jr, Agarwal S. Regulation of chondrocytic gene expression by biomechanical signals. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*. 2008;18(2):139-50. Review

Kheshie AR, Alayat MSM, Ebrahim Ali MM. High-intensity versus low-level laser therapy in the treatment of patients with knee osteoarthritis: a randomized controlled trial *Lasers Med Sci* (2014) 29:1371–1376.

Kushibiki T, *et al.*, “Chondrogenic mRNA expression in prechondrogenic cells after blue laser irradiation,” *J. Photochem. Photobiol. B* 98 (3), 211–215 (2010).

Lane NE, Brandt K, Hawker G, Peeva E, Schreyer E, Tsuji W, Hochberg MC. OARSI-FDA initiative: Defining the disease state of osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage* 19 (2011) 478-482.

Leeuwenburgh C, Heinecke JW. Oxidative stress and antioxidants in exercise. *Curr Med Chem.* 2001 Jun;8(7):829-38. Review.

Lin YS, Huang MH, Chai CY. “Effects of helium-neon laser on the mucopolysaccharide induction in experimental osteoarthritic cartilage,” *Osteoarthritis Cartilage.* 14 (4), 377–383 (2006).

Lovu M.D. Dumais G. du Souich P. Anti-inflammatory activity of chondroitin sulfate. *Osteoarthritis and Cartilage.* (2008) 16,S14 e S18.

Malfaityz A.M. Littlex C.B. McDougallk J.J. A commentary on modelling osteoarthritis pain in small animals. *Osteoarthritis and Cartilage.* 21 (2013) 1316 e 1326.

Mankin HJ, Johnson ME, Lippiello L. Biochemical and metabolic abnormalities in articular cartilage from osteoarthritic human hips. III. Distribution and metabolism of amino sugar-containing macromolecules. *J Bone Joint Surg Am.* 1981 Jan; 63 (1):131.

Michel BA, Stucki G, Frey D, De Vathaire F, Vignon E, Bruelmann P, Uebelhart D. Chondroitins 4 and 6 in osteoarthritis of the knee: a randomized, controlled trial. *Arthritis Reumathology* 2005; 52:779-786.

Ozdemir F, Birtane M, Kokino S (2001) The clinical efficacy of low power laser therapy on pain and function in cervical osteoarthritis. *Clin Rheumatol* 20:181–184.

O’Connor BL, Brandt KD. Neurogenic factors in the etiopathogenesis of osteoarthritis. *Rheum Dis Clin North Am* 1993;19:581-605.



Ostalowska A, Birkner E, Wiecha M, Kasperczyk S, Kasperczyk A, Kapolka D, Zon-Giebel A. Lipid peroxidation and antioxidant enzymes in synovial fluid of patients with primary and secondary osteoarthritis of the knee joint. *Osteoarthritis Cartilage*. 2006 Feb;14(2):139-45. Epub 2005 Nov 10.

Paiotti AP, Ribeiro DA, Silva RM, Marchi P, Oshima CT, Neto RA, Miszputen SJ, Franco M. Effect of COX-2 inhibitor lumiracoxib and the TNF- $\alpha$  antagonist etanercept on TNBS-induced colitis in Wistar rats. *J Mol Histol*. 2012 Jun;43(3):307-17.

Peplow PV, Chung T, Baxter GD (2010) Application of low level laser technologies for pain relief and wound healing overview of scientific bases. *Phys Ther Rev* 15(4):253–285.

Pecchi E, Priam S, Mladenovic Z, Gosset M, Saurel AS, Aguilar L, Berenbaum F, Jacques C. A potential role of chondroitin sulfate on bone in osteoarthritis: inhibition of prostaglandin E<sub>2</sub> and matrix metalloproteases synthesis in interleukin - 1 $\beta$  stimulated osteoblasts. *Osteoarthritis and Cartilage* 20 (2012) 127-135.

Peccin MS, Da Silva PRG, Renno AC, Ribeiro DA. Low energy helium-neon laser ensures knee cartilage repair: An experimental short-term assay in rabbits. *J Laser Appl*. 20(3):165-68, 2008.

Pelletier JP, Jovanovic DV, Lascau-Coman V, Fernandes JC, Manning PT, Connor JR, Currie MG, Martel-Pelletier J. Selective inhibition of inducible nitric oxide synthase reduces progression of experimental osteoarthritis in vivo: possible link with the reduction in chondrocyte apoptosis and caspase 3 level. *Arthritis Rheum*. 2000 Jun; 43 (6) : 1290-9.

Penninx BW, Messier SP, Rejeski WJ, Williamson JD, DiBari M, Cavazzini C, Applegate WB, Pahor M. Physical exercise and the prevention of disability in activities of daily living in older persons with osteoarthritis. *Arch Intern Med*. 2001 Oct 22; 161 (19) : 2309-16.

Rahmati M, Mobasheri A, Mozafari M. Inflammatory mediators in osteoarthritis: A critical review of the state of the art, prospects, and future challenges. *Bone*. 2016 Jan 23. p: S8756-3282 (16).

Renner AF, Carvalho E, Soares E, Mattiello-Rosa S. The effect of a passive muscle stretching protocol on the articular cartilage. *Osteoarthritis Cartilage*. 2006 Feb;14(2):196-202.

Semanik PA, Chang RW, Dunlop DD. Aerobic activity in prevention and symptom control of osteoarthritis. *PM R*. 2012 May;4(5 Suppl):S37-44.

Sharma L. Osteoarthritis year in review 2015: clinical. *Osteoarthritis and Cartilage*. 24 (2016) 36-48.

Shi Q, Vaillancourt F, Côté V, Fahmi H, Lavigne P, Afif H, Di Battista Ja, Fernandes Jc, Benderdour M. Alterations of metabolic activity in human osteoarthritic osteoblasts by lipid peroxidation end product 4-hydroxynonenal. *Arthritis Res Ther*. 2006;8(6):R159.

Semanik PA, Chang RW, Dunlop DD. Aerobic activity in prevention and symptom control of osteoarthritis. *PM R*. 2012 May;4(5 Suppl):S37-44.

Silva FS, Yoshinari NH, Castro RR, Girão VCC, Pompeu MML, Feitosa JPA, Rocha FAC. Combined glucosamine and chondroitin sulfate provides functional and structural benefit in the anterior cruciate ligament transection model. *Clin Rheumatol* (2009) 28:109–117.

Stoddart MJ, Ettinger L, Häuselmann HJ. Enhanced matrix synthesis in de novo, scaffold free cartilage-like tissue subjected to compression and shear. *Biotechnol Bioeng*. 2006 Dec 20;95(6):1043-51.

Surapaneni KM, Venkataramana G. Status of lipid peroxidation, glutathione, ascorbic acid, vitamin E and antioxidant enzymes in patients with osteoarthritis. *Indian J Med Sci*. 2007 Jan;61(1):9-14.

Torzilliy P. A, Bhargavay M. Parkzand S. Cheny C. T. C. Mechanical load inhibits IL-1 induced matrix degradation in articular cartilage. *Osteoarthritis and Cartilage* (2010) 18, 97 e 105.

Van Vijveny J.P.J. Luijsterburg P.A.J. Verhageny A.P. van Oschz G.J.V.M. Kloppenburg M. Bierma-Zeinstrayz S.M.A. Symptomatic and chondroprotective treatment with collagen derivatives in osteoarthritis: a systematic review. *Osteoarthritis and Cartilage* 20 (2012) 809 e 821.

Valsiceac, F. A. Efeito do exercicio resistido na cartilagem articular do modelo animal de osteoartrite. São Carlos: UFSCar, 2012. 67 f.

Verbruggen G. Chondroprotetive drugs in degenerative joint diseases. *Rheumatology* 2006; 45:129-138.

Williams JM, Felten DL, Peterson RG, O'Connor BL. Effects of surgically induced instability on rat knee articular cartilage. *J Anat.* 1982 Jan;134(Pt1):103-9.

Wideman TH; Finan PH; Edwards RR; Quartana PJ; Buenaver LF; Haythornthwaite JÁ; Smith MT. Increased sensitivity to physical activity among individuals with knee osteoarthritis: Relation to pain outcomes, psychological factors, and responses to quantitative sensory testing. *PAIN*, 155 (2014) 703–711.

Young L, Katrib A, Cuello C, Vollmer-Conna U, Bertouch JV, Roberts Thomson PJ, Ahern MJ, Smith MD, Youssef PP: Effects of intraarticular glucocorticoids on macrophage infiltration and mediators of joint damage in osteoarthritis synovial membranes: findings in a doubleblind, placebo-controlled study. *Arthritis Rheum.* 2001, 44 : 343-350.

Zhang W, Nuki G, Moskowitz RW, Abramson S, Altman RD, Arden NK, Bierma-Zeinstra S, Brandt KD, Croft P, Doherty M, Dougados M, Hochberg M, Hunter DJ, Kwoh K, Lohmander LS, Tugwell P. OARSI recommendations for the management of hip and knee osteoarthritis: part III: Changes in evidence following systematic cumulative update of research published through January 2009. *Osteoarthritis Cartilage.* 2010 Apr; 18 (4) : 476 - 99.

## 7. Anexos

