

EFEITO DO EXERCÍCIO AERÓBICO EM MODELO EXPERIMENTAL DE ARTRITE

EFFECT OF AEROBIC EXERCISE ON AN EXPERIMENTAL MODEL OF ARTHRITIS

Paula Ramos Viacava¹, Vivian de Oliveira Nunes Teixeira^{1,2},
Paulo Vinicius Gil Alabarse^{1,2}, Laura de Lima Xavier³,
Ricardo Machado Xavier^{1,2}, Lidianne Isabel Filippin^{1,2}

RESUMO

INTRODUÇÃO: A artrite reumatoide é uma doença inflamatória sistêmica autoimune que acomete preferencialmente as articulações, mas também outros tecidos, como o músculo esquelético. A perda de massa muscular determina uma grande repercussão na funcionalidade e qualidade de vida desses pacientes e o exercício físico surge como uma alternativa terapêutica para esse acometimento.

OBJETIVO: Avaliar o efeito do exercício físico aeróbico moderado sobre a perda muscular em artrite induzida por colágeno (CIA).

MÉTODOS: Esse é um estudo-piloto em que CIA foi induzida em camundongos machos DBA1/J divididos em dois grupos: (i) animais com exercício (EXE, n=5), (ii) animais sem exercício (semEXE, n=4). Foram avaliados o escore clínico, o edema da pata traseira, o peso do animal e a locomoção espontânea periodicamente. Após a morte, a histopatologia da articulação tibiotarsal e a área da miofibra dos músculos gastrocnêmio e tibial anterior foram avaliados. Significância foi considerada se $p < 0,05$.

RESULTADOS: Não foi observada diferença significativa entre os grupos nos parâmetros de atividade da doença, peso e locomoção espontânea. Entretanto, a histopatologia da articulação demonstrou redução da erosão cartilaginosa no grupo EXE. Também se observou aumento significativo na área seccional da miofibra do grupo EXE, representando uma diferença média de 24%.

CONCLUSÃO: Este é o primeiro estudo com exercício aeróbico moderado em esteira em modelo experimental de artrite. O protocolo de exercício testado não parece impactar no desenvolvimento clínico da doença, mas demonstrou benefício sobre a perda muscular consequente da artrite, reduzindo a atrofia da miofibra.

Palavras-chave: artrite reumatóide; exercício físico; perda muscular.

ABSTRACT

BACKGROUND: Rheumatoid arthritis (RA) is a systemic autoimmune inflammatory disease that affects primarily the joints, but also other tissues such as skeletal muscle. Muscle wasting significantly impairs the functionality and quality of life of patients with RA and physical exercise is an alternative therapy for this outcome.

AIM: To evaluate the effect of moderate aerobic physical exercise on muscle loss caused by collagen-induced arthritis (CIA).

Clin Biomed Res. 2014;34(1):28-39

1 Laboratório de Doenças Autoimunes e Infecciosas, Serviço de Reumatologia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre – Porto Alegre (RS), Brasil.

2 Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – Porto Alegre (RS), Brasil.

3 Faculdade de Medicina, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul – Porto Alegre (RS), Brasil.

Autor correspondente:

Lidianne Isabel Filippin
lidifilippin@gmail.com
Porto Alegre, RS, Brasil

METHODS: This is a pilot study in which CIA was induced in DBA/1J mice divided into two groups: (i) animals which exercised (EXE, n=5), (ii) animals which did not exercise (semEXE, n=4). Clinical score, hind paw swelling, weight, and spontaneous locomotion were evaluated periodically. After death, the histopathological score of the ankle and the myofiber area of the gastrocnemius and tibialis anterior muscles were evaluated. Significance was considered when $p < 0.05$.

RESULTS: No significant difference was observed between groups regarding clinical parameters of disease activity, animal weight, and spontaneous locomotion. However, joint histopathology demonstrated a decrease in cartilage erosion in the EXE group. There was also significant difference in the myofiber sectional area, with a 24% increase in the EXE group.

CONCLUSION: This is the first interventional study with moderate aerobic exercise on a treadmill in an arthritis experimental model. The tested exercise program does not seem to have a clinical impact on the process of arthritis. However, it has a positive effect on muscle wasting caused by arthritis, demonstrated mainly by the reduction of myofiber atrophy.

Keywords: Rheumatoid arthritis; physical exercise; muscle wasting.

A artrite reumatoide (AR) é uma doença sistêmica inflamatória de etiologia desconhecida, com manifestações autoimunes, caracterizada por sinovite crônica, simétrica e erosiva preferencialmente de articulações periféricas (1), com impacto significativo na morbimortalidade dos portadores. A AR tem a prevalência de 0,46% na população brasileira (2) e 1% na população mundial (3).

A patologia da sinovite reumatoide caracteriza-se, fundamentalmente, por proliferação da membrana sinovial e subsequente erosão da cartilagem articular e do osso subcondral, devido ao aumento de células T e B, angiogênese na membrana sinovial e acúmulo de células inflamatórias que rapidamente levam a formação de um *pannus* invasivo (4). Essa inflamação crônica produz citocinas geradas pela resposta do linfócito T auxiliar 1 (Th1) que produz interferon-gama (IFN- γ) estimulando a liberação do fator de necrose tumoral do tipo α (TNF- α), interleucina-1 beta (IL-1 β) e metaloproteinases pelos macrófagos e fibroblastos sinoviais (5), junto com a participação de linfócitos T auxiliar 17 (Th17) produtores de IL-17, com papel importante na resposta inflamatória reumatoide, pois induz a produção de IL-6 e IL-23 aumentando a reabsorção óssea e ativação dos osteoclastos diminuindo a formação óssea (6).

Nos achados clínicos comumente se observa perda muscular no local afetado, ocasionada pela atrofia de fibras musculares (7,8). Atrofia muscular

pode decorrer de diversas condições clínicas, tais como desuso, idade avançada, desnutrição, doenças inflamatórias crônicas, infecciosas e autoimunes. Essas condições clínicas induzem a perda muscular por diferentes vias de sinalização intracelular, tais como proteases lisossomais, proteases ativadas por cálcio e ativação do sistema proteossomo (9), além de ocasionar alterações na capacidade regenerativa do músculo (8). No músculo estriado esquelético ocorre aumento na produção de radicais livres, que passam a ser um potente estímulo para a produção de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IL-1 β e IL-6) mediada pelo fator de transcrição nuclear κ B (NF- κ B), o qual inicia uma cascata de eventos que consiste na expressão da enzima óxido nítrico sintase indutível (iNOS), que ocasiona apoptose e perda muscular (10). Perda de massa muscular é o principal contribuinte para a perda de força muscular (11, 12), e essa redução da massa do músculo causa a diminuição da atividade física em pacientes acometidos com AR (13,14).

Modelos experimentais como a artrite induzida por colágeno (CIA) mimetizam a AR, sendo uma importante ferramenta para o estudo dessa doença (15). Esses modelos são amplamente usados por demonstrar semelhanças clínicas e histopatológicas com a AR, incluindo padrões da sinóvia, erosão da cartilagem articular e osso, bem como a exacerbação de citocinas pró-inflamatórias e características clínicas como dor, edema e

perda funcional (16). Entretanto, ainda é escassa a literatura quanto ao envolvimento muscular nesses modelos, especialmente no que tange o impacto causado pelo exercício na prevenção da perda muscular (13).

Estudos demonstram que o exercício físico está associado com a redução da morbidade e mortalidade cardiovascular (17), apresenta efeito neuroprotetor em modelo experimental de Parkinson (18) e redução na obesidade de modelo experimental de diabetes do tipo 2 (19). Nas doenças autoimunes, os estudos relacionados à atividade física ainda apresentam resultados controversos (20). Mesmo assim, exercícios físicos são recomendados para pacientes com AR devido aos benefícios, como aumento da mobilidade articular, da força muscular e da capacidade aeróbia (13), preservando a mobilidade sem causar danos na articulação de pacientes fisicamente ativos (21). Contudo, ainda não está totalmente esclarecida qual a frequência, a duração e a intensidade que o exercício deve ser realizado (22). O objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito de um protocolo de exercício físico aeróbico moderado sobre a perda muscular de animais com artrite experimental.

MÉTODOS

Esse foi um estudo-piloto para determinar o efeito do exercício sobre a perda muscular. Foram utilizados camundongos DBA1/J machos de 8 a 12 semanas de vida, mantidos na Unidade de Experimentação Animal (Centro de Pesquisas Experimental – Hospital de Clínicas de Porto Alegre) durante todo o período experimental, em caixas plásticas de 30 cm x 20 cm x 12 cm forradas com maravalha, em ciclo de 12 horas claro/escuro e temperatura entre 18° e 22°C. A água e a ração eram administradas *ad libitum*. Este estudo obedeceu à Legislação Brasileira e do Código Estadual de Proteção aos Animais, (Lei 11794/2008), com políticas locais no cuidado e uso de animais de acordo com os códigos relacionados à prática (23).

Os animais foram randomicamente divididos em dois grupos: (i) grupo artrite sem exercício (semEXE, n=4); (ii) grupo com artrite submetidos ao protocolo de exercício aeróbico moderado (EXE, n=5). A artrite foi induzida por colágeno bovino tipo II segundo Brand et al. (24). Os animais foram anestesiados com inalação de isoflurano (1 ml/ml, Abbott) e imunizados através de uma

emulsão de 50 µL contendo volumes iguais de colágeno bovino tipo II (2 mg/mL) e adjuvante completo de Freund (CFA, Sigma, St Louis, MO, USA) misturado com *Mycobacterium tuberculosis* (4 mg/mL) (bactéria inativada strain H37RA, Difco, Detroit, MI, USA) por injeção intradérmica a uma distância de 1,5 cm da base da cauda no dia zero. O reforço da imunização (booster) foi realizado no 18° dia, para garantir a indução com alta incidência da doença. No booster foi utilizada a mesma concentração de colágeno bovino do tipo II, no entanto, foi emulsificado com adjuvante incompleto de Freund (IFA) para imunização. Os animais foram anestesiados como na primeira imunização e a injeção é novamente intradérmica na base da cauda, porém numa parte mais distal ao primeiro local da injeção. Os animais foram acompanhados diariamente após o booster e no 28° dia sacrificados por deslocamento cervical.

Os animais foram monitorados diariamente durante todo período experimental por examinadores cegados, para análise dos sinais clínicos da artrite com o uso do escore de severidade, como segue: 0 – sem sinais de eritema ou edema; 1 – eritema e edema leve (tarsos ou metatarsos); 2 – eritema e edema moderado (tarsos e metatarsos ou tarsos e tornozelo); 3 – eritema e edema severo (metatarsos a tornozelo) e 4 – todas as articulações afetadas com perda da função (anquilose). E, ao final do experimento, o máximo de escore do animal será 16 (escore 4 em cada pata) (24).

No modelo em estudo, a medida bilaterolateral da pata do camundongo indica o seu grau de edema. Essa medida do edema das patas posteriores foi realizada diariamente após o primeiro sinal clínico, durante todo o experimento, por paquímetro digital Mitutoyo (Sul Americana Ltda, Suzano – São Paulo) (25).

No dia do *booster* e ao final de cada semana, os camundongos foram colocados individualmente em uma caixa acrílica com sensores de movimento chamada Monitor de Atividade IR, da Insight Equipamentos Ltda® (<http://insightltda.com.br>). São registrados 5 minutos de locomoção espontânea do animal, o tempo começa a ser contado após 20 segundos de adaptação à caixa (25). A detecção dos movimentos foi enviada a um computador, e avaliada pelo *software* do equipamento onde determinou os seguintes parâmetros: desenho do trajeto percorrido, distância percorrida, velocidade média percorrida,

tempo de repouso, quantidade de vezes que o animal ficou em pé ou pulou.

Após o desenvolvimento da doença (considerada escore clínico igual a um), os animais foram submetidos ao protocolo de exercício aeróbico moderado em esteira motorizada de roedores (desenvolvida pelo Serviço de Engenharia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre). O protocolo de treinamento ocorreu da seguinte forma: os animais foram ambientados em uma velocidade 8 m/min um dia após o *booster*. Depois que desenvolveram a doença treinaram com velocidade de 9 m/min por 5 minutos, após, a velocidade passou para 12 m/min por 5 minutos, 15 m/min por 10 minutos, 12 m/min por 5 minutos e os animais terminaram o treinamento em uma velocidade de 9 m/min por 5 minutos. O treinamento total foi de 30 minutos por dia, três dias por semana durante o período de quatro semanas (17). O escore clínico da doença inicial dos animais que realizaram o treinamento em esteira foi em média de 2,3.

Após a dissecação anatômica, as articulações foram colocadas separadamente em recipientes com formol 10% tamponado de 5 a 7 dias. Após esse período, o formol foi retirado e as articulações colocadas em ácido nítrico 10% por 24 horas para descalcificação, e depois encaminhadas à patologia. Essas seções das articulações coradas com hematoxilina eosina (HE) foram analisadas por um patologista cego.

Para inflamação sinovial usamos o sistema de contagem usado por Oliveira et al. (26), no qual cinco campos de ampliação de alto poder (HPFs) foram analisados, sendo a média da contagem usada para análises: infiltrado mononuclear inflamatório, classificado como 0 - ausente, 1 - leve (1-10%), 2 - moderado (11-50%), e 3 - severo (51-100%); hiperplasia sinovial, por meio de sistema de contagem descrito por Douni et al. (27), como segue: 0 - ausente, 1 - leve (5-10 camadas), 2 - moderado (11-20 camadas), e 3 - severo (20 camadas); extensão da formação de pannus, baseado na impressão do leitor, classificado como 0 - ausente, 1 - leve, 2 - moderado, e 3 - severo; fibrose sinovial, classificado como 0 - ausente, 1 - leve (1-10%), 2 - moderado (11-50%), e 3 - severo (51-100%); erosão da cartilagem, avaliada conforme sistema de contagem descrito por Douni et al. (27) que avalia a porcentagem da superfície de cartilagem que é afetada: 0 - nenhum, 1 - leve (1-10%), 2 - moderado (11-50%) e 3 - severo (51-100%); erosão óssea marcada como 0 - ausente, 1 - leve (erosão 5HPF), 2 - moderado (erosão

aumento), 3 - severo (erosão transcortical que invade medula óssea, neoformação óssea cortical).

Após a dissecação anatômica dos músculos tibial anterior e gastrocnêmio, esses foram colocados separadamente em frascos com formol tamponado a 10% de 1 a 3 dias e encaminhados à patologia, onde foram coradas em HE. As lâminas foram analisadas em microscópio óptico.

Nas seções transversais do músculo tibial anterior e gastrocnêmio corado em HE foram traçadas duas linhas retas perpendiculares na miofibrila para determinar a estimativa da área da seção transversa dessa miofibrila, obtida utilizando-se a média geométrica entre o menor e o maior diâmetro medido no cálculo da área de um círculo. Para essas medidas são capturadas 10 imagens de cada lâmina histológica com QImaging Digital Camera (Media Cybernetics) e de cada campo são mensurados os diâmetros de 20 miofibrilas com auxílio do software Image-Pro Express (versão 5.1.0.12, Media Cybernetics). Por fim, a média geométrica dos diâmetros foi gerada e calculada a área transeccional da miofibrila (25).

O tamanho amostral foi definido de acordo com modelos adaptados de osteoartrite encontrados na literatura (28-30), visto que na ausência de estudos que avaliam a perda muscular associados com o exercício físico em modelo animal de artrite, realizamos um estudo-piloto. Os dados quantitativos gerados foram descritos por média e erro-padrão. A comparação dos grupos foi realizada por teste *t* de Student. Os dados analisados com o programa Graphpad Prism v5.

RESULTADOS

Os resultados demonstram que os parâmetros clínicos da doença, escore clínico e edema, acompanhados diariamente, foram similares em ambos os grupos estudados, sugerindo que este protocolo de exercício físico aeróbico moderado não foi capaz de afetar o desenvolvimento clínico da doença (Figura 1).

Opes dos animais foi monitorado semanalmente. Essa variável também não demonstrou diferença significativa. Quando analisado o peso muscular e a relação sarcossomática (relação entre o peso muscular e o peso total do animal) nos animais igualmente não se observa diferença significativa entre os grupos. Contudo, foi observada uma diferença nas últimas duas semanas de experimento, o grupo EXE ganhou, em média, $0,71 \pm 0,3g$ de peso, enquanto o grupo sem EXE perdeu, em

média, de $0,41 \pm 0,4$ g de peso, perfazendo 47,2% de diferença entre os grupos. Mesmo assim, essa diferença não foi significativa. ($p=0,093$) (Figura 2).

Após a avaliação dos parâmetros clínicos e peso dos animais a locomoção espontânea foi avaliada. Não foi demonstrada alteração na distância percorrida nos animais do grupo semEXE quando comparados com o grupo EXE na última semana de experimento ($p=0,82$) (Figura 3).

Mesmo não sendo observada diferença significativa nos parâmetros clínicos avaliados, quando avaliada a histopatologia da articulação tibiotarsal (Figura 4) foi demonstrada redução não significativa em alguns parâmetros, principalmente na inflamação sinovial polimorfonuclear e na erosão óssea (Tabela 1). No entanto, o animal com exercício apresentou o parâmetro de erosão cartilaginosa reduzido, demonstrando uma proteção parcial do exercício contra o dano articular causado pela artrite (tabela 1).

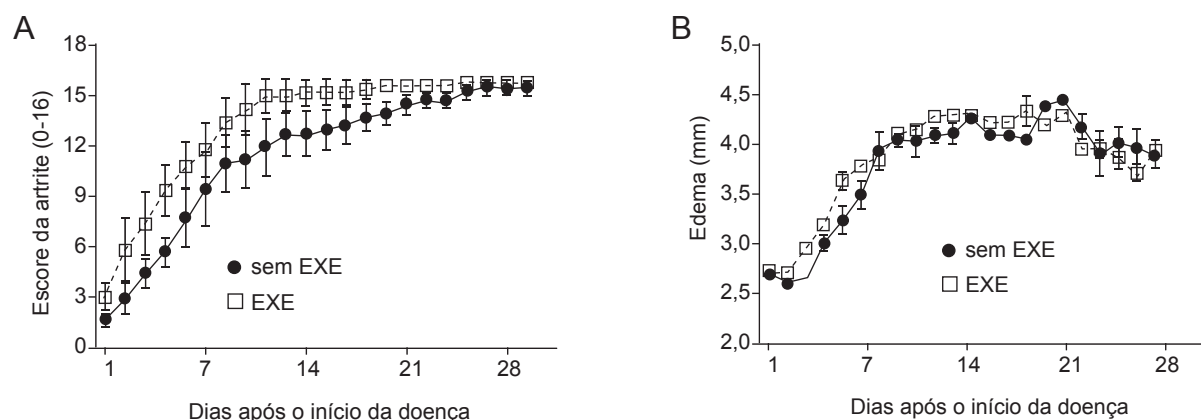
Após avaliar os parâmetros clínicos e a histopatologia da articulação tibiotarsal que confirmou a presença da doença, a área da miofibra (músculos gastrocnêmio e tibial anterior) foi mensurada. Observamos a redução da perda muscular do grupo EXE no músculo gastrocnêmio, apresentando uma área de 598 ± 76 m², enquanto no grupo semEXE apresenta área de 505 ± 70 m². Esse resultado representa

um aumento médio de 20% da área muscular do gastrocnêmio quando comparamos o grupo EXE ao semEXE ($p=0,02$) (Figura 5).

DISCUSSÃO

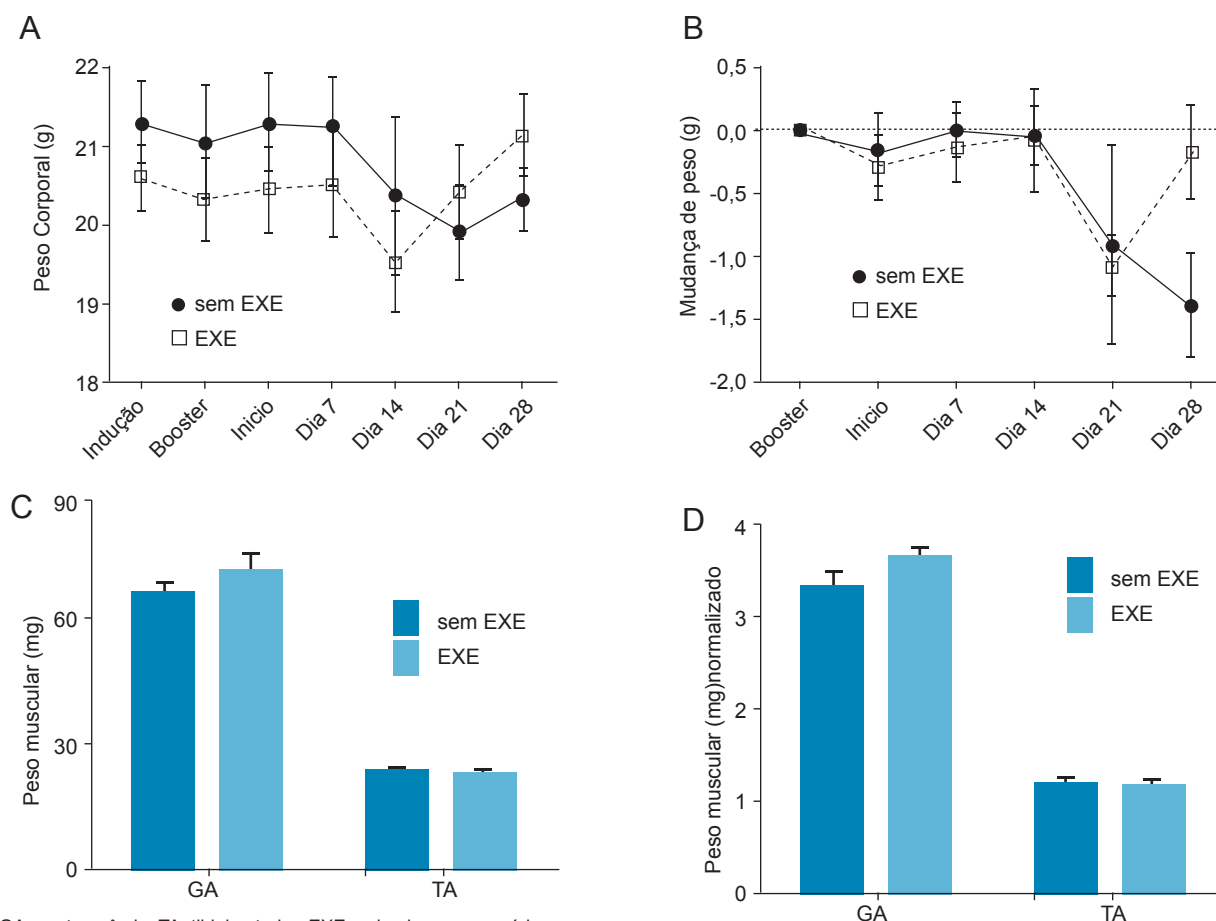
Estudos em modelos animais, em que a indução e a evolução da doença são sincronizadas e mais previsíveis, têm grande importância para determinar a contribuição dos tipos celulares específicos e moléculas efetoras durante a indução e o desenvolvimento da artrite (31). A artrite experimental induzida pelo colágeno tipo II (CII) compartilha várias características com AR. O CII é a principal proteína da cartilagem e um dos potenciais autoantígenos da AR, nesse modelo o CII causa a artrite experimental autoimune, com inflamação da sinóvia articular, destruição do tecido cartilaginoso e ósseo, semelhante ao acometimento articular humano, mesmo apresentando ausência do fator reumatoide (32).

Nosso estudo não observou diferença dos parâmetros clínicos, como peso, edema e escore da doença. Porém, a ausência de significância na variável do peso pode ser explicado pelo período de treinamento (4 semanas), ou seja, se o protocolo de exercício fosse continuado talvez o peso dos animais fosse estatisticamente diferente, pois na última semana de treinamento os animais demonstraram ganho de peso (Figura 2A e 2B).



EXE: animais com exercício.

Figura 1: Efeito do exercício aeróbico sobre o desenvolvimento da artrite experimental. (A) Escore clínico; (B) Edema, demonstrado pelo diâmetro latero-lateral dos membros posteriores. Valores expressos em médias $\pm$ erro padrão (EP).



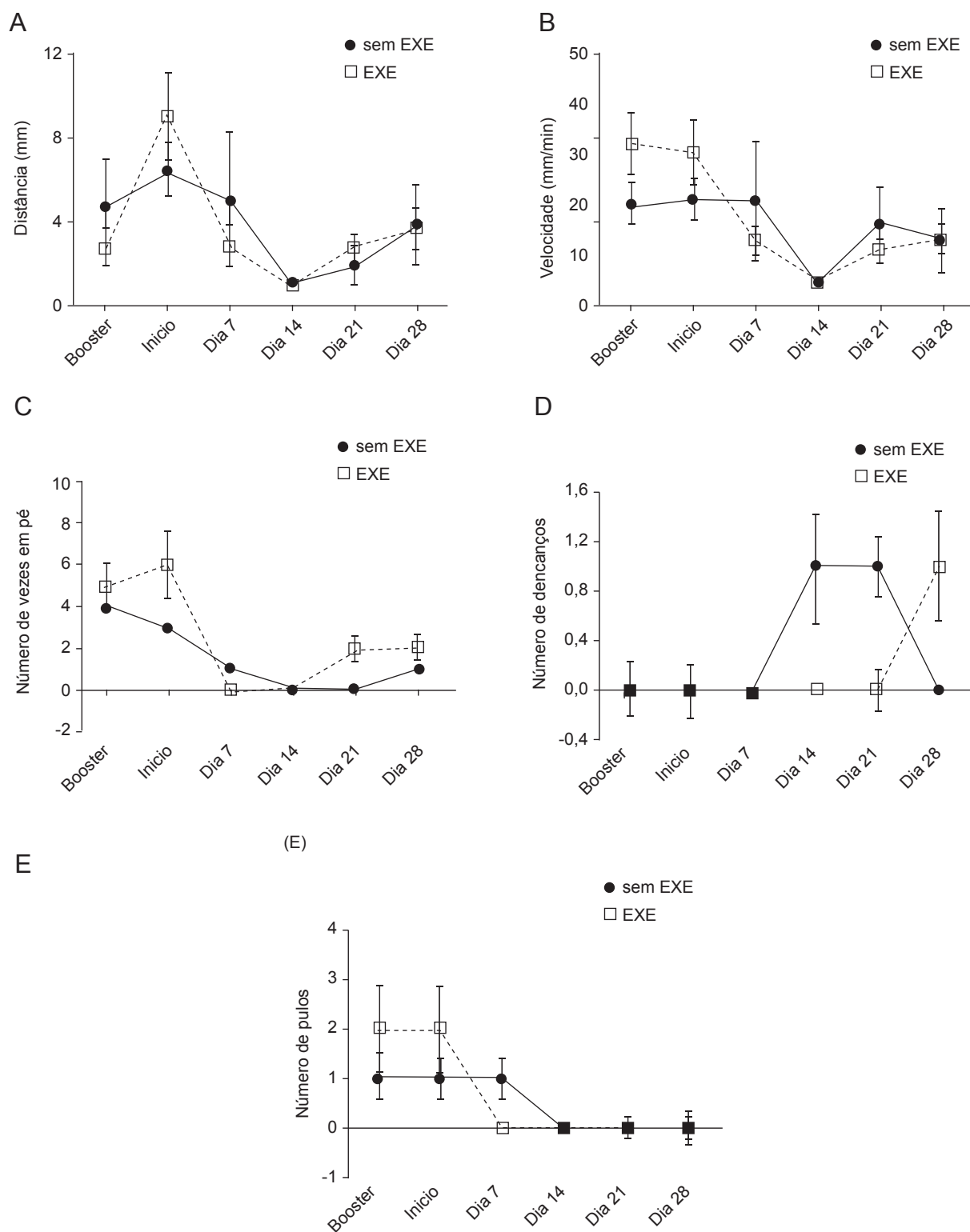
GA: gastrocnêmio; TA: tibial anterior; EXE: animais com exercício.

Figura 2: Efeito do exercício aeróbico sobre o peso dos animais e peso muscular. (A) Peso corporal durante as semanas de experimento; (B) Variação do peso corporal ao longo do experimento em relação ao peso inicial dos animais; (C) Peso dos músculos gastrocnêmio e tibial anterior no 28º de doença; (D) Peso dos músculos gastrocnêmio e tibial anterior normalizados com o peso final do animal no 28º de doença. Valores expressos em média $\pm$ EP.

Em estudo similar de Navarro et al. (33), que utilizaram ratas Wistar com artrite experimental, também não foi observada diferença nesses parâmetros clínicos entre os animais doentes quando comparados com os animais exercitados com natação. Segundo os autores, a natação, embora não tenha impactado diretamente sobre os parâmetros clínicos, foi capaz de aumentar a capacidade aeróbia e a força muscular, além de reduzir cerca de 10% a inflamação articular. Neste modelo o exercício conseguiu diminuir a migração de linfócitos e macrófagos para a articulação no modelo de CIA. Benefícios também têm sido demonstrados em estudos clínicos. Neuberger et al. (34) avaliou 220 pacientes submetidos a caminhadas moderadas de uma hora com frequência cardíaca máxima de 60%, exercitando

três vezes por semana durante um período de 12 semanas. Esse estudo demonstrou redução da dor, fadiga e depressão, sugerindo que indivíduos submetidos a caminhadas moderadas melhoram condições clínicas associadas às artropatias inflamatórias crônicas. Van den Berg et al. (35) observou uma pequena redução na atividade da doença de pacientes que realizaram caminhadas diárias por um ano, porém essa redução não foi estatisticamente significativa.

Hartog et al. (36), em modelo de CIA avaliou a locomoção espontânea e demonstrou forte correlação entre a diminuição da locomoção com o aumento do escore da artrite. Esses autores concluem que a detecção quantitativa da locomoção corresponde a alterações clínicas, indicando a gravidade da doença. Em recente



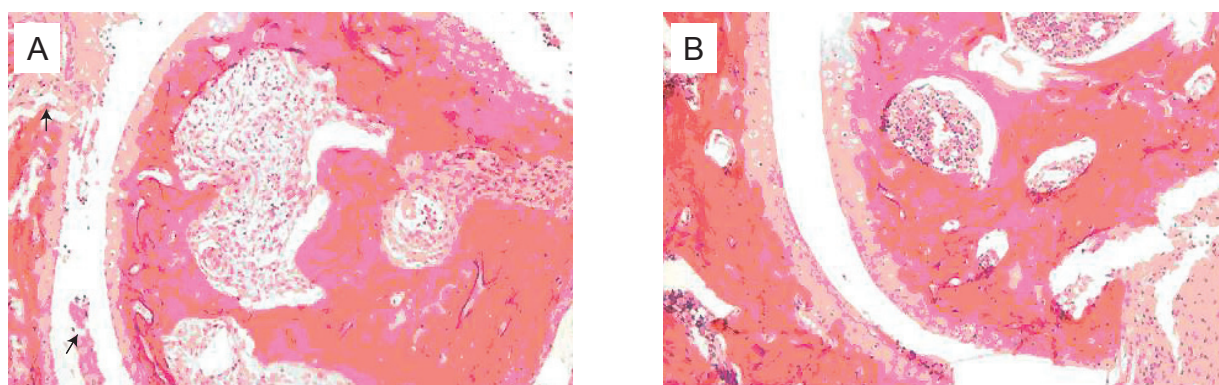
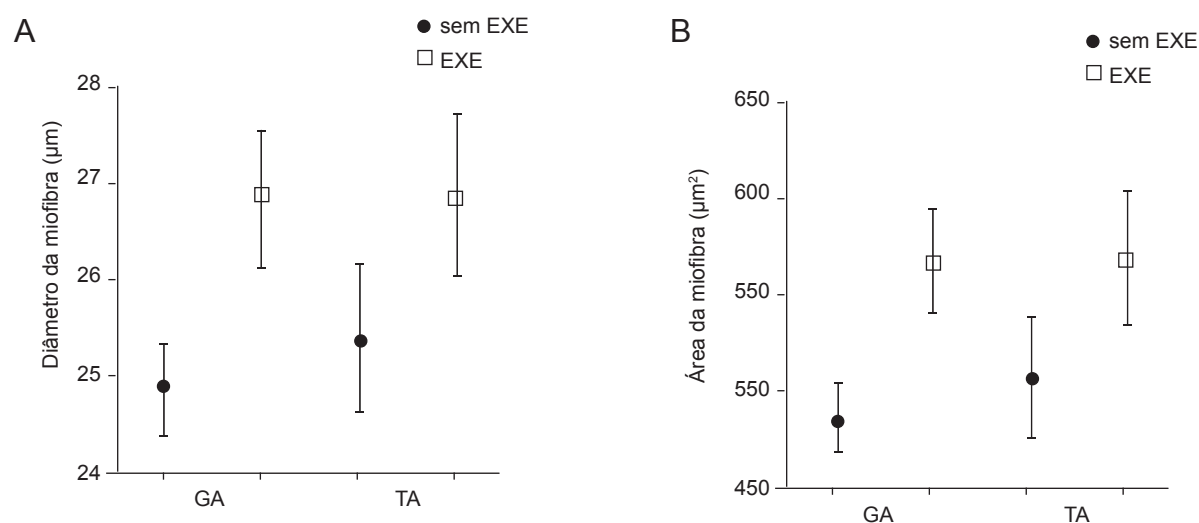
EXE: animais com exercício.

Figura 3: Efeito do exercício aeróbico na locomoção espontânea, avaliada durante 5 min. (A) Distância percorrida; (B) Velocidade média alcançada; (C) Número de vezes que os animais ficaram em pé; (D) Número de vezes que os animais descansaram; (E) Número de vezes que os animais pularam. Valores expressos em médias $\pm$ EP.

Tabela 1: Impacto do exercício físico sobre parâmetros histopatológicos da articulação tibiotarsal.

	Sem EXE (n=4)	Sem EXE (n=5)	Valor p
Inflamação sinovial polimorfonuclear	1,88±0,22	1,40±0,22	p=0,150
Inflamação sinovial mononuclear	2,00±0,19	1,70±0,15	p=0,220
Hiperplasia sinovial	0,25±0,23	0,48±0,21	p=0,879
Extensão de <i>pannus</i>	1,40±0,27	1,30±0,37	p=0,879
Erosão cartilaginosa	2,13±0,23	1,40±0,22*	p=0,037
Erosão óssea	1,88±0,23	1,30±0,26	p=0,125

Valores expressos em médias±EP. *p<0,05 EXE versus semEXE.
EXE: animais com exercício.


Figura 4: Impacto do exercício físico sobre a histopatologia da articulação tibiotarsal dos animais semEXE (A) e dos animais EXE. Aumento de 200x.


GA: gastrocnêmio; TA: tibial anterior; EXE: animais com exercício.

Figura 5: Efeito do exercício aeróbico sobre a área da miofibrila. Os valores são expressos em médias ± DP. *p<0,05 EXE versus semEXE.

trabalho do nosso grupo foi demonstrado que animais CIA reduzem 74% da distância percorrida quando comparados com animais saudáveis após 45 dias da indução da doença, e essa redução estava associada com a perda muscular (músculo gastrocnêmio) e peso corporal (26 e 5%, respectivamente) (25). Okiura et al. (37) em estudo semelhante observou redução de 15% na área da miofibrila de animais com CIA. A redução da área da miofibrila pode estar associada à atividade inflamatória da doença, desequilíbrio entre a síntese e degradação proteica, alterações metabólicas e ingesta alimentar reduzida (38).

Nossos achados mostram redução na perda da massa muscular avaliado pela área da miofibrila, onde animais com artrite experimental, quando submetidos ao exercício aeróbico apresentam área da miofibrila 24% maior que animais com CIA (Figura 5). Cabe salientar que camundongos DBA1/J saudáveis apresentam cerca de 700 μm^2 na área da miofibrila, ou seja, animais em fase avançada de doença (escore clínico grau 4) quando submetidos a exercício aeróbico moderado demonstram decréscimo de somente 10% na área muscular em relação aos animais saudáveis. A fibra muscular esquelética é formada durante a miogênese e as células-satélite (CS) participam do equilíbrio entre a regeneração e a degradação (39). As CS são precursores miogênicos que em adultos estão quiescentes e diferenciam-se frente a uma resposta de estresse como trauma, estímulo de crescimento ou exercício físico (40). Portanto, essas células podem estar estimuladas para entrar no ciclo celular e diferenciar-se em novas miofibrilas, reduzindo assim a perda muscular relacionada à doença articular inflamatória crônica. No entanto, essa relação não é clara na literatura. Treinamento de resistência de alta intensidade progressiva produz um aumento na massa magra e redução de massa gorda (41,42), o que corrobora os nossos achados acerca da área da miofibrila (Figura 5) e aumento do peso (Figura 2A e 2B).

Na literatura já é descrito que o exercício físico exerce ação anti-inflamatória e a principal citocina envolvida nessa modulação é a IL-6 (43, 44). Esse efeito anti-inflamatório é caracterizado pelo aumento plasmático de IL-10 e de receptores solúveis de TNF I e II, induzidos pela IL-6 (44). Além disso, a prática de exercício, que restaura a massa muscular, tem mostrado melhora substancial na função física, com

redução da incapacidade em pacientes com AR (42,45). Estudo de Lyngberg et al. (46) mostrou que o exercício físico de fortalecimento muscular não agrava a inflamação articular (sinovite, edema e dor articular), pois pacientes com doença ativa moderada apresentaram redução da atividade da doença nas articulações após o exercício (47). Acredita-se que no processo inflamatório da artrite ocorre a proliferação da membrana sinovial e ação de citocinas como IL-1 e TNF- α , quebrando as camadas superficiais da cartilagem articular, causando edema e inflamação (48). Algumas evidências sugerem que os ciclos intermitentes de aumento da pressão intra-articular durante o exercício aumenta o fluxo de sangue sinovial, o que sugere um efeito benéfico do exercício na inflamação causada pela artrite (49). Esse poderia ser um mecanismo relacionado com a pequena melhora observada na articulação tibiotarsal, onde mostra uma diminuição no infiltrado inflamatório e redução da erosão do tecido ósseo e cartilaginoso (Tabela 1). Galois et al. (50) em modelo de osteoartrose com animais submetidos a exercício aeróbico em esteira, demonstrou redução na erosão do tecido ósseo a partir da segunda semana de exercício.

Assim, o incentivo para o exercício torna-se parte habitual em cuidados de reumatologia em paciente, especialmente aqueles com doença mais branda, pois ameniza principalmente a perda muscular acometida pela artrite, também diminuindo os efeitos da AR nas células do sistema imune e aumentando a força muscular e a capacidade aeróbia. Em nossos achados, camundongos com artrite submetidos a exercício físico demonstraram redução da erosão cartilaginosa e da atrofia muscular e, aumento não significativo de peso. O número amostral e o protocolo de exercício são as duas grandes limitações do estudo. O protocolo de exercício não foi baseado no esforço máximo do animal, fator determinante para manutenção da intensidade do exercício. Possivelmente encontraríamos diferença significativa no peso do animal se o número amostral fosse maior e, o efeito do exercício seria mais impactante sobre os parâmetros clínicos e funcionais com maior frequência e intensidade fixa, baseada no esforço máximo do animal. Apesar dessas limitações, os poucos resultados positivos obtidos somados aos dados da literatura apoiam a hipótese de que o exercício aeróbico é capaz de promover melhora na qualidade de vida dos pacientes com artrite

reumatoide. Assim, torna-se uma alternativa na prevenção da perda muscular ocasionada por essa doença.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos pelo apoio financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq),

da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS) e do Fundo de Incentivo à Pesquisa e Eventos do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (FIPE-HCPA).

O Laboratório de Patologia Experimental deu importante apoio nas análises histológicas, e a Unidade de Experimentação Animal auxiliou e acompanhou os cuidados com os camundongos e a experimentação animal.

REFERÊNCIAS

1. Scott DL, Wolfe F, Huizinga TWJ. Rheumatoid arthritis. *Lancet*. 2010;376(9746):1094-108.
2. Senna TR, De Barros ALP, Silva EO, Costa IF, Pereira LVB, Ciconelli RM, et al. Prevalence of rheumatic diseases in Brazil: a study using the COPCORD approach. *Journal of Rheumatology*. 2004;31(3):594-7.
3. Lee DM, Weinblatt ME. Rheumatoid arthritis. *Lancet*. 2001;358(9285):903-11.
4. Andreoli TE, Carpenter CCJ, Benett JC, Plum F. *Medicina Interna Básica*. 4ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1998.
5. Klimiuk PA, Yang H, Goronzy JJ, Weyand CM. Production of cytokines and metalloproteinases in rheumatoid synovitis is T cell dependent. *Clin Immunol*. 1999;90(1):65-78.
6. McInnes IB, Schett G. Cytokines in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Nat Rev Immunol*. 2007;7(6):429-42.
7. Khurana R, Berney SM. Clinical aspects of rheumatoid arthritis. *Pathophysiology*. 2005;12(3):153-65.
8. Teixeira VdON, Filippin LI, Xavier RM. Mecanismos de Perda Muscular da Sarcopenia. *Rev Bras Reumatol*. 2012;52:252-529.
9. Jackman RW, Kandarian SC. The molecular basis of skeletal muscle atrophy. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*. 2004;287(4):C834-43.
10. Sandri M. Signaling in muscle atrophy and hypertrophy. *Physiology*. 2008;23(3):160-70.
11. Degens H, Erskine RM, Morse CI. Disproportionate changes in skeletal muscle strength and size with resistance training and ageing. *J Musculoskelet Neuronal Interact*. 2009;9(3):123-9.
12. Reeves ND, Narici MV, Maganaris CN. Myotendinous plasticity to ageing and resistance exercise in humans. *Exp Physiol*. 2006;91(3):483-98.
13. Cooney JK, Law RJ, Matschke V, Lemmey AB, Moore JP, Ahmad Y, et al. Benefits of exercise in rheumatoid arthritis. *J Aging Res*. 2011;2011:681640.
14. Sokka T, Häkkinen A. Poor physical fitness and performance as predictors of mortality in normal populations and patients with rheumatic and other diseases. *Clin Exp Rheumatol*. 2008;26(5 Suppl 51):S14-20.
15. Kollias G, Papadaki P, Apparailly F, Vervordeldonk MJ, Holmdahl R, Baumans V, et al. Animal models for arthritis: innovative tools for prevention and treatment. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2011;70(8):1357-62.
16. Asquith DL, Miller AM, McInnes IB, Liew FY. Animal models of rheumatoid arthritis. *European Journal of Immunology*. 2009;39(8):2040-4.
17. Fukui T, Siegfried MR, Ushio-Fukai M, Cheng Y, Kojda G, Harrison DG. Regulation of the vascular extracellular superoxide dismutase by nitric oxide and exercise training. *J Clinical Invest*. 2000;105(11):1631-9.
18. Lau YS, Patki G, Das-Panja K, Le WD, Ahmad SO. Neuroprotective effects and mechanisms of exercise in a chronic mouse model of Parkinson's disease with moderate neurodegeneration. *European Journal of Neuroscience*. 2011;33(7):1264-74.

19. Brukner PD, Brown WJ. 3. Is exercise good for you? *Med J Aust*. 2005;183(10):538-41.
20. Richards SCM, Scott DL. Prescribed exercise in people with fibromyalgia: parallel group randomised controlled trial. *BMJ*. 2002;325(7357):185-7.
21. Scarvell J, Elkins MR. Aerobic exercise is beneficial for people with rheumatoid arthritis. *Br J Sports Med*. 2011;45(12):1008-9.
22. Nader GA, Lundberg IE. Exercise as an anti-inflammatory intervention to combat inflammatory diseases of muscle. *Current Opinion in Rheumatology*. 2009;21(6):599-603.
23. National Research Council. Guide for the Care and Use of laboratory Animals. The National Academies Press, editor. Washington; 2011.
24. Brand DD, Latham KA, Rosloniec EF. Collagen-induced arthritis. *Nature Protocols*. 2007;2(5):1269-75.
25. Filippin LI, Teixeira VN, Viacava PR, Lora PS, Xavier LL, Xavier RM. Temporal development of muscle atrophy in murine model of arthritis is related to disease severity. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*. 2013;4(3):231-38.
26. Oliveira PG, Grespan R, Pinto LG, Meurer L, Brenol JC, Roesler R, et al. Protective effect of RC-3095, an antagonist of the gastrin-releasing peptide receptor, in experimental arthritis. *Arthritis Rheum*. 2011;63(10):2956-65.
27. Douni E, Armaka M, Kontoyiannis DL, Kollias G. Functional genetic and genomic analysis of modeled arthritis. *Adv Exp Med Biol*. 2007;602:33-42.
28. Rioja I, Bush KA, Buckton JB, Dickson MC, Life PF. Joint cytokine quantification in two rodent arthritis models: kinetics of expression, correlation of mRNA and protein levels and response to prednisolone treatment. *Clin Exp Immunol*. 2004;137(1):65-73.
29. Torres R, Macdonald L, Croll SD, Reinhardt J, Dore A, Stevens S, et al. Hyperalgesia, synovitis and multiple biomarkers of inflammation are suppressed by interleukin 1 inhibition in a novel animal model of gouty arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2009;68(10):1602-8.
30. Duarte J, Agua-Doce A, Oliveira VG, Fonseca JE, Graca L. Modulation of IL-17 and Foxp3 expression in the prevention of autoimmune arthritis in mice. *PLoS One*. 2010;5(5):E10558.
31. Wipke BT, Allen PM. Essential role of neutrophils in the initiation and progression of a murine model of rheumatoid arthritis. *J Immunol*. 2001;167(3):1601-8.
32. Brenner M, Meng HC, Yartlett NC, Joe B, Griffiths MM, Remmers EF, et al. The non-MHC quantitative trait locus Cia5 contains three major arthritis genes that differentially regulate disease severity, pannus formation, and joint damage in collagen- and pristane-induced arthritis. *J Immunol*. 2005;174(12):7894-903.
33. Navarro F, Bacurau AVN, Almeida SS, Barros CC, Moraes MR, Pesquero JL, et al. Exercise prevents the effects of experimental arthritis on the metabolism and function of immune cells. *Cell Biochemistry and Function*. 2010;28(4):266-73.
34. Neuberger GB, Aaronson LS, Gajewski B, Embretson SE, Cagle PE, Loudon JK, et al. Predictors of exercise and effects of exercise on symptoms, function, aerobic fitness, and disease outcomes of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2007;57(6):943-52.
35. van den Berg MH, Rondoy HK, Peeters AJ, le Cessie S, van der Giesen FJ, Breedveld FC, et al. Using internet technology to deliver a home-based physical activity intervention for patients with rheumatoid arthritis: a randomized controlled trial. *Arthritis Rheum*. 2006;55(6):935-45.
36. Hartog A, Hulsman J, Garssen J. Locomotion and muscle mass measures in a murine model of collagen-induced arthritis. *Bmc Musculoskeletal Disorders*. 2009;10:59.
37. Okiura T, Nagatomo F, Gu N, Taguchi Y, Morimatsu F, Ishihara A. Bone density of the femur and fiber cross-sectional area and oxidative enzyme activity of the tibialis anterior muscle in type II collagen-induced arthritic mice. *J Physiol Sci*. 2008;58(4):221-7.
38. Matschke V, Murphy P, Lemmey AB, Maddison P, Thom JM. Skeletal muscle properties in rheumatoid arthritis patients. *Med Sci Sports Exerc*. 2010;42(12):2149-55.
39. Cooper WG, Konigsberg IR. Dynamics of myogenesis in vitro. *Anat Rec*. 1961;140:195-205.
40. Hawke TJ, Garry DJ. Myogenic satellite cells: physiology to molecular biology. *J Appl Physiol*. 2001;91(2):534-51.
41. Marcora SM, Lemmey AB, Maddison PJ. Can progressive resistance training reverse cachexia in patients with rheumatoid arthritis? Results of a pilot study. *J Rheumatol*. 2005;32(6):1031-9.
42. Lemmey AB, Marcora SM, Chester K, Wilson S, Casanova F, Maddison PJ. Effects of high-intensity resistance training in patients with rheumatoid arthritis: a randomized controlled trial. *Arthritis Rheum*. 2009;61(12):1726-34.
43. Petersen AM, Pedersen BK. The anti-inflammatory effect of exercise. *J Appl Physiol*. 2005;98(4):1154-62.
44. Pedersen BK, Fischer CP. Beneficial health effects of exercise--the role of IL-6 as a myokine. *Trends Pharmacol Sci*. 2007;28(4):152-6.
45. de Jong Z, Munneke M, Zwiderman AH, Kroon HM, Jansen A, Rondoy KH, et al. Is a long-term high-intensity exercise program effective and safe in patients with rheumatoid arthritis? Results of a randomized controlled trial. *Arthritis Rheum*. 2003;48(9):2415-24.

46. Lyngberg KK, Ramsing BU, Nawrocki A, Harreby M, Danneskiold-Samsøe B. Safe and effective isokinetic knee extension training in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 1994;37(5):623-8.
47. Carotti M, Salaffi F, Manganelli P, Salera D, Simonetti B, Grassi W. Power Doppler sonography in the assessment of synovial tissue of the knee joint in rheumatoid arthritis: a preliminary experience. *Ann Rheum Dis.* 2002;61(10):877-82.
48. Rannou F, François M, Corvol MT, Berenbaum F. Cartilage breakdown in rheumatoid arthritis. *Joint Bone Spine.* 2006;73(1):29-36.
49. Plasqui G. The role of physical activity in rheumatoid arthritis. *Physiology & Behavior.* 2008;94(2):270-5.
50. Galois L, Etienne S, Grossin L, Cournil C, Pinzano A, Netter P, et al. Moderate-impact exercise is associated with decreased severity of experimental osteoarthritis in rats. *Rheumatology (Oxford).* 2003;42(5):692-3.

Recebido: 12/06/2013

Aceito: 31/10/2013