

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ - CAMPUS DE CASCAVEL  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIAS E SAÚDE – MESTRADO

**MICHELE GOSSLER**

**EFEITOS DO EXERCÍCIO RESISTIDO NO PERFIL INFLAMATÓRIO E NA  
ARTICULAÇÃO TIBIOFEMORAL EM UM MODELO DE ARTRITE REUMATOIDE**

CASCAVEL-PR  
(Março/2024)

**MICHELE GOSSLER**

**EFEITOS DO EXERCÍCIO RESISTIDO NO PERFIL INFLAMATÓRIO E NA  
ARTICULAÇÃO TIBIOFEMORAL EM UM MODELO DE ARTRITE REUMATOIDE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biociências e Saúde – Mestrado, do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como requisito para obtenção de título de Mestre em Biociências e Saúde.

Área de concentração: Biologia, processo saúde doença e políticas de saúde.

Orientador: Professor Doutor Gladson Ricardo Flor Bertolini

Coorientadora: Professora Doutora Lucinéia de Fátima Chasko Ribeiro.

CASCADEL-PR

(Março/2024)

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

Gossler, Michele

Efeitos do exercício resistido no perfil inflamatório e na articulação tibiofemoral em um modelo de artrite reumatoide / Michele Gossler; orientador Gladson Ricardo Flor Bertolini; coorientadora Lucinéia de Fátima Chasko Ribeiro. -- Cascavel, 2024.

70 p.

Dissertação (Mestrado Acadêmico Campus de Cascavel) -- Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Programa de Pós-Graduação em BioCiências e Saúde, 2024.

1. Artrite experimental. 2. Exercício. 3. Avaliação funcional. 4. Avaliação histomorfométrica. I. Ricardo Flor Bertolini, Gladson, orient. II. de Fátima Chasko Ribeiro, Lucinéia, coorient. III. Título.

## RESUMO

A Artrite Reumatoide (AR) é uma doença inflamatória crônica, sistêmica, autoimune, que compromete principalmente o tecido sinovial em múltiplas articulações, provocando dor, limitação funcional ou total imobilidade. Desta forma, é pertinente a busca por tratamentos que modulem o processo inflamatório e mantenham e/ou melhorem a funcionalidade do portador. O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos do exercício resistido no perfil inflamatório e na morfologia da articulação tibiofemoral e do linfonodo poplíteo de ratos *Wistar* com AR experimental. A amostra foi composta por 32 ratos machos, com idade média de 14 semanas, separados em quatro grupos (n= 8 animais): Grupo Controle (GC), Grupo Artrite Reumatoide (GAR), Grupo Exercício (GEX), e Grupo Exercício e Artrite Reumatoide (GEXAR). Os animais submetidos à AR experimental, receberam duas aplicações de Adjuvante Completo de *Freund* (CFA). Os animais foram avaliados em cinco momentos quanto ao edema, incapacidade articular, força muscular e limiar nociceptivo. Após constatada a indução da AR, os animais do GEXAR foram tratados por exercício resistido, de subida em escada, submetidos a 3 séries de 8 subidas, com carga de 25%, 35% e 50% do peso do animal, com intervalo de 2 minutos entre cada série. Decorrido o tempo de tratamento, os animais foram eutanasiados. Em seguida, houve coleta do líquido sinovial, linfonodo poplíteo e articulação tibiofemoral direita para, na sequência, serem processados para análise histomorfológica. Os dados foram analisados utilizando teste de modelos lineares generalizados com pós-teste de *LSD*, considerando significância de  $p < 0,05$ . Os GAR e GEXAR apresentaram aumento no diâmetro da articulação tibiofemoral, indicando a formação de edema e o desenvolvimento da AR. No entanto, o GEXAR apresentou melhora do edema sugerindo efeito anti-inflamatório do tratamento. Os GAR e GEXAR também apresentaram maior sensibilidade e perda da força, bem como diminuição da capacidade articular nas avaliações. Contudo, os animais do GEXAR tiveram uma recuperação mais rápida da força e, ao final do experimento, todos os grupos retornaram à força inicial. Nos dados morfométricos do linfonodo, houve diferença significativa no GC com menor área total em comparação aos demais grupos. Na contagem de células da medula do órgão, o GEXAR apresentou semelhança aos GAR e GEX, com maior tendência de linfócitos e plasmócitos no cordão medular, e de macrófagos e células reticulares no seio medular, quando comparados ao GC. Nos dados morfométricos da articulação tibiofemoral, o GEX apresentou menor espessura da cartilagem, e o GAR apresentou maior número de condrócitos. Nas análises morfológicas, os linfonodos apresentaram normalidade anatômica característica, porém com tamanho maior nos GAR, GEX e GEXAR, além de cordões medulares mais celularizados que os seios. Nas articulações tibiofemorais, as membranas sinoviais do GAR e GEXAR apresentaram características clássicas de sinovite. No GAR observou-se alterações morfológicas no fêmur e na tíbia, já o GEXAR, com cartilagem dentro dos padrões normais, semelhante ao GC, apresentando apenas invaginação do osso subcondral. Em conclusão, a AR causou alterações nas articulações tibiofemorais e linfonodos poplíteos, aumento do número de células de defesa devido ao processo inflamatório, além de, alterações funcionais. Contudo, o exercício resistido otimizou o processo de recuperação dos aspectos morfofuncionais da articulação tibiofemoral, modulando a resposta imune nos linfonodos poplíteos, e melhorando a funcionalidade motora, nociceptiva e articular.

**Palavras-chave:** artrite experimental; exercício; avaliação funcional; avaliação histomorfométrica.

## ABSTRACT

### **Effects of resistance exercise on the inflammatory profile and tibiofemoral joint in a model of rheumatoid arthritis**

Rheumatoid Arthritis (RA) is a chronic, systemic, autoimmune inflammatory disease, which mainly compromises the synovial tissue in multiple joints, causing pain, functional limitation or total immobility. Therefore, it is pertinent to research for treatments that modulate the inflammatory process and maintain and/or improve the patient's functionality. The objective of this study was to evaluate the effects of resistance exercise on the inflammatory profile and morphology of the tibiofemoral joint and popliteal lymph node in Wistar rats with experimental RA. The sample consisted of 32 male rats, with an average age of 14 weeks, separated into four groups (n= 8 animals): Control Group (CG), Rheumatoid Arthritis Group (RAG), Exercise Group (EXG), and Exercise and Rheumatoid Arthritis (EXRAG). The animals submitted to experimental RA received two applications of Complete Freund's Adjuvant (CFA). All animals were evaluated at five moments for edema and joint disability, muscle strength and nociceptive threshold. After the induction of RA was confirmed, the EXRAG animals were treated with resistance exercise, climbing stairs, undergoing 3 series of 8 climbs, with a load of 25%, 35% and 50% of the animal's weight, with an interval of 2 minutes between each series. After the treatment period, the animals were euthanized, the synovial fluid, popliteal lymph node and right tibiofemoral joint were collected, and processed for histomorphological analysis. The data were analyzed using the generalized linear model test with LSD post-test, considering significance at  $p < 0.05$ . The RAG and EXRAG showed an increase in the diameter of the tibiofemoral joint, indicating the formation of edema and the development of RA. However, EXRAG showed an improvement in edema, suggesting an anti-inflammatory effect of the treatment. The RAG and GEXAR also showed greater sensitivity and loss of strength, as well as decreased joint capacity in the evaluations. However, the EXRAG animals had a faster recovery of strength, and at the end of the experiment, all groups returned to their initial strength. In the morphometric data of the lymph node, there was a significant difference in the CG with a smaller total area when compared to the other groups. In the organ marrow cell count, EXRAG showed similarity to RAG and EXG, with a greater tendency of lymphocytes and plasma cells in the medullary cord, and macrophages and reticular cells in the medullary sinus, when compared to CG. In the morphometric data of the tibiofemoral joint, the EXG showed a smaller cartilage thickness, and the RAG showed a greater number of chondrocytes. In morphological analyses, the lymph nodes showed characteristic anatomical normality, but with a larger size in the RAG, EXG and EXRAG, in addition to medullary cords that were more cellularized than the breasts. In the tibiofemoral joints, the synovial membranes of the RAG and EXRAG showed classic characteristics of synovitis. In RAG, morphological changes were observed in the femur and tibia, while in EXRAG, with cartilage within normal standards, similar to CG, showing only invagination of the subchondral bone. In conclusion, RA caused changes in the tibiofemoral joints and popliteal lymph nodes, an increase in the number of defense cells due to the inflammatory process, in addition to functional changes. However, resistance exercise optimized the recovery process of the morphofunctional aspects of the tibiofemoral joint, modulating the immune

response in the popliteal lymph nodes, and improving motor, nociceptive and joint functionality.

**Keywords:** experimental arthritis; exercise; functional assessment; histomorphometric evaluation.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1</b>	Imagem ilustrativa da articulação do joelho .....	19
<b>Figura 2</b>	Representação esquemática da cápsula articular .....	22
<b>Figura 3</b>	Representação esquemática da membrana sinovial com suas diferentes células .....	23
<b>Figura 4</b>	Representação esquemática da estrutura do linfonodo e localização das células imunes .....	25
<b>Figura 5</b>	Esquematização dos grupos amostrais .....	33
<b>Figura 6</b>	Ilustração dos locais de aplicação das substâncias .....	34
<b>Figura 7</b>	Esquematização do exercício e das avaliações funcionais .....	36
<b>Figura 8</b>	Imagens das avaliações funcionais .....	38
<b>Figura 9</b>	Ilustração esquemática do protocolo de subida em escadas .....	39
<b>Figura 10</b>	Figura ilustrativa da morfometria da cartilagem articular .....	42
<b>Figura 11</b>	Imagem ilustrativa da eficácia da indução da AR .....	44
<b>Figura 12</b>	Fotomicrografias do linfonodo poplíteo direito de ratos <i>Wistar</i> .....	47
<b>Figura 13</b>	Fotomicrografias do joelho direito de ratos <i>Wistar</i> .....	50



## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b>	Índice artrítico .....	35
<b>Tabela 2</b>	Pontuação de avaliação morfológica da membrana sinovial e superfície da cartilagem articular do joelho direito dos ratos <i>Wistar</i> .	43
<b>Tabela 3</b>	Dados do tempo de elevação da pata .....	45
<b>Tabela 4</b>	Dados da força de preensão .....	45
<b>Tabela 5</b>	Dados do limiar nociceptivo .....	46
<b>Tabela 6</b>	Dados histomorfométricos da área total do linfonodo, porcentagem de área medular e cortical do linfonodo .....	47
<b>Tabela 7</b>	Dados histomorfométricos do número de linfócitos e plasmócitos do cordão medular, e do número de linfócitos, macrófagos e células reticulares do seio medular do linfonodo .....	48
<b>Tabela 8</b>	Dados histomorfométricos da contagem total de leucócitos do lavado sinovial do joelho direito .....	48
<b>Tabela 9</b>	Dados da avaliação semiquantitativa morfológica da membrana sinovial e superfície da cartilagem articular do joelho direito dos ratos <i>Wistar</i> .....	49
<b>Tabela 10</b>	Dados das análises histomorfométricas do fêmur .....	49
<b>Tabela 11</b>	Dados das análises histomorfométricas do tíbia .....	49

## LISTA DE ABREVIATURAS

AB	Avaliação Basal
ACPA	Anticorpos anti-proteína citrulinada
ACR	<i>American College of Rheumatology</i>
AINE	Anti-inflamatórios não-esteroidais
AR	Artrite reumatoide
AV1	Primeira avaliação
AV2	Segunda avaliação
AV3	Terceira avaliação
AV4	Quarta avaliação
CFA	Adjuvante Completo de <i>Freund</i>
CEUA	Comitê de Ética do Uso de Animais
DMARD	Drogas modificadoras do curso da doença
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
EULAR	<i>European League Against Rheumatism</i>
FR	Fator reumatoide
GAR	Grupo Artrite
GC	Grupo Controle
GEX	Grupo Exercício
GEXAR	Grupo Exercício e Artrite
IGF-I	Fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1
IL	Interleucina
IL-1	Interleucina-1
IL-6	Interleucina-6
IL-17	Interleucina-17
ILC	Células linfoides inatas
iNOS	Sintase de óxido nítrico indutível
LABEF	Laboratório de Biologia Estrutural e Funcional
LB	Linfócitos B
LT	Linfócitos T
LEC	Células endoteliais linfáticas

LELRF	Laboratório de Estudo de Lesões e Recursos Fisioterapêuticos
MCP1	Quimioatraente de monócitos proteína 1
MON	Mononucleares
NFk $\beta$	Fator de transcrição nuclear $\beta$
OSM	Oncostatina M
PMN	Polimorfonucleares
TCA	Ácido tricloroacético
TEP	Tempo de Elevação da Pata
TNF- $\alpha$	Fator de necrose tumoral- $\alpha$
UNIOESTE	Universidade Estadual do Oeste do Paraná

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>13</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>16</b>
<b>2.1</b>	<b>Objetivo geral .....</b>	<b>16</b>
<b>2.2</b>	<b>Objetivos específicos .....</b>	<b>16</b>
<b>3</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>17</b>
<b>3.1</b>	<b>Artrite reumatoide .....</b>	<b>17</b>
<b>3.2</b>	<b>Mecanismos fisiopatológicos da atuação da artrite reumatoide ...</b>	<b>19</b>
<b>3.3</b>	<b>Articulações sinoviais e a artrite reumatoide .....</b>	<b>21</b>
<b>3.4</b>	<b>Sistema linfático e a artrite reumatoide .....</b>	<b>24</b>
<b>3.5</b>	<b>Tratamento para artrite reumatoide .....</b>	<b>27</b>
3.5.1	Tratamento farmacológico .....	27
3.5.2	Tratamento não farmacológico .....	29
3.5.2.1	<i>Exercício físico</i> .....	30
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>33</b>
<b>4.1</b>	<b>Tipo e local de estudo .....</b>	<b>33</b>
<b>4.2</b>	<b>Animais e grupos experimentais .....</b>	<b>33</b>
<b>4.3</b>	<b>Modelo experimental da indução da artrite reumatoide .....</b>	<b>34</b>
<b>4.4</b>	<b>Eficácia da indução da artrite reumatoide .....</b>	<b>35</b>
<b>4.5</b>	<b>Avaliações funcionais .....</b>	<b>36</b>
4.5.1	Avaliação da incapacidade articular .....	37
4.5.2	Avaliação da força muscular .....	37
4.5.3	Avaliação da nocicepção .....	37
<b>4.6</b>	<b>Protocolo de tratamento: exercício resistido de subida em escadas .....</b>	<b>39</b>
<b>4.7</b>	<b>Eutanásia .....</b>	<b>40</b>
<b>4.8</b>	<b>Coleta de líquido sinovial para contagem de leucócitos .....</b>	<b>40</b>
<b>4.9</b>	<b>Processamento e análise histológica de linfonodos poplíteos .....</b>	<b>40</b>
<b>4.10</b>	<b>Processamento e análise histológica da articulação tibiofemoral</b>	<b>41</b>
<b>4.11</b>	<b>Análises estatísticas .....</b>	<b>43</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>44</b>

<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO .....</b>	<b>52</b>
<b>7</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>58</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>59</b>
	<b>ANEXOS .....</b>	<b>69</b>
	Anexo I – Aprovação do Comitê de Ética do Uso de Animais (CEUA) da UNIOESTE .....	69

## 1 INTRODUÇÃO

A artrite reumatoide (AR) é uma doença inflamatória crônica, sistêmica, autoimune que compromete principalmente o tecido sinovial, em múltiplas articulações (Smolen *et al.*, 2018). Com maior decorrência em indivíduos a partir da quarta década de vida e duas a três vezes mais frequente em mulheres (Aletaha; Smolen, 2018), com destaque para idades superiores aos 65 anos e sua relação com fatores hormonais (Scott; Wolfe; Huizinga, 2010), ela afeta aproximadamente cinco a cada 1000 adultos.

Embora a causa exata da AR seja desconhecida, o início da doença parece resultar de interação entre suscetibilidade genética e fatores ambientais (Li *et al.*, 2010; McInnes; Schett, 2011; Sparks, 2019), devido a sua característica autoimune pela forte relação entre células e mediadores do sistema imunológico inato e adaptativo (Petrelli *et al.*, 2022).

As manifestações clínicas variam de acordo com suas características sistêmicas, que afetam vários órgãos, mas principalmente em articulações sinoviais, estruturas ósseas, musculares e tendíneas (Aletaha; Smolen, 2018; Ostrowska *et al.*, 2018). A integridade biomecânica da articulação e dos tecidos periarticulares é comprometida quando a sinovite persistente, causando edema e reduzindo a mobilidade articular.

Além disso, a AR é bilateral e simétrica. Isso resulta em deformidades, instabilidade e destruição articular progressiva, provocando dor e limitação funcional ou total imobilidade (Combe, 2009; Maranini *et al.*, 2022; McWilliams; Walsh, 2017).

A AR é uma das principais causas de incapacidade em adultos, principalmente devido a imobilidade, que gera impactos significantes na qualidade de vida das pessoas afetadas (Mingo *et al.*, 2014). A maioria dos pacientes com AR tem redução da atividade física e desequilíbrio do funcionamento físico; eles também apresentam condição conhecida como “caquexia reumatoide”, que reduz a produtividade no trabalho (Aletaha; Smolen, 2018), o que resulta em complicações clínicas e psicossociais contemporâneas (Margaretten *et al.*, 2011). Além disso, a extrema inatividade física desses pacientes cria um círculo vicioso em termos de saúde e progressão da doença (Cooney *et al.*, 2011).

Comorbidades, como distúrbios cardiovasculares (Semb *et al.*, 2020), pulmonares (Lucchino *et al.*, 2019), gastrointestinais (McInnes; Schett, 2017),

oncológicos e psiquiátricos (Gibofsky, 2014), acompanham as manifestações da AR. Esse último é responsável pelas altas taxas de depressão, transtornos de humor e ansiedade (Katz *et al.*, 2016; Mingo *et al.*, 2014).

O tratamento da AR, geralmente, é iniciador na fase aguda, com objetivo da remissão da doença, reduzindo os sinais da inflamação e priorizando a funcionalidade do indivíduo com abordagens mais conservadoras possíveis (Smolen *et al.*, 2018; Steinz; Santos-Alves; Lanner, 2020).

Na prática clínica, anti-inflamatórios não-esteroidais (AINE), corticosteroides, drogas modificadoras do curso da doença (DMARD) sintéticas e biológicas e drogas imunossupressoras (Pope, 2020; Silvagni *et al.*, 2021; Smolen *et al.*, 2020) são exemplos de tratamentos padrões medicamentoso. No entanto, em alguns casos, o uso destas substâncias pode causar diversos efeitos adversos, além de grande toxicidade (Aletaha; Smolen, 2018; Mota *et al.*, 2012; Smolen *et al.*, 2020).

Devido ao fato de que os tratamentos farmacológicos podem ser a causa do surgimento de outras doenças ou não serem suficientes para reparar as alterações morfológicas relacionadas às doenças, alternativas terapêuticas, que apresentam menos efeitos colaterais ou que abrandam esses efeitos, têm sido abordadas (Burmester *et al.*, 2017; Combe, 2009; Leese *et al.*, 2022; McWilliams; Walsh, 2017; Mota *et al.*, 2012; Pope, 2020).

Para pacientes com artrite reumatoide (AR), a prática de exercícios físicos é alvo de estudos, considerada fundamental e benéfica na melhora da saúde cardiovascular, aptidão cardiorrespiratória, ganho de massa muscular, melhora da mobilidade articular, diminuição da gordura corporal, melhora da força e função física. Isso sem efeito prejudicial sobre a doença ou piora dos danos articulares (Cooney *et al.*, 2011; Lange *et al.*, 2019; Schnauffer *et al.*, 2022).

Além disso, o exercício físico tem sido utilizado em conjunto a outras terapias, ou ainda, como possibilidade de tratamento não farmacológico, principalmente por ser acessível e de baixo custo, visto que a não adesão à medicação afeta 13 a 29% dos pacientes idosos, principalmente devido aos custos elevados (HARROLD *et al.*, 2013). A adesão medicamentosa também pode ser influenciada por aspectos culturais, no que diz respeito a aceitabilidade (Putrik *et al.*, 2014).

Como as manifestações clínicas possuem características sistêmicas (Ostrowska *et al.*, 2018), se faz necessário estudar os tecidos afetados pela doença,

como por exemplo a articulação sinovial e o tecido linfoide que atua próximo das articulações, devido a importante participação nas respostas imunes.

Contudo, há poucos estudos relacionados à temática, e ainda há divergência na literatura acerca dos protocolos de exercícios utilizados para o tratamento da AR (Costa *et al.*, 2021; Furlanetto.Jr *et al.*, 2016; Neves *et al.*, 2020, 2022; Oliveira *et al.*, 2018; Retameiro *et al.*, 2023).

Dessa forma, a presente pesquisa investiga as repercussões do exercício físico resistido, em um modelo experimental de AR, quanto a aspectos funcionais, inflamatórios e histomorfométricos dos linfonodos poplíteos e da articulação tibiofemoral. A hipótese desse estudo é a de que o exercício aplicado após o início da AR pode melhorar a funcionalidade motora, nociceptiva e articular, otimizando o processo de recuperação dos aspectos morfofuncionais da articulação tibiofemoral.



## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Avaliar as repercussões do exercício resistido, de subida em escadas, em ratos *Wistar* com AR induzida, quanto a aspectos funcionais, inflamatórios e histomorfométricos dos linfonodos poplíteos e da articulação tibiofemoral.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Verificar o efeito do exercício resistido, de subida em escadas, relacionado aos parâmetros funcionais de capacidade articular, função motora, nocicepção e força muscular no tratamento de AR induzida por modelo experimental;
- Analisar a resposta inflamatória por meio do edema articular, descrição das alterações histomorfométricas dos linfonodos e migração leucocitária;
- Descrever as alterações histomorfométricas encontradas na articulação tibiofemoral de ratos *Wistar* acometidos por AR induzida e tratadas com exercício resistido.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 Artrite reumatoide

A AR é uma doença crônica, sistêmica, autoimune, e a forma mais comum de inflamação crônica das articulações comprometendo principalmente o tecido sinovial de forma progressiva, com danos articulares de longo prazo (Smolen *et al.*, 2018). Afeta aproximadamente 0,5 a 1% da população mundial, distribuída universalmente (Gibofsky, 2014), ou ainda, em outras palavras, acometendo 5 a cada 1000 adultos.

Ela ocorre em qualquer idade, contudo, é mais prevalente com a idade, sendo de 2 a 3 vezes maior em mulheres (Aletaha; Smolen, 2018), principalmente aquelas com mais de 65 anos e pode estar relacionada a fatores hormonais (Scott; Wolfe; Huizinga, 2010).

Existem vários fatores de risco que podem estar ligados ao desenvolvimento da AR, incluindo suscetibilidade genética, sexo feminino (a doença é três vezes mais comum que nos homens) e fatores ambientais, como agentes infecciosos, tabagismo, deficiência de vitamina D, exposição à poeira não orgânica (como sílica, amianto, fibras de vidro, cimento pulverizado), obesidade e alterações na microbiota, por sua característica autoimune pela forte relação entre células e mediadores do sistema imunológico inato e adaptativo (Petrelli *et al.*, 2022; Smolen *et al.*, 2018).

A doença é caracterizada por uma inflamação crônica das articulações, com níveis sistemicamente elevados de citocinas circulantes, como por exemplo: fator de necrose tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ); de algumas interleucinas (IL) (Clottu *et al.*, 2022; Malanotte *et al.*, 2017; Veale; Orr; Fearon, 2017), quimioatraente de monócitos proteína 1 (MCP1), oncostatina M (OSM); autoanticorpos para imunoglobulina G, ou seja, fator reumatoide (FR); e autoanticorpos contra proteínas citrulinadas, isto é, anticorpos anti-proteína citrulinada (ACPAs) (Steinz; Santos-Alves; Lanner, 2020).

A expressão de citocinas pró inflamatórias como de IL-1 e IL-6, TNF $\alpha$  e do fator de transcrição nuclear  $\beta$  (NF $\kappa$   $\beta$ ) aumentam (Clottu *et al.*, 2022; Malanotte *et al.*, 2017; McInnes; Schett, 2011; Veale; Orr; Fearon, 2017) e ativam a síntese constitutiva da cascata inflamatória levando à deposição de imunocomplexos no interior da cápsula articular e o recrutamento de células inflamatórias, como: mastócitos, células dendríticas, fibroblastos, células T e B, neutrófilos, macrófagos, osteoclastos e células plasmáticas, que leva à desregulação do equilíbrio entre a formação e degradação da

cartilagem e da matriz óssea dentro da articulação, e subsequente formação do *pannus*, uma das principais características da AR (Li *et al.*, 2010; McInnes; Schett, 2011; Smolen; Aletaha; McInnes, 2016).

A doença possui episódios de exacerbações e remissões, mas mesmo quando a AR está em uma fase inativa, o nível de citocinas segue em desequilíbrio quando comparado com pacientes que não possuem AR (Cooney *et al.*, 2011).

Caracterizada por processos inflamatórios desregulados e particularidades sistêmicas, as manifestações clínicas variam de poliartralgia intermitente, evoluindo para inflamação bilateral e simétrica de articulações sinoviais que, conseqüentemente, levam à destruição de estruturas ósseas, musculares e tendíneas (Aletaha; Smolen, 2018; Ostrowska *et al.*, 2018), incluindo a articulação tibiofemoral, principal articulação do membro inferior do corpo humano e dos membros pélvicos de outros mamíferos.

Consiste na extremidade distal do fêmur e proximal da tibia, possibilitando movimentos de flexão e extensão, permitindo a marcha sendo de extrema importância para a movimentação e realização das atividades diárias (Chokhandre *et al.*, 2015; Smith *et al.*, 2008).

Dor, cansaço, limitação funcional ou total imobilidade são as principais causas de incapacidade entre adultos. Isso ocorre quando o desenvolvimento de sinovite persistente, com edema e mobilidade articular reduzida, comprometendo a integridade biomecânica da articulação e tecidos periarticulares, levando a deformidades, instabilidade e destruição articular progressiva (Combe, 2009; Maranini *et al.*, 2022; McWilliams; Walsh, 2017), gerando impactos significantes na qualidade de vida da pessoa afetada (Mingo *et al.*, 2014).

A maioria dos pacientes com AR apresenta redução da atividade física e desequilíbrio do funcionamento físico, bem como perda acelerada de massa muscular, condição conhecida como “caquexia reumatoide”. Desenvolvem, também, interferência na produtividade no trabalho (Aletaha; Smolen, 2018), complicações clínicas e psicossociais contemporâneas (Margaretten *et al.*, 2011) e, ainda, extrema inatividade, que torna-se círculo vicioso em termos de saúde e progressão da doença (Cooney *et al.*, 2011).

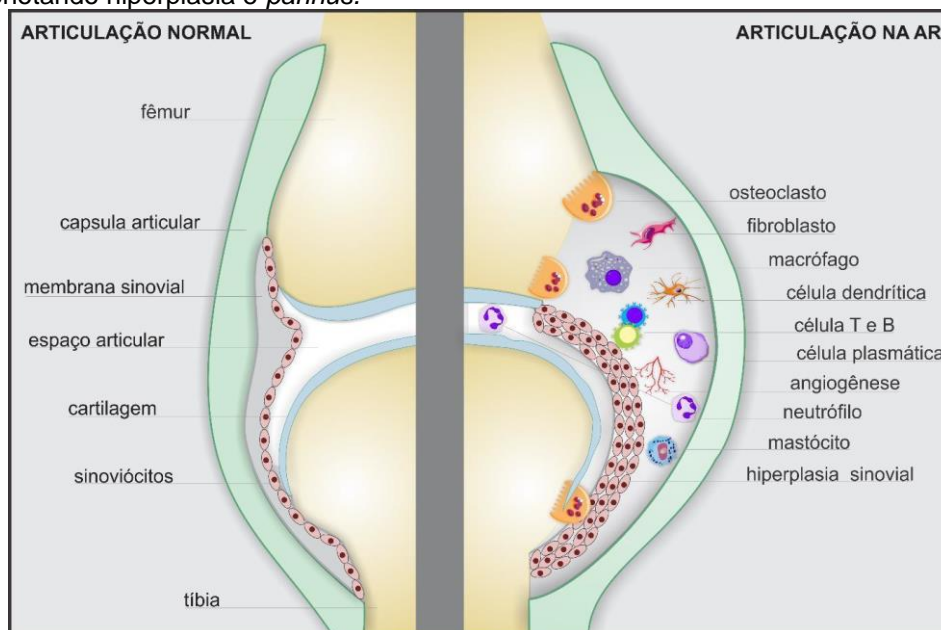
Comorbidades, como distúrbios cardiovasculares como aterosclerose, AVC, insuficiência cardíaca e fibrilação atrial (Semb *et al.*, 2020); distúrbios pulmonares como embolia pulmonar ou exposição a vários fatores externos, como tabagismo, exposição a sílica ou outras poeiras inorgânicas (Lucchino *et al.*, 2019); distúrbios

gastrointestinais como desregulação imunológica (McInnes; Schettler et al., 2019) são manifestações comumente relacionadas à artrite reumatoide.

### 3.2 Mecanismos fisiopatológicos da atuação da artrite reumatoide

A ativação das células endoteliais causa neovascularização e infiltração da membrana sinovial poliarticular de células T, células B e monócitos. Comumente chamada de “pannus”, a expansão de células sinoviais semelhantes a fibroblastos e a macrófagos resulta em um revestimento sinovial hiperplásico, ou seja, uma sinóvia dilatada, que invade o osso periarticular resultando em erosões ósseas e degradação da cartilagem (Figura 1) (Aletaha; Smolen, 2018; McInnes; Schett, 2011).

**Figura 1** – Imagem ilustrativa da articulação do joelho. No lado esquerdo da figura, ilustração da articulação do joelho normal com capsula articular íntegra, membrana sinovial sem espessamento e cavidade articular limpa. No lado direito da figura, ilustração, uma articulação acometida pela AR, com aumento do líquido intracavitário, presença de células inflamatórias, espessamento da membrana sinovial denotando hiperplasia e *pannus*.



Fonte: Neves *et al.*, 2020.

Citocinas pró-inflamatórias (IL-1 e 6, TNF $\alpha$  e NF $\kappa$   $\beta$ ) induzem moléculas como prostaglandinas e metaloproteinases de matriz que medeiam sinais e sintomas da doença, incluindo dor, edema e degradação de cartilagem e osso (Aletaha; Smolen, 2018).

Devido à ativação da cascata inflamatória, que resulta na deposição de imunocomplexos no interior da capsula articular a ne atração de células inflamatórias, esses eventos moleculares e celulares causam os sintomas clínicos da doença. Isso

causa danos à matriz óssea pela produção de osteoclastos dentro da membrana sinovial, e desequilíbrio na síntese e degradação da cartilagem, intimamente ligada ao edema articular (Li *et al.*, 2010; McInnes; Schett, 2011; Smolen; Aletaha; McInnes, 2016).

A medula óssea produz neutrófilos e leucócitos. A infiltração de leucócitos no compartimento sinovial, geralmente pouco povoado, reflete na inflamação da membrana sinovial causada pela ativação imune, resultante do edema articular em indivíduos com AR.

Os leucócitos migram para a articulação, pela influência das citocinas produzidas por monócitos/macrófagos, sinoviócitos semelhantes a fibroblastos e neutrófilos, onde liberam quimiocinas que atraem os linfócitos Th17.

Os monócitos/macrófagos se acumulam na sinóvia e, após ativação por imunocomplexos do peptídeo citrulinados e seu anticorpo específico (anticorpo anti-peptídeo citrulinado), liberam vários mediadores inflamatórios como histamina e triptase, para proteger as células adjacentes da apoptose e são uma rica fonte de Interleucina-17 (IL-17) (McInnes; Schett, 2011; Sudoł-Szopińska *et al.*, 2012).

As células dendríticas surgem na medula óssea e migram imaturamente para o sangue para a maioria dos tecidos, onde reconhecem microrganismos patogênicos e secretam citocinas que ativam células imunes inatas. Assim, essas células atingem os órgãos linfáticos periféricos, ativam os linfócitos T e B em sua forma madura, apresentando-lhes antígenos. Ao agregar-se na sinóvia e produzir tecido linfoide ectópico em pacientes com artrite reumatoide, as células dendríticas maduras iniciam e direcionam a resposta imune adaptativa (Sudoł-Szopińska *et al.*, 2012).

As células imunes inatas, como plasmoblastos e plasmócitos, fazem parte da composição celular da sinovite na AR, gerando resposta tecidual importante que promove destruição articular. Isso se deve a fibroblastos sinoviais que assumem um fenótipo inflamatório agressivo e invasivo, juntamente com catabolismo de condrocitos e integração dos precursores hematopoiéticos dos osteoclastos com as células do estroma da medula óssea (McInnes; Schett, 2011; Smolen; Aletaha; McInnes, 2016; Smolen *et al.*, 2007).

O agravamento da resposta inflamatória se deve às citocinas e quimiocinas, que ativam as células endoteliais e atraem células imunes se aglomerando no compartimento sinovial. Assim, osteoclastos são produzidos por monócitos e macrófagos, bem como pelo acúmulo e ativação de células T, B e por fibroblastos.

Como resultado, a cartilagem sofre danos por efeitos catabólitos nos condrócitos, ocorrem erosões ósseas entre a cartilagem, inserção da membrana sinovial e osso, e a degradação da matriz da cartilagem por metaloproteinases de matriz e outras enzimas (Lee; Weinblatt, 2001; Ostrowska *et al.*, 2018; Smolen; Aletaha; McInnes, 2016).

A capacidade regenerativa da cartilagem articular é limitada. Os condrócitos são regulados de forma fisiológica pela formação e divisão da matriz, sob influência de citocinas sinoviais e intermediários de nitrogênio reativos, e a cartilagem perde gradualmente os condrócitos, sofrendo apoptose. Esses processos acabam por estreitar o espaço articular e espessamento da sinóvia, podendo causar danos irreversíveis à cápsula e cartilagem articular.

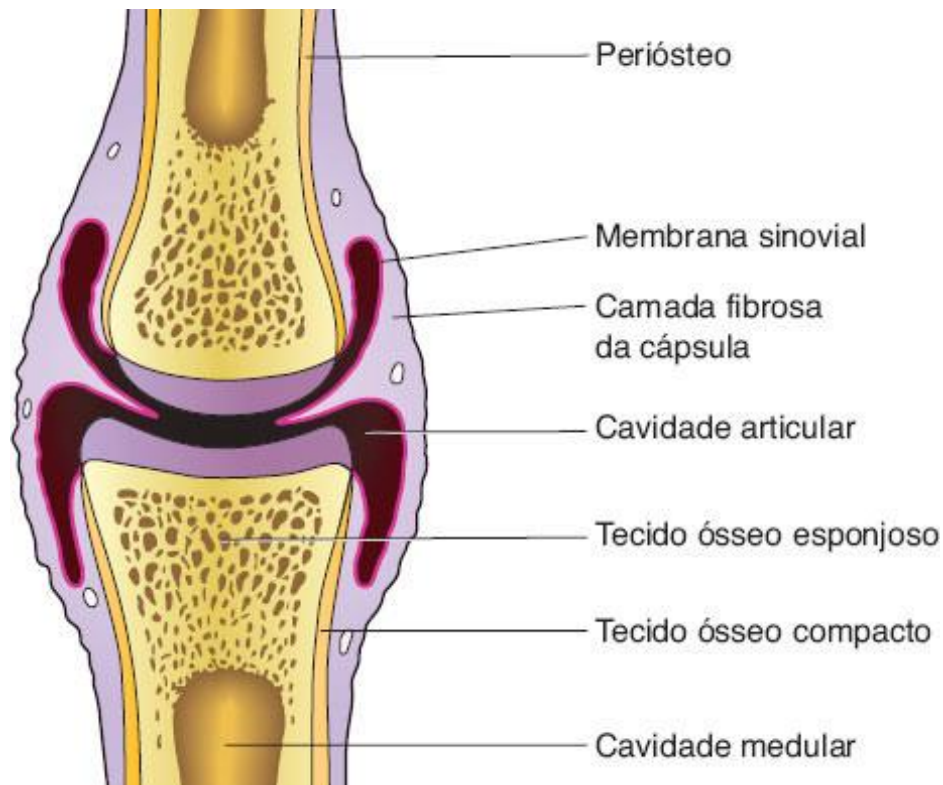
As articulações são imobilizadas como resultado do espessamento e endurecimento das estruturas, o que resulta em edema, mudanças no tecido articular e atrofia das estruturas adjacentes (pelo desuso), como músculos, tendões, nervos, vasos sanguíneos, ossos e pele (Firestein, 2003; Smolen *et al.*, 2018) .

### **3.3 Articulações sinoviais e a artrite reumatoide**

A articulação sinovial saudável é composta por vários tecidos como: cápsula articular, membrana sinovial, líquido sinovial, cartilagem articular e elementos anexos associados, como os ligamentos capsulares. A cápsula articular liga as extremidades ósseas e delimita a cavidade articular. A estrutura da parede varia de acordo com o local da articulação, mas a maioria possui duas camadas: camada fibrosa (externa) e camada ou membrana sinovial (interna) (Figura 2).

O líquido sinovial, uma mistura de plasma sanguíneo com alto teor de ácido hialurônico produzido pelos sinoviócitos para o interior do espaço sinovial da articulação, está presente nesta cavidade articular. Ele é incolor, ou de aspecto claro, pálido-amarelado, transparente e viscoso (Hui *et al.*, 2012; Junqueira; Carneiro, 2018).

**Figura 2** - Representação esquemática da capsula articular, formada pela camada fibrosa externa e membrana sinovial, que reveste a cavidade articular.



Fonte: Junqueira; Carneiro, 2018.

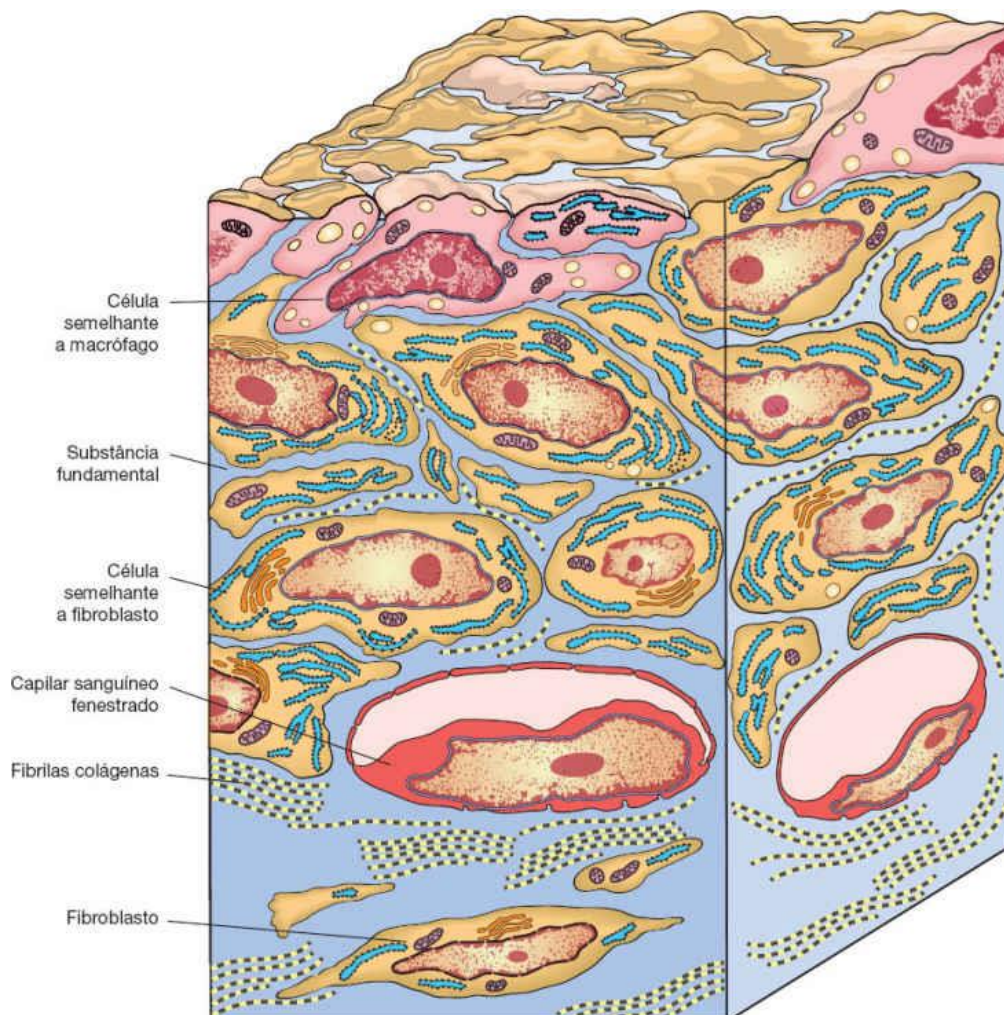
De forma macroscópica, a membrana sinovial, ou sinóvia, é uma camada fina de tecido conjuntivo que reveste a superfície interna das cápsulas articulares, bainhas dos tendões e bursas. Ela ajuda a nutrir a cartilagem articular avascular, reduzindo o atrito articular durante o movimento e produzindo fluido articular rico em ácido hialurônico.

A sinóvia secreta um fluido rico em glicoproteínas, que serve para lubrificar a cavidade articular e nutrir a cartilagem, e é composta por duas camadas: a camada de revestimento (íntima) e a camada de sub-revestimento (subíntima) (Ostrowska *et al.*, 2018; Sudoł-Szopińska *et al.*, 2012).

A camada íntima é mais superficial e é composta por proteínas da matriz extracelular e sinoviócitos. Esse último compreende dois tipos de células: sinoviócitos semelhantes a macrófagos (tipo A), células normalmente circulares e localizadas na parte superior da íntima, imunorreativas a vários anticorpos monoclonais contra macrófagos ou substâncias derivadas destes e estão em menor quantidade; e sinoviócitos semelhantes a fibroblastos (tipo B), em maior quantidade (Figura 3). Esses contêm de 1 a 3 camadas de células e não apresentam membrana basal, facilitando o fluxo de fluido articular entre os vasos da subíntima e o espaço articular.

Ambos os tipos de sinoviócitos são responsáveis por processos inflamatórios e destrutivos nas articulações, como citocinas pró-inflamatórias, quimiocinas e enzimas que degradam todos os componentes do tecido conjuntivo, incluindo cartilagem e osso subcondral. A camada subíntima está localizada logo abaixo da camada íntima, composta por tecido conjuntivo frouxo embutida com rede de vasos sanguíneos e linfáticos, fibras nervosas (transmite propriocepção e dor ao sistema nervoso central) e vários tipos celulares, incluindo macrófagos, fibroblastos, mastócitos e linfócitos T (Ostrowska *et al.*, 2018; Sudot-Szopińska *et al.*, 2012; Veale; Orr; Fearon, 2017).

**Figura 3** - Representação esquemática da membrana sinovial com suas diferentes células.



Fonte: Junqueira; Carneiro, 2018.

A cartilagem é uma forma especializada de tecido conjuntivo com consistência rígida que cobre as superfícies distais dos ossos articulados a ela. Sua função é dar



suporte para tecidos moles absorvendo choques, facilitando o deslizamento dos ossos nas articulações e minimizando a concentração de força ao transmitir a carga de um osso para o outro dentre desta estrutura complexa (Hui *et al.*, 2012; Junqueira; Carneiro, 2018).

Por ser um local em constante movimento, a articulação é frequentemente exposta a pequenos traumas. A cartilagem articular e o osso adjacente precisam passar por constante remodelação, síntese e degradação para manter a homeostase normal na articulação sinovial, e vários fatores são importantes como a expressão normal da lubrificina protetora, secreção fibroblastos de metaloproteinases de matriz e regulação por citocinas, fatores de crescimento e suas vias de sinalização (Veale; Orr; Fearon, 2017).

As citocinas e fatores de crescimento são muito importantes na regulação da integridade das células sinoviais, e estão presentes na sinóvia e no líquido sinovial por filtração do plasma ou secreção por macrófagos, fibroblastos, condrócitos e tecidos conjuntivos. A cascata inflamatória ativa as principais vias de sinalização específica, envolvendo citocinas e outras moléculas pró-inflamatórias.

As enzimas que degradam a matriz, presentes nas articulações normais, também são importantes para a homeostase, mas estão mais presentes na AR. Os níveis e a atividade das proteinases degradantes da matriz alteram o equilíbrio entre anabolismo e catabolismo (Veale; Orr; Fearon, 2017).

### **3.4 Sistema linfático e a artrite reumatoide**

A manutenção do equilíbrio do sistema linfático e a vigilância das células imunes configuram as principais funções do sistema linfático. O fluido intersticial torna-se linfa quando entra nos capilares linfáticos (presentes na maioria dos tecidos, incluindo a sinóvia), momento em que as forças compressivas externas são maiores que a pressão do fluido intraluminal.

Essa linfa é deslocada da periferia, por meio de vasos linfáticos, para uma série de linfonodos de drenagem, que desembocam nos ductos finais, onde a linfa retorna para o sistema vascular pelas veias subclávias (Bouta *et al.*, 2018; Wiig; Swartz, 2012).

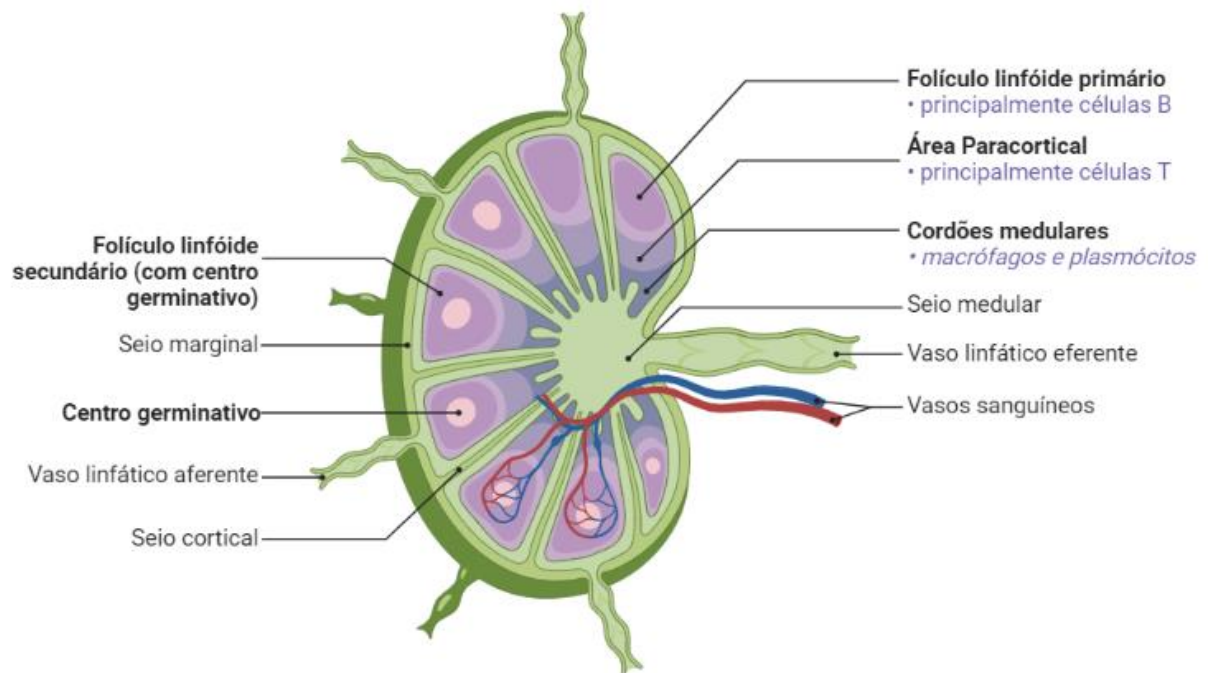
Os vasos linfáticos são revestidos por uma única camada de células endoteliais linfáticas (LEC), que apresenta junções em forma de botões especializados altamente

permeáveis a solutos e macromoléculas, que se ligam fisicamente à matriz extracelular por filamentos de ancoragem. As LEC se sobrepõem, criando válvulas que impedem o refluxo de fluido para o tecido que se conectam (Bouta *et al.*, 2018; Breslin, 2014).

O fluido move-se pelos vasos linfáticos até entrar em uma série de linfonodos, órgãos altamente organizados que funcionam como centros de encontro de células imunes (linfócitos e células portadoras de antígenos). As células dendríticas iniciam novas reações imunes nesses centros (Bouta *et al.*, 2018; Breslin, 2014; Ramwadhoebe *et al.*, 2019).

Estímulos antigênicos percorrem diretamente pela linfa ou são capturados por células apresentadoras de antígenos na periferia e transportados para o linfonodo (Bouta *et al.*, 2018). A linfa pré-nodal, ou vaso linfático aferente, contém uma grande quantidade de monócitos, macrófagos e células dendríticas, e o conteúdo celular da linfa muda completamente no linfonodo. A linfa sai dos linfonodos pelos linfáticos pós-nodais (vaso linfático eferente), onde a contagem de linfócitos é maior (Figura 4) (Breslin, 2014).

**Figura 4** - Representação esquemática da estrutura do linfonodo e localização das células imunes.



Fonte: Autora. Criado em BioRender.

Essas células imunes que percorrem adjacentes e/ou dentro dos vasos linfáticos têm a capacidade de alterar significativamente os vasos, liberando fatores que levam a linfangiogênese ou o crescimento de vasos linfáticos (Bouta *et al.*, 2017), isto é, uma resposta primária durante a inflamação, alterando suas funções, ou também, modificando sua estrutura (Bouta *et al.*, 2018; Rahimi *et al.*, 2016).

A interrupção desse processo causa uma variedade de doenças (Bouta *et al.*, 2018), coadjuvando, por exemplo, a progressão da AR nas articulações, devido às mudanças consideráveis nos linfonodos de drenagem (Bouta *et al.*, 2017; Li *et al.*, 2013). Isso se explica pela produção de autoanticorpos, iniciada e mantida em órgãos linfoides, considerando que a ativação do linfonodo precede um processo inflamatório do tecido sinovial, com quantidades diferentes de células B, subconjuntos de células T e subconjuntos de células linfoides inatas (ILC) de linfonodos de pacientes com risco de AR e AR em estágio inicial comparados com pacientes saudáveis (Clottu *et al.*, 2022; Hähnlein *et al.*, 2018; Karouzakis *et al.*, 2019; Rodríguez-Carrio *et al.*, 2017).

O excesso de líquido, células e macromoléculas produzidas nas articulações inflamadas são eliminadas do interstício pelo sistema linfático sinovial, movimentando o fluido através de uma série de contrações. O acúmulo de fluido durante a inflamação prolongada pode resultar em edema. Isso ocorre quando esses eventos contráteis deixam de acontecer por questões patológicas, como desequilíbrio de moléculas sinalizadoras da contração e relaxamento (Bell *et al.*, 2019).

A perda da função linfática pelas alterações patológicas nos vasos linfáticos durante o curso da doença é outro ponto relevante na correlação da AR com o sistema linfático.

É amplamente reconhecido que monócitos e macrófagos são produtores primários de mediadores inflamatórios, como TNF $\alpha$  e iNOS, e fatores catabólicos, como metaloproteases de matriz. Uma vez que macrófagos estacionários são ativados dentro dos vasos linfáticos, eles se aderem às células endoteliais linfáticas, permeabilizando o endotélio e promovendo apoptose das células musculares linfáticas. O declínio acentuado na função dos vasos linfáticos pode ser considerado mais um motivo para o colapso volumétrico do linfonodo de drenagem e induzir a exacerbação artrítica (Bell *et al.*, 2019; Bouta *et al.*, 2018).

Os distúrbios linfoproliferativos, condições caracterizadas pelo crescimento anormal de células do sistema linfático, é 2,0 a 5,5 vezes mais frequente em pacientes com AR, quando comparado com a população em geral. Isso pode ser explicado

devido a um estado imunológico hiperativo ou estado imunossuprimido causado pelo uso de agentes imunossupressores e drogas antirreumáticas (Yamada *et al.*, 2020).

### 3.5 Tratamento para artrite reumatoide

O entendimento dos mecanismos fisiopatológicos da AR melhorou nas últimas duas décadas com o desenvolvimento de medidas de resultados ideais, novas classes terapêuticas e a implementação de diferentes estratégias de tratamento e acompanhamento dos pacientes, incluindo o reconhecimento da importância do diagnóstico precoce, controle intensivo da doença e intervenção nos estágios iniciais dos sintomas (Aletaha; Smolen, 2018; Mota *et al.*, 2012).

O diagnóstico precoce associado ao tratamento adequado da AR pode evitar ou, ao menos, retardar significativamente a progressão do dano articular, prevenindo a incapacidade funcional e irreversível (Goeldner *et al.*, 2011). Isso é explicado por que o estágio inicial da doença, principalmente no primeiro ano (AR inicial), é considerado um momento em que uma intervenção farmacológica rápida e eficaz pode alterar o curso da doença a longo prazo. Esses fatores levam ao melhor controle clínico da doença, e potencial de remissão sustentada da AR (Aletaha *et al.*, 2010; Hifinger *et al.*, 2017).

Atualmente, o objetivo do tratamento da AR é a remissão da doença, uma definição determinada pela *European League Against Rheumatism* (EULAR) e pelo *American College of Rheumatology* (ACR) (Smolen *et al.*, 2018; Steinz; Santos-Alves; Lanner, 2020). O tratamento da AR consiste na adoção de diversas medidas, incluindo educação do paciente e da família, terapia medicamentosa, fisioterapia, apoio psicossocial, terapia ocupacional e abordagens cirúrgicas (Goeldner *et al.*, 2011; Mota *et al.*, 2012).

#### 3.5.1 Tratamento farmacológico

Na prática clínica, o tratamento padrão é medicamentoso incluindo AINE, corticosteroides, Drogas modificadoras do curso da doença (DMARD) sintéticas e biológicas e drogas imunossupressoras (Pope, 2020; Silvagni *et al.*, 2021; Smolen *et al.*, 2020).

As DMARD são medicamentos que interferem nos sinais e sintomas da AR,

melhorando a função e retardando a progressão do dano articular. São categorizados em agentes sintéticos e biológicos. As DMARD sintéticas consistem em micromoléculas químicas administradas via oral, que podem ser as convencionais, usadas há mais de 50 anos e com alvos moleculares ainda não identificados, ou direcionadas, desenvolvidas para interferir em uma molécula específica.

Sulfassalazina, leflunomida, antimaláricos, sais de ouro e metotrexato são as DMARD sintéticas convencionais mais conhecidas, sendo a última a mais importante. Quando os pacientes não respondem a dois ou mais DMARD sintéticas convencionais, é possível que a meta do tratamento não seja atingida. Na presença de marcadores de mau prognóstico (como a presença de autoanticorpos, dano articular precoce e alta atividade da doença), a recomendação é iniciar qualquer DMARD biológica ou uma DMARD sintética direcionada, além do metotrexato (Aletaha; Smolen, 2018; Mota *et al.*, 2012).

As DMARD biológicas são consideradas importante avanço na terapia da AR. São indicadas para os pacientes nos quais a doença permanece em atividade. As mais usadas são os anti-TNF (adalimumabe, certolizumabe, etanercepte, infliximabe e golimumabe), o depletor de linfócito B (rituximabe), o bloqueador da coestimulação do linfócito T (abatacepte), e o bloqueador do receptor de IL-6 (tocilizumabe) (Mota *et al.*, 2012; Pope, 2020).

Os AINE são usados a fim de minimizar o processo inflamatório e a dor, principalmente no início da doença, levando em conta que as DMARD não têm ação imediata. Esses medicamentos melhoram os sintomas, mas não previnem a progressão do dano e a incapacidade irreversível. Podem ser empregados como terapia adjuvante, de forma sintomática e, também, quando o controle completo da atividade em reagudizações da AR não é obtido (Aletaha; Smolen, 2018; Mota *et al.*, 2012).

Os glicocorticoides mais usados em pacientes com AR são prednisolona ou prednisona em doses baixas, com efeitos de melhora no processo inflamatório e da dor, geralmente indicados de forma associada às DMARD. Com evidências de vários mecanismos imunológicos mediando sinovite e outras manifestações articulares da doença, as drogas imunossupressoras são os medicamentos mais recomendados para tipos mais graves de artrite reumatoide. Possuem a capacidade de reduzir respostas celulares e propriedades anti-inflamatórias, podendo interferir na migração e ação de neutrófilos, linfócitos e monócitos (Mota *et al.*, 2012).

As alternativas para um tratamento eficaz da AR aumentaram com a introdução de potentes fármacos. No entanto, essas drogas apresentam eventos adversos que devem ser levados em consideração. O uso de AINE pode agravar condições clínicas como hipertensão arterial sistêmica, insuficiência cardíaca, insuficiência arterial, insuficiência renal, hepatopatia, distúrbios de coagulação e doenças gastrointestinais. Os corticosteroides também podem causar vários efeitos colaterais. Assim, seu uso deve ser restrito ao mínimo possível. As DMARD podem apresentar efeitos adversos como anemia, mucosite neutropenia, aumento de enzimas hepáticas, intolerância gastrointestinal, dentre outros, e as drogas imunossupressoras apresentam maior toxicidade (mielossupressão grave, maior ocorrência de infecções e de neoplasias, toxicidade vesical, esterilidade), estando restritas aos casos mais graves de AR (Aletaha; Smolen, 2018; Mota *et al.*, 2012; Smolen *et al.*, 2020).

Como a terapia medicamentosa pode levar ao aparecimento de outras doenças, piorar comorbidades que os pacientes já possuem, ou pode ser insuficiente em reparar alterações relacionadas à doença, outras opções de tratamento com menos efeitos colaterais ou atenuantes desses efeitos associados a outras práticas têm sido abordados (Burmester *et al.*, 2017; Combe, 2009; Leese *et al.*, 2022; McWilliams; Walsh, 2017; Mota *et al.*, 2012; Pope, 2020).

### 3.5.2 Tratamento não farmacológico

Além do tratamento farmacológico, abordagens simples e conservadoras são indicadas, principalmente de forma conjunta com a medicação, como fisioterapia e prática de exercício físico (Andonian *et al.*, 2018; Cooney *et al.*, 2011; Furlanetto.Jr *et al.*, 2016; Neves *et al.*, 2020; Rocha *et al.*, 2020; Schnaufer *et al.*, 2022; Sharif *et al.*, 2011; Swärdh; Brodin, 2016), terapia ocupacional e hidroterapia (Combe, 2009), intervenções psicológicas, tratamento com ervas, dieta mediterrânea, reflexologia (Cramp *et al.*, 2013), intervenções comportamentais (Zuidema *et al.*, 2019), suplementação com vitamina D (Soubrier *et al.*, 2018) ou de ácidos graxos ômega 3 (Proudman *et al.*, 2015), apoio social, esperança, otimismo e resiliência podem auxiliar pessoas diagnosticadas com AR (Xu *et al.*, 2017).

O tratamento cirúrgico pode melhorar a função, mobilidade, controle da dor e melhorar qualidade de vida, quando bem indicado. Cirurgias de substituição da

articulação, como a artroplastia, podem ser sugeridas em casos mais graves, com danos estruturais irreversíveis, a fim de diminuir a dor, aumentar ou retomar atividade física ou reduzir diretamente a sinovite.

Outros procedimentos cirúrgicos incluem sinovectomia, liberação de neuropatias compressivas, reparo e transferência de tendões e estabilização de vértebras cervicais instáveis (McWilliams; Walsh, 2017; Mota *et al.*, 2012).

### 3.5.2.1 *Exercício físico*

O exercício regular é um dos pilares do cuidado na AR e tem sido utilizado em associação com outras terapias, bem como possibilidade de tratamento não farmacológico (Swärdh; Brodin, 2016), por ser acessível e de baixo custo, considerando que 13% a 29% dos pacientes idosos não adere à medicação, principalmente devido aos altos custos (Harrold *et al.*, 2013).

A prática de atividade física em pacientes com AR tem sido alvo de novas pesquisas (Pope, 2020). Considera-se que a prática de exercícios físicos pode ser fundamental e benéfica na melhora da aptidão cardiovascular e cardiorrespiratória, aumento da massa muscular, melhora da mobilidade articular, diminuição da gordura corporal, melhora da força e desempenho físico e diminuição da fadiga e de efeitos deletérios do agravamento da doença ou dano articular (Cooney *et al.*, 2011; Cramp *et al.*, 2013; Lange *et al.*, 2019; Schnauffer *et al.*, 2022).

Devido ao impulso mecânico durante o movimento e a sustentação de peso, pacientes com AR acabam reduzindo seus níveis de atividade física, temendo que a prática possa causar dor e/ou exacerbar a atividade da doença inflamatória. No entanto, deixar de praticar atividade física, permanecendo em repouso, pode suprimir a atividade da AR para algumas pessoas e, além disso, aumentar os riscos de doenças como trombose venosa profunda e descondicionamento físico (McWilliams; Walsh, 2017).

Por outro lado, a prática de exercícios reduz a sensibilidade dolorosa, isto é, o processo de analgesia, bem como aumento da aptidão aeróbica, o que é benéfico para muitos pacientes (Meeus *et al.*, 2015).

Para isso, é necessário equilíbrio para facilitar a supressão da atividade da doença inflamatória e desencorajar o sedentarismo, ou descongestionamento físico,

orientando e estimulando os indivíduos à prática de atividades graduadas e ritmadas, encorajando o otimismo e práticas saudáveis (McWilliams; Walsh, 2017).

Doenças cardiovasculares podem ser responsáveis pelo aumento da morbidade e mortalidade nesses pacientes, considerando que o risco de infarto agudo do miocárdio é duas vezes maior em mulheres com AR, e eventos adversos cardiovasculares geralmente ocorrem uma década antes e de forma mais grave em pacientes com AR quando comparados a pessoas saudáveis. Isso pode ser explicado pelos fatores de risco não tradicionais que esses pacientes possuem, incluindo as características da AR, como alteração articular erosiva extensa e doença extra articular, ou ainda altos níveis de aterosclerose, supondo que a inflamação sistêmica contribui para as doenças cardiovasculares em pessoas com AR (Cooney *et al.*, 2011; Semb *et al.*, 2020).

Grande parte dos pacientes com AR também sofrem com o descondicionamento físico, favorecendo a perda acelerada de massa muscular, condição conhecida como “caquexia reumatoide”. Ela é caracterizada por peso corporal sem alterações, devido a diminuição da massa muscular, mascarada pelo aumento de massa gorda (Cooney *et al.*, 2011). Mais de 50% das pessoas com AR desenvolvem esse quadro, com perda de força e potência muscular e diminuição no nível de atividade física (Summers *et al.*, 2008).

A caquexia reumatoide afeta predominantemente as fibras do tipo II, mas ambos os tipos de fibras são suscetíveis à atrofia. Hipermetabolismo e degradação de proteínas induzidos por excesso de produção de citocinas pró-inflamatórias (principalmente TNF-  $\alpha$ ), má nutrição, redução da ação da insulina, alteração dos níveis musculares de fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-I) e de testosterona, altas doses de esteroides e baixos níveis de atividade física são as prováveis causas dessa condição, tornando-se um círculo vicioso em termos de saúde e progressão da doença (Cooney *et al.*, 2011; Sharif *et al.*, 2011).

Além da fraqueza muscular induzida pela artrite, explicada não só pela diminuição da massa muscular, mas também pelas alterações intramusculares, que podem ser fatores subjacentes à diminuição da capacidade de geração de força para esses indivíduos acometidos pela artrite, e da diminuição da massa muscular, o estilo de vida sedentário apresenta maior risco de menor densidade mineral óssea, resultando em alterações radiológicas incluindo perda óssea, com maior frequência em colo de fêmur, antebraço distal e quadril. A associação de exercícios de alta



intensidade, peso e impacto melhoram a densidade mineral óssea, tanto em indivíduos saudáveis, quanto para aqueles com AR (Cooney *et al.*, 2011; Steinz; Santos-Alves; Lanner, 2020).

Programas de exercícios aeróbicos e de resistência com orientação adequada e intensidade de moderada à alta melhoram a capacidade aeróbica, mobilidade articular, equilíbrio, resistência e força muscular em indivíduos com AR, sendo possível reverter a caquexia como consequência da restauração da massa muscular (Lange *et al.*, 2019; Swärdh; Brodin, 2016). Os efeitos hipertróficos e de fortalecimento de um treinamento de resistência de alta intensidade de pacientes com AR podem responder de forma semelhante ao de indivíduos saudáveis (Cooney *et al.*, 2011).

Quanto aos benefícios da mobilidade articular, pode-se dizer que o exercício físico é um dos principais instrumentos de manutenção articular, tanto de indivíduos saudáveis quanto daqueles com AR.

A prática de atividade física dinâmica promove o movimento articular, provocando estresse mecânico adequado que desempenha papel fundamental no metabolismo da cartilagem, estimulando as expressões de fatores de crescimento, angiogênese e produção de colágeno tipo II.

Contudo, a degradação e destruição da cartilagem pode aumentar com o excesso de estresse mecânico, aumentando a evolução da doença. A redução de carga ou diminuição do movimento articular, a exemplo do repouso, podem estar associados à atrofia e progressão da doença quanto a aspectos histológicos (Takahashi *et al.*, 2019; Zernicke *et al.*, 2016).

Sendo assim, a prática de exercício físico em pacientes com AR compreende uma tarefa cautelosa devido à instabilidade articular, processo inflamatório e quadro álgico, com protocolos de exercícios resistidos, estáticos e dinâmicos, parâmetros específicos e controlados, e atenção à frequência, duração e intensidade, voltados para a manutenção da integridade mecânica articular, fortalecimento e ganho muscular, permitindo melhora funcional (Lange *et al.*, 2019; Neves *et al.*, 2020; Takahashi *et al.*, 2019).

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Tipo e local de estudo

O presente estudo trata-se de uma pesquisa longitudinal, experimental e aleatorizada, com análise quantitativa, realizada no Laboratório de Estudo de Lesões e Recursos Fisioterapêuticos (LELRF) e no Laboratório de Biologia Estrutural e Funcional (LABEF), com aprovação do Comitê de Ética do Uso de Animais (CEUA) da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE) sob protocolo nº 13-22, aprovado em 05/08/2022 (Anexo I).

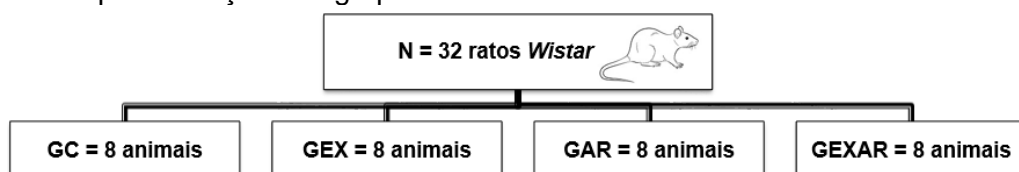
### 4.2 Animais e grupos experimentais

O grupo amostral foi composto por 32 ratos *Wistar*, com idade média de 14 semanas, obtidos no Biotério Central da UNIOESTE e mantidos no Laboratório de Estudo de Lesões e Recursos Fisioterapêuticos, agrupados em caixas plásticas de polipropileno, com acesso à água e ração *ad libitum*, temperatura controlada ( $24^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ) com fotoperíodo claro/escuro de 12 horas.

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em quatro grupos, com 8 animais em cada grupo (Figura 5):

- Grupo Controle (GC): animais que não foram induzidos à AR nem submetidos à intervenção (protocolo de exercício);
- Grupo Exercício (GEX): animais que foram submetidos ao protocolo de exercício, mas não foram induzidos à AR;
- Grupo Artrite Reumatoide (GAR): animais que foram induzidos à AR, mas não foram submetidos à intervenção; e
- Grupo Exercício e Artrite Reumatoide (GEXAR): animais que foram induzidos à AR e foram submetidos à intervenção.

**Figura 5** - Esquematização dos grupos amostrais.



### 4.3 Modelo experimental da indução da artrite reumatoide

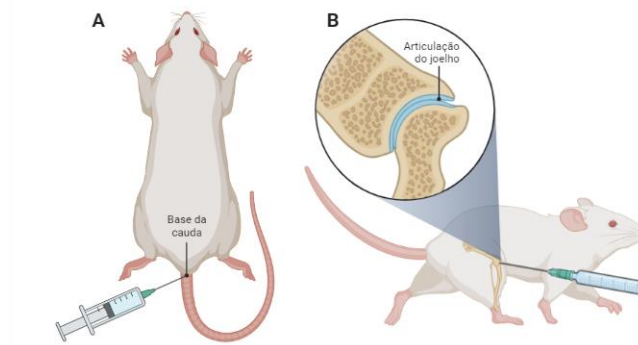
O procedimento para a indução da AR seguiu a descrição de Gomes *et al.* (2014) e ocorreu em dois momentos. Primeiramente, a realização de injeção intradérmica na base da cauda de 50 microlitros ( $\mu\text{L}$ ) do Adjuvante Completo de Freund - CFA (*Mycobacterium butyricum*, 0,5mg/ml, Difco®) nos grupos GAR e GEXAR foi necessária. Uma semana após a aplicação, foi realizado estímulo articular, injetando o CFA, como descrito acima.

Os grupos GC e GEX também receberam injeção intradérmica na base da cauda em dois momentos, da mesma forma, porém, utilizando solução salina (cloreto de sódio 0,9 %, Aster®). Esse processo foi realizado de forma cega, para que os avaliadores não soubessem quais eram os animais de cada grupo.

Para esses procedimentos, os animais foram imobilizados e posicionados em decúbito ventral, envolvidos em uma flanela no seu terço superior (pelo tempo necessário para o procedimento), com o terço inferior livre para aplicação da injeção intradérmica.

No primeiro estímulo, a área de administração da injeção foi tricotomizada e submetida à assepsia do sítio com álcool iodado (1%). Em seguida, os animais receberam a injeção através de seringa de 1mL e agulha 13 x 4.5mm, inserida a aproximadamente 1cm da base da cauda, de forma subcutânea (Figura 6A). O segundo estímulo ocorreu após 7 dias da primeira aplicação, utilizando o mesmo procedimento de imobilização, tricotomia e assepsia. Contudo, nesta etapa, o animal foi colocado em decúbito dorsal, com flexão da articulação tibiofemoral direita e a nova injeção, intra-articular, foi inserida perpendicularmente em cerca de  $\frac{1}{3}$  do comprimento da agulha na cavidade sinovial da articulação, observado o tendão infrapatelar (Figura 6B).

**Figura 6** - Ilustração dos locais de aplicação das substâncias. O primeiro estímulo foi aplicado na base da cauda (A), e o segundo estímulo aplicado na articulação tibiofemoral membro pélvico direito (B).



Fonte: Autora. Criado em BioRender.

#### 4.4 Eficácia da indução da artrite reumatoide

O diâmetro da articulação tibiofemoral direita (eixo médio-lateral) foi medido com um paquímetro manual imediatamente antes da indução da cauda (dia 1), 72 horas pós-indução na articulação tibiofemoral (dia 11), assim como nos dias 15, 19 e 23 pós indução da AR para monitorização da eficácia da indução artrítica.

Para isso, os animais foram gentilmente imobilizados em uma flanela para a realização da medida do diâmetro articular. Foram realizadas três medidas, com a utilização de média das três aferições (Figura 8C). Os animais receberam uma pontuação de 1 a 5, com base na gravidade da inflamação do joelho direito, por meio de uma escala adaptada de Joe *et al.* (1997) (Tabela 1).

Tabela 1 – Índice artrítico, utilizado como base para avaliação da gravidade da inflamação do joelho direito dos ratos Wistar.

Aumento da espessura do joelho (cm)	Pontuação artrítica
0.02 – 0.1	1
0.11 – 0.2	2
0.21 – 0.3	3
0.31 – 0.4	4
0.41 ou acima	5

Fonte: JOE *et al.* (1997).

Além disso, o efeito da inflamação articular foi observada e anotada pela assimetria dos diâmetros das articulações do joelho direito e esquerdo (Oh *et al.*, 2017).

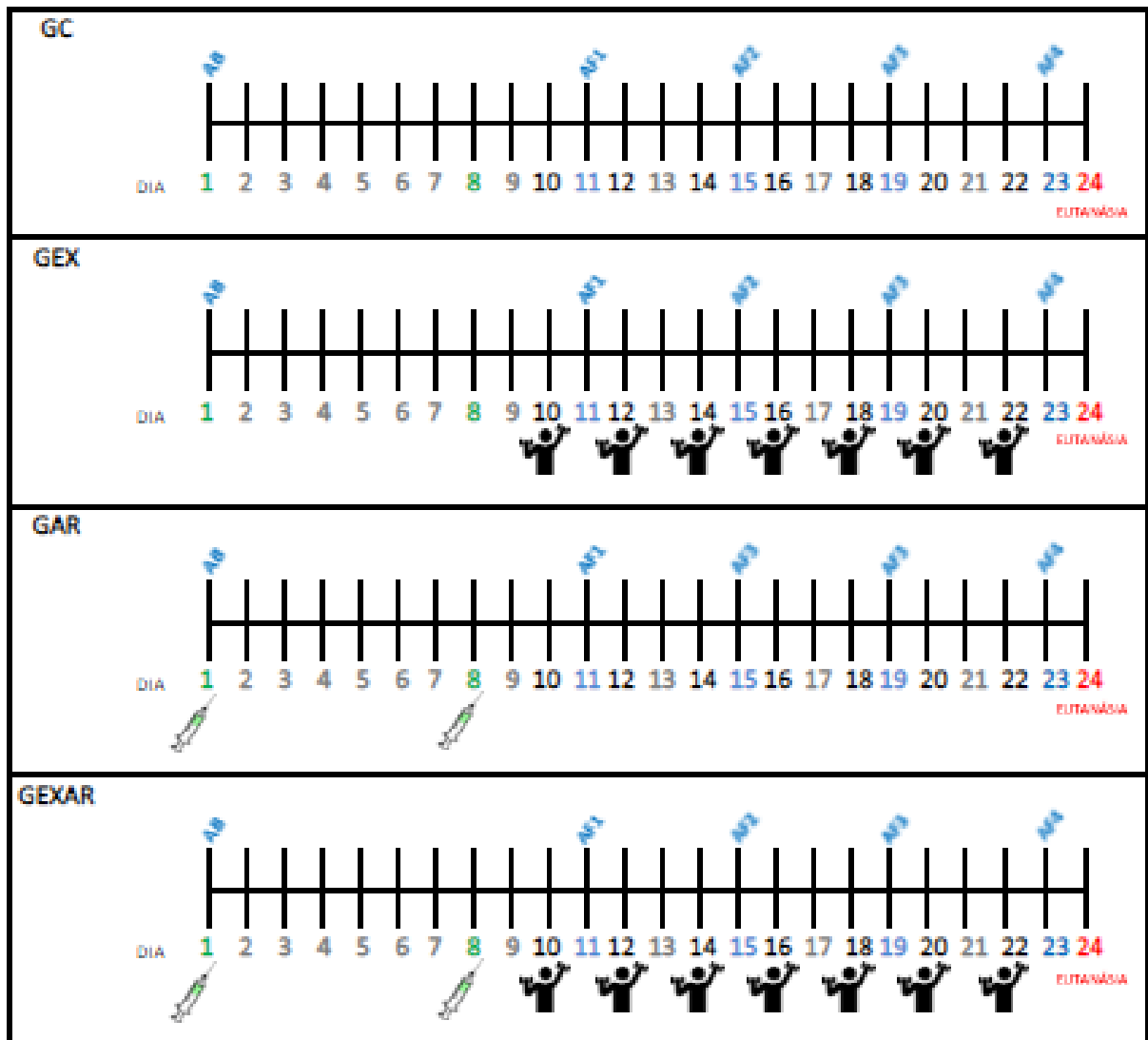
(1)

$$\% \text{ da assimetria pelo edema das articulações} = [ 1 - (\text{diâmetro do joelho direito} / \text{diâmetro do joelho esquerdo}) ] * 100$$

#### 4.5 Avaliações funcionais

Na primeira semana, todos os animais, de cada grupo foram adaptados aos equipamentos de avaliação funcional. Em seguida, foram submetidos a cinco momentos de avaliação, durante os 24 dias de experimento. A avaliação basal (AB) foi realizada no dia da primeira sensibilização na base da cauda (antes do procedimento), a primeira avaliação (AV1) foi realizada 72 horas após a injeção intra-articular, a segunda avaliação (AV2) e terceira avaliação (AV3) foram realizadas intercaladas entre os dias de exercício, e a quarta avaliação (AV4) foi realizada um dia antes da eutanásia (Figura 7).

**Figura 7** – Esquematização do exercício e das avaliações funcionais.



Fonte: autora.

#### 4.5.1 Avaliação da incapacidade articular

Foi seguido o protocolo descrito por Tonussi e Ferreira (1992) para avaliar o grau de incapacidade articular, utilizando um cilindro de 30 cm de altura e 30 cm de diâmetro, revestido por malha trançada de aço inox (2 mm). Os animais foram estimulados a deambular sobre esse cilindro, conectado a um motor que fazia três rotações por minuto, para registrar o estado funcional das articulações. Cada animal caminhou por um minuto sobre o cilindro.

O programa Rise-Step foi usado para registrar o tempo total que o membro sensibilizado permaneceu sem tocar a superfície do cilindro durante esse período de análise. Isso foi feito conectando sapatilhas metálicas em ambas as regiões plantares,

incluindo uma sapatilha no membro pélvico direito, a um computador. Este registro é chamado de Tempo de Elevação da Pata (TEP), em segundos.

O tempo de TEP em animais sem intervenção é de aproximadamente 10 segundos. Um aumento após a injeção intra-articular indica que a articulação está se tornando incapacitante (Tonussi; Ferreira, 1992).

#### 4.5.2 Avaliação da força muscular

Para avaliar a força muscular, foi utilizado um medidor de força de preensão (Insight®, Ribeirão Preto, São Paulo), adaptado do método descrito por Bertelli e Mira (1995). Essa avaliação é útil para analisar a recuperação da força e função muscular do membro avaliado.

Para tal, o animal foi posicionado de modo que agarre em uma grade conectada a um transdutor de força (Figura 8B), com o membro pélvico direito. Em seguida, tracionado pela cauda, com firmeza crescente, até perder a preensão, é momento no qual o aparelho fornece a força máxima exercida pelo animal.

Para evitar interferir na avaliação, a mão do avaliador imobilizou o membro pélvico esquerdo. Este teste foi repetido três vezes e utilizado o valor médio das medidas obtidas. A força exercida pelo animal foi expressa em gramas.

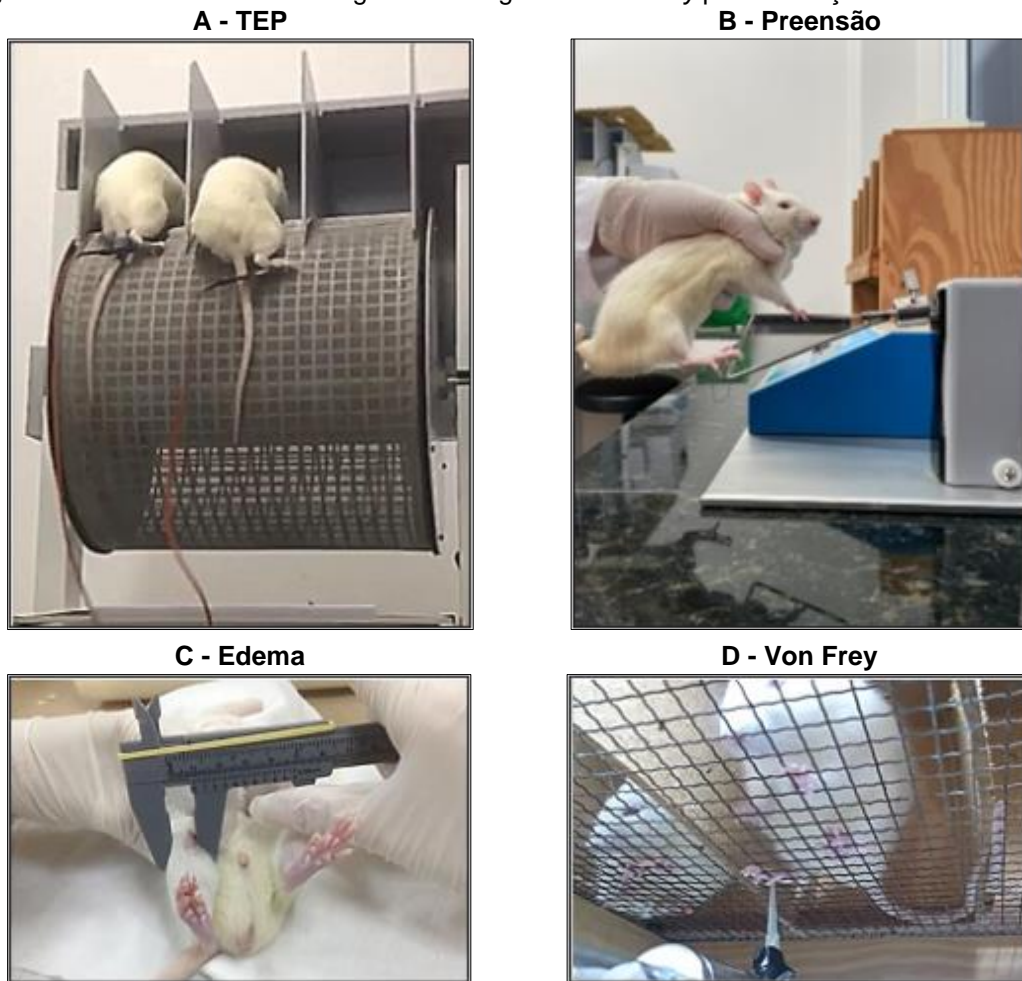
#### 4.5.3 Avaliação da nocicepção

Para avaliação do limiar nociceptivo foi utilizado analgesímetro digital do tipo filamento de *Von Frey*, que consiste em um transdutor de pressão conectado a um contador digital de força, com capacidade para avaliar 0,1–1000 g, conectado a uma caixa amplificadora, que permite testar a sensibilidade nociceptiva ao estímulo mecânico em animais (Insight®, Ribeirão Preto, São Paulo).

Uma ponteira descartável de polipropileno com diâmetro de 0,5 mm foi adaptada para conectar o transdutor de pressão à pata dos animais. O animal foi posicionado em uma caixa elevada de madeira com tampa de acrílico, cujo assoalho é uma tela de arame não maleável. O experimentador aplicou, por entre a tela, uma pressão linearmente crescente no centro da superfície plantar da pata até que ele retire o membro (resposta caracterizada como sacudida *flinch*) (Figura 8D). A

intensidade de hipernocicepção é quantificada com a variação na pressão suportada pelo animal. Para cada avaliação, o teste foi repetido três vezes e o valor médio das repetições foi utilizado como unidade medida em gramas-força (gf) (Marcioli *et al.*, 2013; Vivancos *et al.*, 2004).

**Figura 8** – Imagens das avaliações funcionais. A - Roda utilizada para a avaliação da incapacidade articular através do TEP; B - Aparelho de força de preensão utilizado para avaliação da força de preensão, C - Medida do diâmetro articular através de paquímetro manual para obtenção do valor do edema, e D - Posicionamento do analgesímetro digital de *Von Frey* para obtenção do limiar nociceptivo.



Fonte: Autora; Adaptado Neves *et al.*, 2020.

#### 4.6 Protocolo de tratamento: exercício resistido de subida em escadas

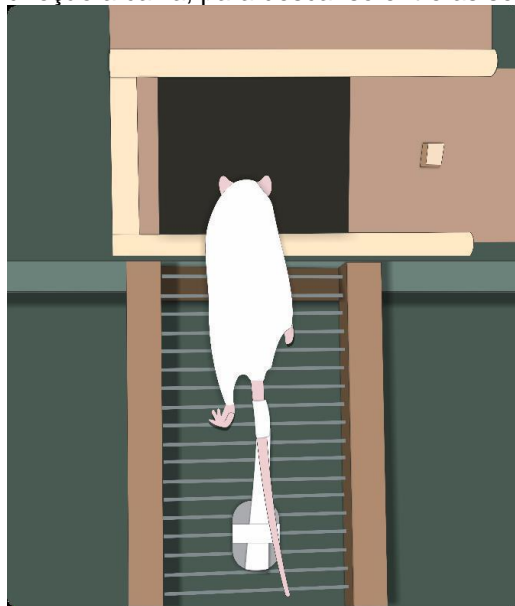
Um protocolo modificado foi implementado para o exercício de subida de escadas com resistência (Neves *et al.*, 2022). Foi utilizada escada vertical de madeira, com 67 degraus de ferro, altura de 1,18m, largura 20,5 cm e inclinação de 60°. No alto da escada foi posicionada uma caixa, com 20x20 cm de altura e largura, na qual os animais descansaram entre uma série e outra por um intervalo de 2 minutos (Figura 9) (Neves, 2020).



Antes da indução da AR, os animais foram treinados com cinco subidas começando no meio da escada e quatro subidas começando na base da escada, sem carga e sem intervalo.. O tratamento foi realizado em dias intercalados, iniciando após 24 horas da injeção intra-articular e terminando no 22º dia.

Nos primeiros três dias, foram executadas três séries de oito escaladas, utilizando uma carga equivalente a 25% do peso corporal do animal. Houve intervalo de dois minutos entre cada série. Nos dois dias seguintes, a carga foi aumentada para 35% do peso corporal, e nos dois últimos dias de exercícios, houve progressão de carga para 50% do peso corporal. A carga foi constituída por placas de chumbo acopladas na base da cauda do animal.

**Figura 9** - Ilustração esquemática do protocolo de subida em escadas. Animal realizando o exercício com peso acoplado à cauda, em direção a caixa, para descanso entre as séries.



Fonte: Neves *et al.*, 2020.

#### 4.7 Eutanásia

No 24º dia, os animais foram eutanasiados, com idade média de 18 semanas, por meio de sobredosagem da associação de anestésico dissociativo (Cetamina - 240 mg/Kg) e de agonista de adrenoceptores alfa 2 (Xilazina - 45 mg/Kg) administrados pela via intraperitoneal. A sobredosagem utilizada foi de três vezes a dose requerida para a anestesia geral.

#### 4.8 Coleta de líquido sinovial para contagem de leucócitos

O método descrito por Gomes *et al.* (2014) foi utilizado na coleta do líquido sinovial. Após a eutanásia, foi verificado o estado de consciência do animal pela ausência de resposta motora ao apertar a cauda e pregas interdigitais, e o líquido sinovial foi coletado. Para isso, foi realizada a dissecação da pele na região da articulação tibiofemoral e a cápsula articular foi exposta para a coleta do fluido sinovial do joelho direito.

Em seguida, foi realizada lavagem da cavidade articular com 100  $\mu$ l de solução fisiológica 0,9 % com 4  $\mu$ l de ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) 5%, coletando-se 20  $\mu$ l do lavado e diluído em líquido de *Turk* (ácido acético glacial 2 ml, azul de metileno 1% e água destilada 98 ml) com fator de diluição variando de 80 a 380  $\mu$ L de acordo com a concentração de células no fluido. A contagem total de leucócitos (CT; células/ $\text{mm}^3$ ) foi realizada em uma câmara vítrea de Neubauer e microscópio óptico (com aumento de 40x), então, a contagem foi determinada por quatro quadrantes e seguida por multiplicação pelo fator de diluição utilizado.

#### 4.9 Processamento e análise histológica de linfonodos poplíteos

Para a realização do processamento, foi necessário a dissecação da região posterior do joelho direito. Os linfonodos poplíteos foram coletados e fixados em Metacarn; em seguida, foram desidratados em uma série ascendente de álcoois (70%, 80%, 90%, 100% I, 100%II e 100%III), diafanizadas em xilol e incluídas em parafina. Posteriormente, foi realizada a microtomia para a obtenção de cortes longitudinais semisseriados de sete  $\mu$ m em micrótomo *Olympus* CUT 4055. As lâminas foram coradas em hematoxilina e eosina para análise morfológica geral e histomorfométrica dos tecidos linfoides.

Para tanto, as fotomicrografias foram realizadas em microscópio *Olympus*® DP71 (USA), nos aumentos de 40 e 400x e no programa *Image-Pro Plus* 6.0. A área total do linfonodo, área cortical e a área medular foram medidas usando imagens em 40x. Utilizando imagens com aumento de 400x, foram fotomicrografadas cinco campos visuais da região da medula do linfonodo, com utilização da função de grade (*Grid Mask*) com padronização de 50 x 50  $\mu$ m para contagem das células em dois campos selecionados de cada imagem, sendo um na região do cordão medular e

outro na região do seio medular, totalizando cinco contagens no cordão medular e cinco no seio medular de cada animal. No cordão medular foi feita a contagem discriminativa de linfócitos e plasmócitos e no seio medular, contou-se linfócitos, macrófagos e células reticulares.

#### **4.10 Processamento e análise histológica da articulação tibiofemoral**

Após a coleta do líquido sinovial e dos linfonodos poplíteos para a análise das articulações, as articulações tibiofemorais do membro direito foram coletadas para processamento histológico. Elas foram fixadas em Metacarn, e após 24 horas, acondicionadas em álcool 70%. Para o procedimento de descalcificação, passaram por lavagem em água corrente por 24 horas para serem descalcificadas através do uso de ácido tricloroacético (TCA) 5%.

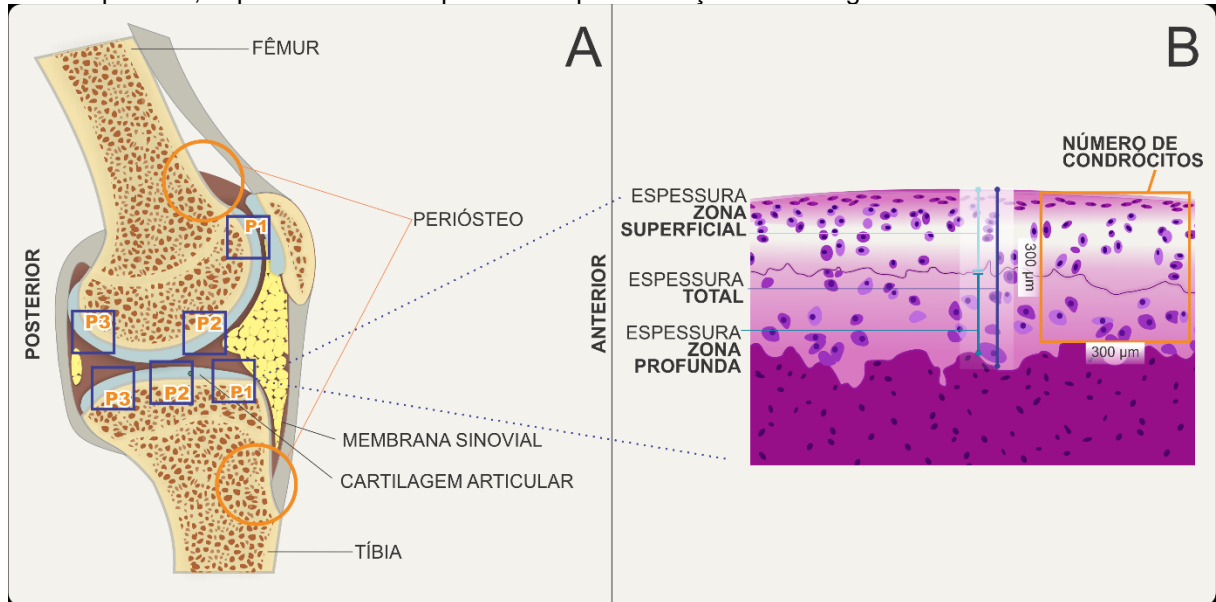
Após a descalcificação, as peças foram desidratadas em uma série ascendente de álcoois (70%, 80%, 90%, 100% I, 100%II e 100%III), diafanizadas através do xilol e emblocadas em parafina.

Posteriormente, foi realizada microtomia, obtendo cortes sagitais de sete  $\mu\text{m}$  em micrótomo *Olympus* CUT 4055. As lâminas foram coradas em hematoxilina e eosina para análise morfológica geral da articulação sinovial do joelho direito, dentre as estruturas (cartilagem articular, tecido ósseo - periósteo - e membrana sinovial) apresentadas em formato de pranchas histológicas.

Foram analisadas três imagens em pontos padronizados para fêmur e tíbia em análise histomorfométrica, sendo eles: P1 (região anterior da cartilagem articular próximo à região da patela), P2 (ponto médio entre anterior e posterior) e P3 (região posterior próxima à fossa poplíteia).

As imagens foram obtidas em aumento 40x e analisadas utilizando o programa *Image Pro Plus* 6.0 ® calibrado para mensurações da cartilagem articular (Figura 10A). Os parâmetros analisados foram: espessura total da cartilagem obtida a partir da superfície até o osso subcondral no ponto médio da imagem, zona superficial que corresponde a espessura entre a superfície e a *tidemark*, e zona profunda, espessura obtida a partir da *tidemark* até o osso subcondral (Figura 10B). Na mesma imagem, é verificado o número de condrócitos, utilizando padronização de 100 x 100  $\mu\text{m}$  para contagem das células. Além das espessuras individuais, foi verificado a média de P1-P3.

**Figura 10** – Figura ilustrativa da morfometria da cartilagem articular. À esquerda (A), exemplo da articulação do joelho, demonstrando as áreas do periósteo avaliadas qualitativamente, e os pontos (P1, P2 e P3) em que foram analisadas as espessuras da cartilagem e número de condrócitos. À direita (B), ilustração da cartilagem articular evidenciando os pontos de análise, espessura total, espessura da zona superficial, espessura da zona profunda e padronização da contagem de células.



Fonte: Neves *et al.*, 2020.

Além disso, foi realizado estudo da morfologia geral da membrana sinovial, observando aspectos da íntima e da subíntima sinovial e a presença de sinovite. Nas cartilagens articulares, foram analisadas a disposição dos condrócitos na zona superficial e profunda, presença da *tidemark*, característica da superfície articular, aspectos da MEC (matriz extracelular) e do osso subcondral (Kunz *et al.*, 2015), por meio de uma 8 pontuações semiquantitativas adaptadas de (Retameiro *et al.*, 2023) (Tabela 2). Os resultados foram apresentados em forma de pranchas morfológicas.

Tabela 2 – Pontuação de avaliação morfológica da membrana sinovial e superfície da cartilagem articular do joelho direito dos ratos *Wistar*.

		Pontos
Membrana Sinovial		
Íntima	2 a 3 camadas	1
	>3 camadas	2
Subíntima	Normal	1
	Diminuída	2

Superfície da cartilagem articular		
Estrutura da cartilagem	Lisa	1
	Irregular/floculado	2
<i>Pannus</i>	Ausente	1
	Presente	2
Deposição de condrócitos		
Zona superficial	Organizados	1
	Desorganizados	2
Zona Profunda	Organizados	1
	Desorganizados	2
<i>Tidemark</i>	Presente	1
	Ausente	2
Osso subcondral	Não exposto	1
	Exposto	2

Fonte: Adaptado de Retameiro *et al.* (2023).

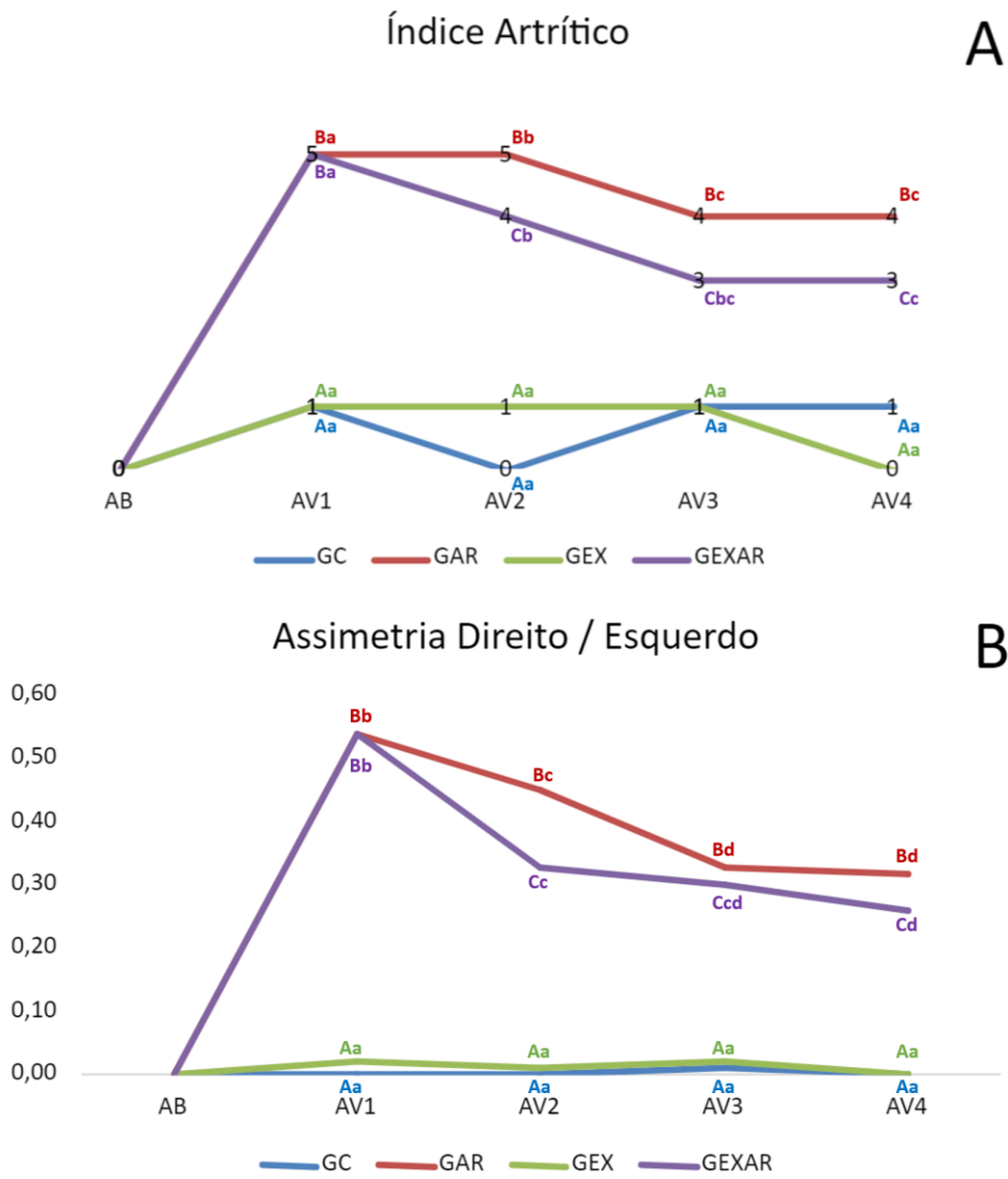
#### 4.11 Análises estatísticas

Foram utilizados modelos lineares generalizados para as avaliações funcionais e para os dados morfométricos. Em ambas as avaliações, o pós-teste foi o de *LSD* com nível de significância adotado em todas as avaliações como  $p < 0,05$  e utilizando o programa *SPSS 20.0*® para as análises.

## 5 RESULTADOS

Dentre os grupos estudados, a eficácia da indução da AR nos grupos GAR e GAREX apresentaram pontuação máxima (5) de índice artrítico (Figura 11A), assim como assimetria significativa dos diâmetros das articulações do joelho direito e esquerdo quando comparados ao GC e GEX ( $p=0,000$ ) (Figura 11B).

**Figura 11** – Imagem ilustrativa da eficácia da indução da AR, por meio do índice artrítico (A) e da assimetria dos diâmetros das articulações do joelho direito e esquerdo (B).



Dados expressos em média. Letras semelhantes representam semelhanças entre os grupos. Letras maiúsculas representam análise intragrupos, letras minúsculas análise entre avaliações. Avaliação Basal (AB); Primeira Avaliação (AV1); Segunda Avaliação (AV2); Terceira Avaliação (AV3); Quarta Avaliação (AV4); Grupo Controle (GC); Grupo Artrite (GAR); Grupo Exercício (GER); Grupo Exercício e Artrite (GEXAR).

Nas avaliações funcionais, os grupos GAR e GEXAR apresentaram maior incapacidade articular quando comparados com GC e GEX ( $p=0,000$ ), principalmente nas AV1 e AV2 ( $p=0,000$ ). Nas análises entre as avaliações, o GAR apresentou semelhança apenas nas AV3 e AV4, e o GEXAR apresentou semelhança apenas nas AV2, AV3 e AV4. O GEX apresentou semelhança em todas as avaliações, e o GC apresentou diferença significativa nas AB e AV2 ( $p=0,040$ ) (Tabela 3).

**Tabela 3** – Dados do tempo de elevação da pata para avaliação da incapacidade articular.

Grupos	AB	AV1	AV2	AV3	AV4
<b>GC</b>	14,9 ± 3,6 <sup>Aa</sup>	17,0 ± 6,6 <sup>Aac</sup>	20,5 ± 8,8 <sup>Abc</sup>	20,0 ± 7,1 <sup>Aac</sup>	17,3 ± 2,2 <sup>Aac</sup>
<b>GAR</b>	13,5 ± 2,1 <sup>Aa</sup>	48,0 ± 6,5 <sup>Bb</sup>	32,6 ± 10,9 <sup>Bc</sup>	26,4 ± 7,8 <sup>Bd</sup>	25,3 ± 8,1 <sup>Bd</sup>
<b>GEX</b>	14,2 ± 2,7 <sup>Aa</sup>	30,2 ± 16,5 <sup>Aa</sup>	24,7 ± 10,5 <sup>Aa</sup>	22,6 ± 8,2 <sup>Aa</sup>	21,4 ± 8,5 <sup>Aa</sup>
<b>GEXAR</b>	13,8 ± 1,8 <sup>Aa</sup>	43,6 ± 5,6 <sup>Bb</sup>	31,4 ± 4,9 <sup>Bc</sup>	28,9 ± 7,8 <sup>Bc</sup>	27,7 ± 10,9 <sup>Bc</sup>

Dados expressos em média ± desvio padrão. Letras semelhantes representam semelhanças entre os grupos. Letras maiúsculas representam análise intragrupos, letras minúsculas análise entre avaliações. Diferença significativa entre os grupos ( $p<0,000$ ) e entre as avaliações ( $p<0,000$ ). Avaliação Basal (AB); Primeira Avaliação (AV1); Segunda Avaliação (AV2); Terceira Avaliação (AV3); Quarta Avaliação (AV4); Grupo Controle (GC); Grupo Artrite (GAR); Grupo Exercício (GER); Grupo Exercício e Artrite (GEXAR).

De forma semelhante, os grupos GAR e GEXAR apresentaram menor força muscular quando comparado com GC e GEX na AV1 ( $p=0,000$ ). Na AV2 o GC apresentou diferença significativa quanto ao GAR ( $p=0,011$ ), o GEX quanto aos GAR ( $p=0,000$ ) e GEXAR ( $p=0,032$ ). Na AV3, apenas os GAR e GEX tiveram diferença significativa ( $p=0,006$ ), e na AV4 todos os grupos apresentaram semelhança nos resultados. Quanto às análises entre as avaliações, o GEX foi o único com diferença significativa entre a AB e a AV4, com maior força na última avaliação ( $p=0,020$ ), e o GEXAR apresentou força muscular recuperada a partir da AV2 (Tabela 4).

**Tabela 4** – Dados da força de preensão para avaliação da força muscular.

Grupos	AB	AV1	AV2	AV3	AV4
<b>GC</b>	141,4 ± 22,1 <sup>Aa</sup>	172,8 ± 68,3 <sup>Ab</sup>	162,3 ± 54,4 <sup>ACab</sup>	161,6 ± 53,7 <sup>ABab</sup>	166,0 ± 58,5 <sup>Aab</sup>
<b>GAR</b>	162,9 ± 38,1 <sup>Aa</sup>	89,1 ± 43,9 <sup>Bb</sup>	105,1 ± 44,9 <sup>Bbc</sup>	128,6 ± 49,1 <sup>Ac</sup>	147,9 ± 35,8 <sup>Aad</sup>
<b>GEX</b>	148,3 ± 21,0 <sup>Aa</sup>	194,6 ± 39,2 <sup>Ab</sup>	187,4 ± 27,3 <sup>Cb</sup>	190,9 ± 38,8 <sup>Bb</sup>	183,1 ± 33,8 <sup>Ab</sup>
<b>GEXAR</b>	165,3 ± 36,1 <sup>Aac</sup>	88,4 ± 32,1 <sup>Bb</sup>	138,0 ± 30,2 <sup>ABc</sup>	169,6 ± 56,4 <sup>ABa</sup>	166,6 ± 49,4 <sup>Aac</sup>

Dados expressos em média ± desvio padrão. Letras semelhantes representam semelhanças entre os grupos. Letras maiúsculas representam análise intragrupos, letras minúsculas análise entre avaliações. Diferença significativa entre os grupos ( $p<0,029$ ) e entre as avaliações ( $p<0,001$ ). Avaliação Basal (AB); Primeira Avaliação (AV1); Segunda Avaliação (AV2); Terceira Avaliação (AV3); Quarta Avaliação (AV4); Grupo Controle (GC); Grupo Artrite (GAR); Grupo Exercício (GER); Grupo Exercício e Artrite (GEXAR).

(AV3); Quarta Avaliação (AV4); Grupo Controle (GC); Grupo Artrite (GAR); Grupo Exercício (GER); Grupo Exercício e Artrite (GEXAR).

Quanto ao limiar nociceptivo, os grupos GAR e GEXAR apresentaram diferença significativa quando comparados ao GC e GEX nas AV1, AV2 e AV4 ( $p=0,000$ ). Na AV3, foi o único momento em que os grupos GAR e GEXAR apresentaram diferença significativa entre eles ( $p<0,042$ ). Em relação às análises entre avaliações, os grupos GC e GEX apresentaram limiar nociceptivo semelhante em todos os momentos, com exceção da AB e da AV3 para o GEX ( $p=0,039$ ) (Tabela 5).

**Tabela 5** – Dados do *Von Frey* para avaliação do limiar nociceptivo.

Grupos	AB	AV1	AV2	AV3	AV4
<b>GC</b>	74,9 ± 11,5 <sup>Aa</sup>	69,9 ± 13,0 <sup>Aa</sup>	69,5 ± 12,6 <sup>Aa</sup>	72,5 ± 10,5 <sup>Aa</sup>	67,0 ± 6,5 <sup>Aa</sup>
<b>GAR</b>	70,3 ± 10,7 <sup>Aa</sup>	36,8 ± 11,8 <sup>Bb</sup>	41,9 ± 4,9 <sup>Bb</sup>	43,6 ± 6,4 <sup>Bbc</sup>	50,8 ± 6,9 <sup>Bc</sup>
<b>GEX</b>	74,1 ± 3,8 <sup>Aa</sup>	69,9 ± 16,7 <sup>Aab</sup>	69,5 ± 7,2 <sup>Aab</sup>	65,3 ± 9,1 <sup>Ab</sup>	67,8 ± 5,6 <sup>Aab</sup>
<b>GEXAR</b>	68,1 ± 5,3 <sup>Aa</sup>	43,9 ± 12,5 <sup>Bb</sup>	50,0 ± 5,2 <sup>Bbc</sup>	53,7 ± 5,5 <sup>Cc</sup>	49,0 ± 10,1 <sup>Bbc</sup>

Dados expressos em média ± desvio padrão. Letras semelhantes representam semelhanças entre os grupos. Letras maiúsculas representam análise intragrupos, letras minúsculas análise entre avaliações. Diferença significativa entre os grupos ( $p<0,000$ ) e entre as avaliações ( $p<0,000$ ). Avaliação Basal (AB); Primeira Avaliação (AV1); Segunda Avaliação (AV2); Terceira Avaliação (AV3); Quarta Avaliação (AV4); Grupo Controle (GC); Grupo Artrite (GAR); Grupo Exercício (GER); Grupo Exercício e Artrite (GEXAR).

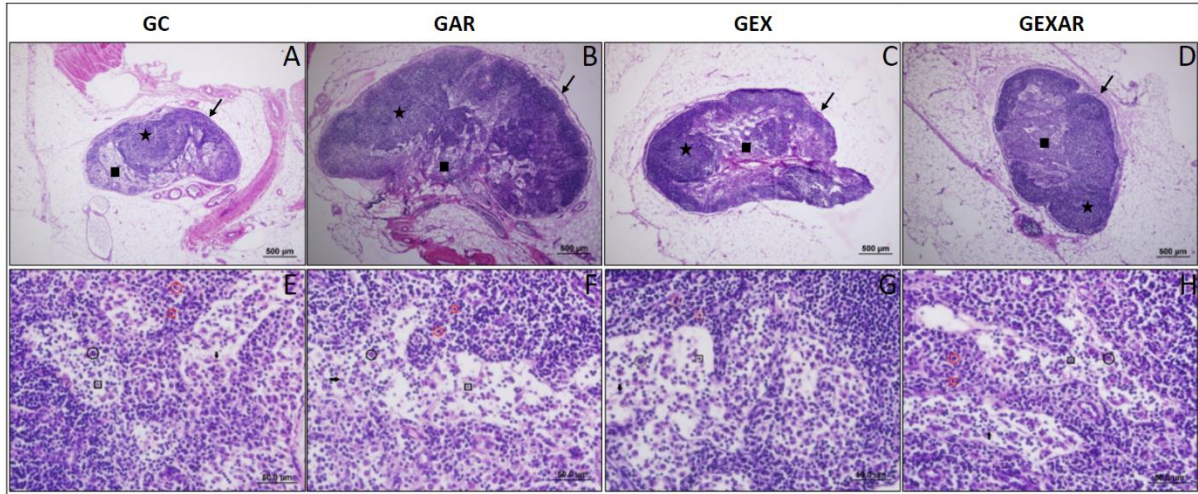
Nas análises morfológicas dos linfonodos poplíteos, todos os grupos apresentaram normalidade anatômica, com formato reniforme, envolvidos por cápsula de tecido conjuntivo denso íntegra e espaço subcapsular, entre a cápsula e o córtex, visível em praticamente toda a extensão do órgão (Figura 12A, B, C e D). Dessa forma, foi possível diferenciar a área cortical e a área medular, bem como suas estruturas.

Quanto à área medular (Figura 12E, F, G e H), foi possível identificar os cordões e os seios medulares em todos os grupos. De forma geral, os cordões medulares mantiveram a característica de hiper celularização quando comparado aos seios medulares. Quando comparado o grupo controle com os demais grupos, este apresentou menor número de células. A população celular predominante em todos os grupos foi de linfócitos, seguida por células reticulares, plasmócitos, e menos frequentemente, macrófagos (Tabela 7).

**Figura 12** – Fotomicrografias do linfonodo poplíteo direito de ratos *Wistar*. Coloração em hematoxilina e eosina. Em A, B, C e D, a área total do linfonodo poplíteo, no aumento de 40x. Área cortical (estrela),



área medular (quadrado), cápsula conjuntiva (seta). Em E, F, G e H, a área medular do linfonodo poplíteo, no aumento de 400x. Linfócito do cordão medular (quadrado vermelho), plasmócito do cordão medular (círculo vermelho), macrófago do seio medular (círculo preto), célula reticular do seio medular (seta), linfócito do seio medular (quadrado preto). Grupo Controle (GC); Grupo Artrite (GAR); Grupo Exercício (GER); Grupo Exercício e Artrite (GEXAR).



Para análise histomorfométrica da área total do linfonodo, observou-se diferença significativa entre GC quando comparado aos grupos GAR, GEX e GEXAR ( $p < 0,002$ ). Para análise da porcentagem da área total que corresponde a medula e córtex houve diferença significativa ( $p < 0,004$ ) na comparação entre o GC e os grupos GAR, GEX e GEXAR (Tabela 6).

**Tabela 6** – Dados histomorfométricos da área total do linfonodo, porcentagem de área medular e cortical do linfonodo.

Grupos	Area total	% Medula	% Córtex
GC	730488,0 ± 163265,1 <sup>A</sup>	31,3 ± 2,9 <sup>A</sup>	68,8 ± 2,9 <sup>A</sup>
GAR	2601244,8 ± 581382,0 <sup>B</sup>	35,4 ± 2,9 <sup>B</sup>	64,6 ± 2,9 <sup>B</sup>
GEX	2763675,5 ± 617685,5 <sup>B</sup>	36,1 ± 2,9 <sup>B</sup>	63,8 ± 2,9 <sup>B</sup>
GEXAR	3600420,8 ± 860259,7 <sup>B</sup>	32,5 ± 3,1 <sup>B</sup>	67,5 ± 3,1 <sup>B</sup>

Dados expressos em média e desvio padrão. Letras semelhantes representam semelhanças entre os grupos. Diferença significativa entre os grupos referente a área total ( $p = 0,000$ ). Grupo Controle (GC); Grupo Artrite (GAR); Grupo Exercício (GER); Grupo Exercício e Artrite (GEXAR).

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos em relação a quantidade de linfócitos do cordão medular (Tabela 7). Entretanto, quanto à contagem de plasmócitos do cordão medular, verificou-se que o GC apresentou quantidade significativamente menor quando comparado aos demais ( $p < 0,046$ ).

Para a quantidade de linfócitos do seio medular, observou-se que GC e o GEX apresentaram número significativamente menor ( $p < 0,030$ ) quando comparados com os grupos GAR e GEXAR.

Na quantidade de macrófagos do seio medular, observou-se que o GC apresentou significativa diminuição, seguido do GEX, GEXAR e por fim, GAR com maior número ( $p < 0,039$ ). Já quanto à contagem de células reticulares do seio medular, observou-se diferença significativa ( $p < 0,049$ ) quando comparado o GC com os demais grupos, com menor número (Tabela 7).

**Tabela 7**– Dados histomorfométricos do número de linfócitos e plasmócitos do cordão medular, e do número de linfócitos, macrófagos e células reticulares do seio medular do linfonodo.

Grupos	Cordão medular		Seio medular		
	Linfócitos	Plasmócitos	Linfócitos	Macrófagos	Células Reticulares
<b>GC</b>	124,1 ± 12,9 <sup>A</sup>	20,8 ± 4,1 <sup>A</sup>	76,1 ± 6,7 <sup>A</sup>	14,3 ± 1,5 <sup>A</sup>	29,5 ± 3,2 <sup>A</sup>
<b>GAR</b>	147,9 ± 15,4 <sup>A</sup>	45,5 ± 4,1 <sup>B</sup>	100,3 ± 8,9 <sup>B</sup>	22,3 ± 1,5 <sup>C</sup>	53,5 ± 5,8 <sup>B</sup>
<b>GEX</b>	135,6 ± 14,1 <sup>A</sup>	34,0 ± 4,1 <sup>C</sup>	69,3 ± 6,1 <sup>A</sup>	17,8 ± 1,5 <sup>AB</sup>	42,8 ± 4,6 <sup>B</sup>
<b>GEXAR</b>	136,7 ± 15,2 <sup>A</sup>	41,0 ± 4,1 <sup>BC</sup>	111,3 ± 10,5 <sup>B</sup>	19,6 ± 1,6 <sup>BC</sup>	40,7 ± 4,7 <sup>B</sup>

Dados expressos em média e desvio padrão. Letras semelhantes representam semelhanças entre os grupos. Diferença significativa entre os grupos referente ao número de plasmócitos ( $p < 0,046$ ) encontrados no cordão medular, e ao número de linfócitos ( $p < 0,030$ ), macrófagos ( $p < 0,039$ ) e células reticulares ( $p < 0,049$ ) encontrados no seio medular. Grupo Controle (GC); Grupo Artrite (GAR); Grupo Exercício (GER); Grupo Exercício e Artrite (GEXAR).

Na contagem total de leucócitos do lavado sinovial do joelho direito, observou-se quantidade significativamente menor ( $p < 0,002$ ) quando comparado os grupos GC e GEX com os grupos GAR e GEXAR (Tabela 8).

**Tabela 8** – Dados histomorfométricos da contagem total de leucócitos do lavado sinovial do joelho direito.

Grupos	Leucócitos
<b>GC</b>	228125,0 ± 2325222,4 <sup>A</sup>
<b>GAR</b>	8234062,5 ± 2587614,2 <sup>B</sup>
<b>GEX</b>	520312,5 ± 64420,4 <sup>A</sup>
<b>GEXAR</b>	8571428,6 ± 146931,4 <sup>B</sup>

Dados expressos em média e desvio padrão. Letras semelhantes representam semelhanças entre os grupos. Diferença significativa entre os grupos ( $p < 0,002$ ). Contagem total de leucócitos (CT; células/mm<sup>3</sup>). Grupo Controle (GC); Grupo Artrite (GAR); Grupo Exercício (GER); Grupo Exercício e Artrite (GEXAR).

A avaliação quantitativa da articulação tibiofemoral, como base no escore de lesão para articulações sinoviais (Retameiro *et al.*, 2023), confirmou as características encontradas na cartilagem articular do fêmur, tíbia e membrana sinovial. As pontuações foram maiores no GAR, seguido do GEXAR (Tabela 9).

**Tabela 9** – Dados da avaliação semiquantitativa morfológica da membrana sinovial e superfície da cartilagem articular do joelho direito dos ratos *Wistar*.

Grupos	Pontos									
	Superfície Articular	Tidemark	Condrócitos			Osso subcondral	Pannus	Membrana Sinovial		TOTAL
			ZS	ZP	Íntima			Subíntima		
<b>GC</b>	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	8,1	
<b>GAR</b>	1,9	1,5	1,7	1,7	1,6	2,0	2,0	2,0	14,4	
<b>GEX</b>	1,0	1,0	1,1	1,1	1,0	1,0	1,0	1,0	8,2	
<b>GEXAR</b>	1,0	1,0	1,1	1,1	1,0	1,8	1,8	1,8	10,5	

Dados expressos em média. Zona Superficial (ZS); Zona Profunda (ZP); Grupo Controle (GC); Grupo Artrite (GAR); Grupo Exercício (GER); Grupo Exercício e Artrite (GEXAR).

Na análise histomorfométrica da cartilagem articular do fêmur e da tíbia, verificou-se diferença na espessura total e nas espessuras das zonas superficial e profunda ( $\mu\text{m}$ ), com menor espessura no GAR ( $p < 0,042$ ). Da mesma forma, houve diferença no número de condrocitos ( $p < 0,033$ ), com maior quantidade no GAR (Tabelas 10 e 11).

**Tabela 10** – Dados das análises histomorfométricas do fêmur.

Grupos	Zona Superficial	Zona Profunda	Espessura total	Nº Condrócitos
<b>GC</b>	111,9 $\pm$ 33,9 <sup>A</sup>	109,2 $\pm$ 35,8 <sup>A</sup>	219,5 $\pm$ 56,2 <sup>A</sup>	14,0 $\pm$ 5,7 <sup>A</sup>
<b>GAR</b>	53,5 $\pm$ 25,6 <sup>C</sup>	59,9,3 $\pm$ 45,1 <sup>B</sup>	241,9 $\pm$ 61,5 <sup>A</sup>	24,3 $\pm$ 7,3 <sup>B</sup>
<b>GEX</b>	78,2 $\pm$ 19,4 <sup>BC</sup>	84,3 $\pm$ 24,4 <sup>AB</sup>	182,8 $\pm$ 25,1 <sup>B</sup>	13,8 $\pm$ 4,8 <sup>A</sup>
<b>GEXAR</b>	98,0 $\pm$ 41,2 <sup>AB</sup>	97,1 $\pm$ 40,7 <sup>A</sup>	233,5 $\pm$ 82,5 <sup>A</sup>	14,3 $\pm$ 3,6 <sup>A</sup>

Dados expressos em média  $\pm$  desvio padrão. Letras semelhantes representam semelhanças entre os grupos. Diferença significativa entre os grupos ( $p < 0,050$ ). Grupo Controle (GC); Grupo Artrite (GAR); Grupo Exercício (GER); Grupo Exercício e Artrite (GEXAR).

**Tabela 11** – Dados das análises histomorfométricas da tíbia.

Grupos	Zona Superficial	Zona Profunda	Espessura total	Nº Condrócitos
<b>GC</b>	131,9 $\pm$ 51,9 <sup>AC</sup>	92,0 $\pm$ 33,6 <sup>A</sup>	223,9 $\pm$ 48,3 <sup>AB</sup>	12,1 $\pm$ 3,1 <sup>A</sup>
<b>GAR</b>	71,8 $\pm$ 43,0 <sup>B</sup>	50,1 $\pm$ 25,0 <sup>B</sup>	202,8 $\pm$ 42,8 <sup>B</sup>	22,1 $\pm$ 9,5 <sup>C</sup>

<b>GEX</b>	95,8 ± 33,9 <sup>BC</sup>	94,2 ± 23,3 <sup>A</sup>	189,9 ± 35,2 <sup>B</sup>	15,4 ± 4,5 <sup>B</sup>
<b>GEXAR</b>	150,4 ± 95,8 <sup>A</sup>	108,2 ± 64,2 <sup>A</sup>	258,6 ± 143,0 <sup>A</sup>	13,3 ± 3,3 <sup>AB</sup>

Dados expressos em média ± desvio padrão. Letras semelhantes representam semelhanças entre os grupos. Diferença significativa entre os grupos ( $p < 0,050$ ). Grupo Controle (GC); Grupo Artrite (GAR); Grupo Exercício (GER); Grupo Exercício e Artrite (GEXAR).

Na análise morfológica da articulação tibiofemoral, a membrana sinovial do GC e GEX (Figura 13A e C), evidenciou aspectos normais da membrana sinovial, organizada em duas camadas de células (sinoviócitos) na íntima sinovial, e subíntima com predominância de células adiposas, vasos sanguíneos sem alterações. O GA e GEXAR apresentaram características clássicas de sinovite, com a presença de grande quantidade de células inflamatórias, hiperplasia, subíntima desorganizada com angiogênese e congestão vascular e poucas células adiposas (Figura 13B e D).

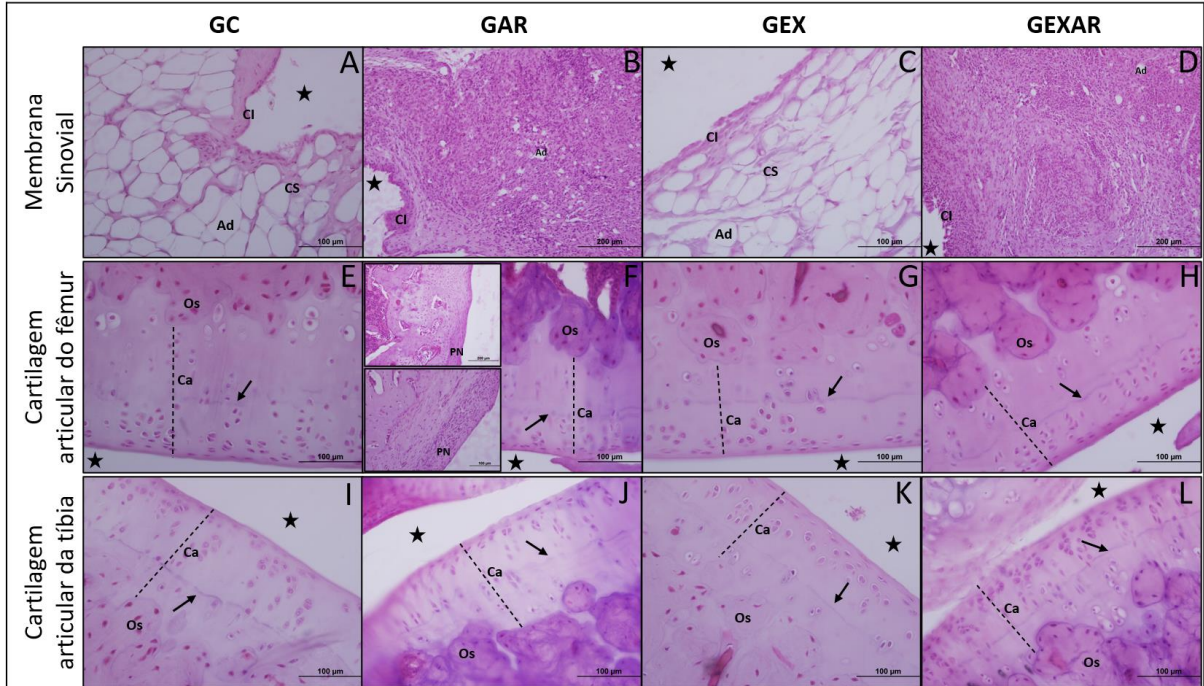
A morfologia normal das cartilagens do fêmur e da tíbia dos grupos GC e GEX foi demonstrada na Figura 13E, G, I e K. Eles tinham superfícies lisas e estavam organizados em quatro camadas celulares normais.

Os condrócitos estavam dispostos em aglomerados horizontais com aspecto achatado que progrediam para um aspecto arredondado, isolados ou em grupo isógenos, indicando maior densidade celular na zona superficial. Na zona profunda, os condrócitos estão organizados em lacunas, separada da zona calcificada por uma linha basofílica, a *tidemark*, sendo possível observar superfície lisa, sem fissuras na MEC. Aparentemente o GEX apresentava uma espessura menor da cartilagem articular e número de condrócitos menor no fêmur quando comparado aos demais grupos.

No grupo GAR, observou-se que o modelo de AR, induzida por CFA, causou alterações morfológicas tanto no fêmur como na tíbia (Figuras 13F e J). Foram constatadas áreas de maior densidade celular, condrócitos dispostos de forma irregular, ou em grupos isógenos, descontinuidade da *tidemark*, invaginação do osso subcondral, e infiltrado inflamatório na cavidade articular. Ainda no fêmur, foram encontradas áreas de exposição do osso subcondral recoberto por *pannus*.

Já o grupo que recebeu o tratamento por exercício resistido, GEXAR (Figura 13H e L), a Cartilagem articular estava dentro dos padrões normais, se assemelhando a morfologia do grupo controle, apenas apresentava ainda, invaginação do osso subcondral.

**Figura 13** – Fotomicrografias do joelho direito de ratos *Wistar*, no aumento de 40x. Coloração em hematoxilina e eosina. Em A, B, C e D, a membrana sinovial do joelho direito. Em E, F, G e H, a cartilagem articular do fêmur. Em I, J, K e L, a cartilagem articular da tíbia. Camada íntima sinovial (CI), Camada subíntima (CS), Adipócitos (Ad), Cavidade articular (estrela), Cartilagem articular (Ca), *Tidemark* (seta), *Pannus* (PN) e Osso subcondral (Os).



## 6 DISCUSSÃO

A AR afeta múltiplas articulações, sendo o joelho uma das mais afetadas (Ateschrang *et al.*, 2011), causando incapacidade progressiva e complicações sistêmicas (Alam; Jantan; Bukhari, 2017). Este estudo teve por objetivo avaliar as repercussões do exercício resistido, de subida em escadas, em ratos *Wistar* com AR induzida, quanto aos aspectos funcionais, inflamatórios e histomorfométricos dos linfonodos poplíteos e da articulação tibiofemoral.

O modelo experimental aplicado nesse estudo foi por meio do CFA (contendo *Mycobacterium butyricum*), que simula os sinais inflamatórios da AR em humanos (Gomes *et al.*, 2014), com a eficácia da indução confirmada por meio do edema articular, infiltração celular, hipersensibilidade, e mudanças histopatológicas.

Nesse estudo, os grupos GAR e GEXAR apresentaram alterações funcionais, histomorfométricas e morfológicas mais significativas do que os grupos GC e GEX devido à inflamação causada pela AR.

Dentro das alterações funcionais, esses grupos induzidos à lesão tiveram maior incapacidade articular e hipersensibilidade, com melhora progressiva a partir de uma semana de exercício. No estudo de Kandasamy, Calsbeek e Morgan (2016), foram avaliados ratos *Sprague-Dawley* que realizaram corrida de roda, induzidos a inflamação por CFA e que apresentaram melhora da corrida em roda em até 12 dias, o que pode ser explicado pela capacidade de modular o processo inflamatório e retomar a funcionalidade.

No estudo de Neves *et al.* (2020), após 2 semanas de exercício resistido de subida de escadas, houve melhora significativa quanto à incapacidade articular. Mas semelhante ao presente estudo, não foi possível retomar aos valores da avaliação basal, mesmo após 2 semanas de exercício. Vale ressaltar que, tanto no estudo citado como neste, o exercício resistido foi o de subida em escadas, ambos com início após 24h da indução de CFA na articulação tibiofemoral direita, porém, com diferença no protocolo: o estudo de Neves *et al.* (2020) usou a mesma carga de 100g com progressão das séries (4 séries de 5 subidas, 4 séries de 7 subidas, e 4 séries de 10 subidas) e descanso de 1 minuto, e no presente estudo foram 3 séries de 8 subidas com progressão da carga (25% da massa corporal do animal, 35%, e 50%) e descanso de 2 minutos.

Quanto à força muscular, no presente estudo, o GAR apresentou maior perda, o GEXAR recuperou o nível de força após a primeira semana de tratamento, e o GEX obteve o maior ganho de força. Estes dados foram semelhante ao estudo de Retameiro *et al.* (2022), que aplicaram um protocolo de exercício resistido de subida de escadas, com início após 24h da indução de CFA na articulação tibiofemoral direita, sendo 7 dias de exercícios intercalados, de 4 séries de 5 subidas com sobrecarga de 100g, e analisaram a articulação do tornozelo em modelo de AR por CFA.

Nas avaliações morfológicas dos linfonodos, foi possível notar normalidade anatômica com formato característico, porém com tamanho maior nos grupos GAR, GEX e GEXAR, quando comparados com o GC. Essa hipertrofia do linfonodo se deve a uma série de modificações biológicas, decorrente do exercício e/ou da indução da AR, que propõem mudanças no tráfego local de leucócitos, expansão da rede estromal fibroblástica e hipercelularidade do linfonodo (Benaglio *et al.*, 2015; Yang *et al.*, 2014).

Na contagem do número de células da região medular do linfonodo, houve predomínio de linfócitos, seguido de plasmócitos e células reticulares. De todos os grupos, GAR e GEXAR apresentaram maior número de células, inclusive na contagem de macrófagos. Como os linfonodos fazem parte do sistema linfático e reage frente a antígenos no organismo, é esperado maior recrutamento de células de defesa. Os linfócitos B (LB) reconhecem esses antígenos, coordenam uma resposta imune específica contra eles, e quando ativados, proliferam e se diferenciam em plasmócitos, que são responsáveis pela produção de imunoglobulinas (anticorpos).

Por outro lado, os linfócitos T (LT) têm a função de destruir células que apresentam moléculas estranhas, secretam citocinas pró-inflamatórias que ativam os LB e recrutam outras células do sistema imunológico, como macrófagos, para o local da inflamação (Junqueira; Carneiro, 2018). Os macrófagos residentes nos linfonodos têm a função de capturar e reter patógenos presentes na linfa, evitando que esses agentes infecciosos se espalhem pelo corpo e causem infecções sistêmicas (Bellomo *et al.*, 2018).

De forma semelhante, a quantidade de leucócitos do lavado sinovial do joelho direito também foi maior nos grupos GAR e GEXAR. Isso pode ser explicado pela infiltração de células pró-inflamatórias destrutivas, decorrente do processo inflamatório, que leva a liberação de citocinas pró-inflamatórias iniciando uma

resposta imunitária perpetuada pela interação destas células imunitárias destrutivas, como macrófagos e células estromais (O'Byrne; de Jong; van Baarsen, 2022).

Essas características decorrentes do processo inflamatório, que podem levar ao crescimento maciço excessivo dos tecidos alvo, também apresentam potencial desequilíbrio na drenagem da capacidade de resposta do linfonodo durante a progressão da doença, além de ruptura da microarquitetura nodal com translocação maciça de células B para espaços sinusoidais paracorticais (Benaglio *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2010). Além disso, a agregação de LB e LT observada na sinóvia está associada ao grau de sinovite do que ao resultado clínico ou ao nível de autoanticorpos (O'Byrne; de Jong; van Baarsen, 2022).

Nas análises morfológicas da articulação tibiofemoral, foram avaliadas as características da cartilagem e membrana sinovial. No trabalho de Retameiro *et al.* (2023), foi utilizado 64 animais, separados em 8 grupos, avaliados quanto aos efeitos da inflamação a membrana sinovial e nas estruturas da cartilagem, estipulando um *score* de 9 pontuações semiquantitativas. Nesse estudo, o *score* foi adaptado para a avaliação semiquantitativa para 8 pontuações. Nas características encontradas na membrana sinovial, foi possível observar características clássicas de sinovite, com a presença de grande quantidade de células inflamatórias, hiperplasia, subíntima desorganizada com angiogênese e congestão vascular e poucas células adiposas em GAR e GEXAR.

Além disso, no GAR observou-se que o modelo de AR induzida por CFA causou alterações morfológicas tanto no fêmur quanto na tíbia. Foram constatadas áreas de maior densidade celular, condrócitos dispostos de forma irregular, ou em grupos isógenos, descontinuidade da *tidemark*, invaginação do osso subcondral, e infiltrado inflamatório na cavidade articular. Ainda no fêmur, foi encontrado áreas de exposição do osso subcondral recoberto por *pannus*. Já o grupo que recebeu o tratamento por exercício resistido (GEXAR), a cartilagem articular estava dentro dos padrões normais, se assemelhando a morfologia do GC, apenas apresentava ainda, invaginação do osso subcondral.

Todas essas alterações nos grupos artríticos, com menor intensidade no grupo artrítico que foi tratado pelo exercício, corroboram com o estudo de Kamada *et al.* (2023), em que buscaram os efeitos da corrida em esteira sob condições hipóxicas nas articulações e músculos de ratos com AR induzida. Histologicamente,



descobriram que em um modelo animal de AR, a hipóxia crônica reduziu a artrite e a destruição das articulações e impediu a fibrose e a atrofia muscular.

De forma semelhante, Fujii *et al.* (2019) avaliaram o efeito da corrida em esteira em modelos de AR em ratos e em várias fases. Histologicamente, os grupos com corrida em esteira inibiram significativamente a destruição articular em comparação com os demais grupos. González-Chávez *et al.* (2023) relataram que o exercício físico, em modelos de AR em ratos, apresentou menor inflamação e dano articular e diminuição da expressão de genes relacionados à AR e vias de sinalização. No estudo de Shimomura *et al.* (2018) o exercício suprimiu a produção de citocinas inflamatórias, por meio da regulação negativa das conexinas na membrana sinovial, diminuindo a sinovite, destruição da cartilagem articular e erosão óssea.

Em estudos com osteoartrite, Allen *et al.* (2017) fizeram um experimento com animais induzidos à osteoartrite e submetidos à corrida em esteira, demonstrando que os animais submetidos ao exercício apresentaram estruturas ósseas mais preservadas dentro da articulação artrítica. Além disso, Boudenot *et al.* (2014) observaram melhora da densidade mineral óssea e da ocupação lacunar dos osteócitos no osso subcondral. Ademais, Cormier *et al.* (2017) relataram que o exercício atenuou a magnitude da dor associado ao aumento da fração de volume ósseo, número trabecular e espessura corroborando com os achados do presente estudo.

Na análise histomorfométrica da cartilagem articular da tíbia e do tálus, Retameiro *et al.* (2023) não encontraram diferença significativa na espessura total, na espessura das zonas superficial e profunda ( $\mu\text{m}$ ), assim como não houve diferença no número de condrócitos.

No presente estudo, na análise histomorfométrica da cartilagem articular do fêmur e da tíbia, a espessura total, bem como as espessuras das áreas superficial e profunda ( $\mu\text{m}$ ), diminuiu no GAR. Da mesma forma, houve diferença no número de condrócitos, com maior quantidade no GAR.

Esses resultados vão de encontro com os achados morfológicos aqui apresentados, com desorganização de condrócitos e superfície articular mais irregular no grupo artrítico quando comparados com os demais. Isso pode ser explicado pelo processo inflamatório da articulação, em que fibroblastos sinoviais respondem a essa agressão associada ao aumento do catabolismo dos condrócitos e desequilíbrio na ação dos osteoclastos, levando à destruição articular (Neves *et al.*, 2020). O aumento

do número de condrócitos pode refletir na restauração dessa cartilagem danificada na tentativa de promover a capacidade proliferativa dos condrócitos e a reparação óssea subcondral, aumentando o suporte nutricional na região (Retameiro *et al.*, 2023).

A hipótese inicial desse estudo era a de que o exercício resistido pode melhorar a funcionalidade motora, nociceptiva e articular, otimizando o processo de recuperação dos aspectos morfofuncionais da articulação tibiofemoral. De certa forma, este estudo reconhece algumas limitações. Primeiramente, os resultados, em relação ao tratamento e parâmetros testados, confirmam a hipótese inicial. No entanto, os resultados obtidos sugerem a possibilidade de investigações futuras e o desenvolvimento de novos protocolos de exercício.

Além disso, apesar da AR afetar indivíduos de ambos os sexos e diversas faixas etárias, há maior incidência em mulheres (Aletaha; Smolen, 2018), principalmente aquelas com mais de 65 anos (Scott; Wolfe; Huizinga, 2010). Esse padrão de incidência pode estar relacionado a diferenças fisiológicas entre os sexos e por influência dos hormônios. É importante considerar que o processo de envelhecimento ao longo da vida pode variar e influenciar as respostas fisiológicas em todo o corpo, o que pode afetar a manifestação e o desenvolvimento e na progressão da AR (Scott; Wolfe; Huizinga, 2010). Portanto, este estudo limitou-se a avaliar os efeitos da AR em ratos *Wistar* machos.

Em terceiro, a gravidade da indução da AR pode ser observada na primeira e/ou segunda semana, e começa a apresentar sinais de redução a partir da terceira semana (Gomes, 2008). Isto é, o tempo de tratamento desses animais se limitou a 2 semanas devido a rápida capacidade de recuperação dos animais.

Em quarto, ressalta-se a ausência da análise de interleucinas, que são citocinas produzidas por células do sistema imunológico e desempenham papéis cruciais na regulação da resposta inflamatória AR (Li *et al.*, 2010; McInnes; Schett, 2011; Smolen; Aletaha; McInnes, 2016), o que poderia prover informações valiosas e mais aprofundadas sobre a eficácia da terapia testada.

Por fim, vale salientar que, no estudo em questão, a indução da artrite foi realizada em apenas um membro dos ratos, e durante a deambulação no TEP, os animais foram observados utilizando predominantemente três membros "livres de dor" para o apoio. No entanto, devido à indução da artrite na base da cauda, há uma simulação de sinais inflamatórios sistêmicos, não sendo possível afirmar que esses animais não sentiram hipernocicepção nos outros membros. Em humanos, isso não

seria possível, pois a AR apresenta uma condição tipicamente simétrica e pode afetar múltiplas articulações, dificultando a locomoção de forma bilateral.

Essas diferenças entre o modelo animal e a condição humana podem limitar a generalização direta dos resultados para pacientes com AR. No entanto, apesar das limitações e das dificuldades na extrapolação dos resultados para humanos, acredita-se que a realização do exercício ainda possa contribuir efetivamente para uma melhoria clínica na AR. Estudos adicionais, incluindo ensaios clínicos em humanos, são necessários para confirmar a eficácia e a segurança do exercício como uma terapia complementar ou adjuvante para pacientes com AR.

## **7 CONCLUSÃO**

O exercício resistido otimizou o processo de recuperação dos aspectos morfofuncionais da articulação tibiofemoral, modulando a resposta imune nos linfonodos poplíteos, e melhorando a funcionalidade motora, nociceptiva e articular.

## REFERÊNCIAS

- ALAM, Javid; JANTAN, Ibrahim; BUKHARI, Syed Nasir Abbas. Rheumatoid arthritis: Recent advances on its etiology, role of cytokines and pharmacotherapy. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, [s. l.], v. 92, p. 615–633, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopha.2017.05.055>.
- ALETAHA, Daniel *et al.* 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: An American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. **Arthritis & Rheumatism**, [s. l.], v. 62, n. 9, p. 2569–2581, 2010. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/art.27584>.
- ALETAHA, Daniel; SMOLEN, Josef S. Diagnosis and Management of Rheumatoid Arthritis. **JAMA**, [s. l.], v. 320, n. 13, p. 1360, 2018. Disponível em: <http://jama.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/jama.2018.13103>.
- ALLEN, Joshua *et al.* Effects of Treadmill Exercise on Advanced Osteoarthritis Pain in Rats. **Arthritis & Rheumatology**, [s. l.], v. 69, n. 7, p. 1407–1417, 2017. Disponível em: <https://acrjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/art.40101>.
- ANDONIAN, Brian J *et al.* Effect of high-intensity interval training on muscle remodeling in rheumatoid arthritis compared to prediabetes. **Arthritis Research & Therapy**, [s. l.], v. 20, n. 1, p. 283, 2018. Disponível em: <https://arthritis-research.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13075-018-1786-6>.
- ATESCHRANG, Atesch *et al.* Current concepts review: Septic arthritis of the knee pathophysiology, diagnostics, and therapy. **Wiener Klinische Wochenschrift**, [s. l.], v. 123, n. 7–8, p. 191–197, 2011.
- BELL, Richard D. *et al.* iNOS dependent and independent phases of lymph node expansion in mice with TNF-induced inflammatory-erosive arthritis. **Arthritis Research & Therapy**, [s. l.], v. 21, p. 240, 2019. Disponível em: <https://arthritis-research.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13075-019-2039-z>.
- BELLOMO, Alicia *et al.* Lymph node macrophages: Scavengers, immune sentinels and trophic effectors. **Cellular Immunology**, [s. l.], v. 330, p. 168–174, 2018. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0008874918300108>.
- BENAGLIO, Francesca *et al.* The draining lymph node in rheumatoid arthritis: current concepts and research perspectives. **BioMed Research International**, [s. l.], v. 2015, p. 420251, 2015. Disponível em: <http://www.hindawi.com/journals/bmri/2015/420251/>.
- BERTELLI, J.A.; MIRA, J.C. The grasping test: a simple behavioral method for objective quantitative assessment of peripheral nerve regeneration in the rat. **Journal of Neuroscience Methods**, [s. l.], v. 58, n. 1–2, p. 151–155, 1995. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/016502709400169H>.
- BOUDENOT, A. *et al.* Effect of interval-training exercise on subchondral bone in a chemically-induced osteoarthritis model. **Osteoarthritis and Cartilage**, [s. l.], v. 22,

n. 8, p. 1176–1185, 2014. Disponível em:  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.joca.2014.05.020>.

BOUTA, Echoe M. *et al.* Brief report: Treatment of tumor necrosis factor–transgenic mice with anti–tumor necrosis factor restores lymphatic contractions, repairs lymphatic vessels, and may increase monocyte/macrophage egress. **Arthritis & Rheumatology**, [s. l.], v. 69, n. 6, p. 1187–1193, 2017. Disponível em:  
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/art.40047>.

BOUTA, Echoe M. *et al.* Targeting lymphatic function as a novel therapeutic intervention for rheumatoid arthritis. **Nature Reviews Rheumatology**, [s. l.], v. 14, n. 2, p. 94–106, 2018. Disponível em:  
<http://www.nature.com/articles/nrrheum.2017.205>.

BRESLIN, Jerome W. Mechanical forces and lymphatic transport. **Microvascular Research**, [s. l.], v. 96, n. 813, p. 46–54, 2014. Disponível em:  
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0026286214001174>.

BURMESTER, Gerd R. *et al.* Managing rheumatic and musculoskeletal diseases — past, present and future. **Nature Reviews Rheumatology**, [s. l.], v. 13, n. 7, p. 443–448, 2017. Disponível em: <http://www.nature.com/articles/nrrheum.2017.95>.

CHOKHANDRE, Snehal *et al.* A Comprehensive Specimen-Specific Multiscale Data Set for Anatomical and Mechanical Characterization of the Tibiofemoral Joint. **PLOS ONE**, [s. l.], v. 10, n. 9, p. e0138226, 2015. Disponível em:  
<https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0138226>.

CLOTTU, Aurelie S. *et al.* Innate Lymphoid Cells in Autoimmune Diseases. **Frontiers in Immunology**, [s. l.], v. 12, p. 789788, 2022. Disponível em:  
<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2021.789788/full>.

COMBE, Bernard. Progression in early rheumatoid arthritis. **Best Practice & Research Clinical Rheumatology**, [s. l.], v. 23, n. 1, p. 59–69, 2009. Disponível em:  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.berh.2008.11.006>.

COONEY, Jennifer K. *et al.* Benefits of Exercise in Rheumatoid Arthritis. **Journal of Aging Research**, [s. l.], v. 2011, p. 1–14, 2011. Disponível em:  
<http://www.hindawi.com/journals/jar/2011/681640/>.

CORMIER, Jim *et al.* Exercise reverses pain-related weight asymmetry and differentially modulates trabecular bone microarchitecture in a rat model of osteoarthritis. **Life Sciences**, [s. l.], v. 180, p. 51–59, 2017. Disponível em:  
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0024320517302333>.

COSTA, Liziane Nunes Conrad *et al.* Exercício resistido promove reparo no musculoesquelético em modelo experimental de artrite reumatoide. **Saúde e Pesquisa**, [s. l.], v. 14, n. 1, p. 103–112, 2021. Disponível em:  
<https://periodicos.unicesumar.edu.br/index.php/saudpesq/article/view/8638>.

CRAMP, Fiona *et al.* Non-pharmacological interventions for fatigue in rheumatoid arthritis. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, [s. l.], n. 8, p. CD008322, 2013. Disponível em: <https://doi.wiley.com/10.1002/14651858.CD008322.pub2>.

FIRESTEIN, Gary S. Evolving concepts of rheumatoid arthritis. **Nature**, [s. l.], v. 423, n. 6937, p. 356–361, 2003. Disponível em: <http://www.nature.com/articles/nature01661>.

FUJII, Yuta *et al.* Treadmill running in established phase arthritis inhibits joint destruction in rat rheumatoid arthritis models. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 20, n. 20, p. 1–13, 2019.

FURLANETTO.JR, Roberto *et al.* Acute resistance exercise reduces increased gene expression in muscle atrophy of ovariectomised arthritic rats. **Menopausal Review**, [s. l.], v. 4, n. 4, p. 193–201, 2016. Disponível em: <http://www.termedia.pl/doi/10.5114/pm.2016.65663>.

GIBOFSKY, Allan. Epidemiology, pathophysiology, and diagnosis of rheumatoid arthritis: A Synopsis. **The American journal of managed care**, [s. l.], v. 20, n. 7 Suppl, p. S128-35, 2014. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25180621>.

GOELDNER, Isabela *et al.* Artrite reumatoide: uma visão atual. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, [s. l.], v. 47, n. 5, p. 495–503, 2011. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1676-24442011000500002&lng=pt&nrm=iso&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1676-24442011000500002&lng=pt&nrm=iso&tlng=en).

GOMES, Raquel Pinheiro. **Atividade física no tratamento de artrite induzida por Adjuvante De Freund: efeitos na nocicepção, edema e migração celular**. Universidade do Estado de Santa Catarina, Florianópolis - SC, [s. l.], 2008. Disponível em: <https://sistemabu.udesc.br/pergamumweb/vinculos/000072/000072ab.pdf>.

GOMES, Raquel Pinheiro *et al.* Efeitos de um minuto e dez minutos de deambulação em ratos com artrite induzida por adjuvante completo de Freund sobre os sintomas de dor e edema. **Revista Brasileira de Reumatologia**, [s. l.], v. 54, n. 2, p. 83–89, 2014. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0482500414000345>.

GONZÁLEZ-CHÁVEZ, Susana Aideé *et al.* Low-Intensity Physical Exercise Decreases Inflammation and Joint Damage in the Preclinical Phase of a Rheumatoid Arthritis Murine Model. **Biomolecules**, [s. l.], v. 13, n. 3, 2023.

HÄHNLEIN, Janine S. *et al.* Impaired lymph node stromal cell function during the earliest phases of rheumatoid arthritis. **Arthritis Research & Therapy**, [s. l.], v. 20, p. 35, 2018. Disponível em: <https://arthritis-research.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13075-018-1529-8>.

HARROLD, Leslie R. *et al.* Cost-related Medication Nonadherence in Older Patients with Rheumatoid Arthritis. **The Journal of Rheumatology**, [s. l.], v. 40, n. 2, p. 137–143, 2013. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3815617/>.

HIFINGER, M. *et al.* Economic considerations and patients' preferences affect treatment selection for patients with rheumatoid arthritis: a discrete choice experiment among European rheumatologists. **Annals of the Rheumatic Diseases**, [s. l.], v. 76, n. 1, p. 126–132, 2017. Disponível em: <https://ard.bmj.com/lookup/doi/10.1136/annrheumdis-2016-209202>.

HUI, Alexander Y *et al.* A systems biology approach to synovial joint lubrication in health, injury, and disease. **WIREs Systems Biology and Medicine**, [s. l.], v. 4, n. 1, p. 15–37, 2012. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/wsbm.157>.

JOE, Bina; RAO, Ummiti J.S.R.; LOKESH, Belur R. Presence of an acidic glycoprotein in the serum of arthritic rats: modulation by capsaicin and curcumin. **Molecular and cellular biochemistry**, [s. l.], v. 169, n. 1–2, p. 125–34, 1997. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9089639>.

JUNQUEIRA, Luiz Carlos Uchoa; CARNEIRO, José. **Histologia básica: texto e atlas**. 13<sup>a</sup>ed. Rio de Janeiro: [s. n.], 2018.

KAMADA, Yoichiro *et al.* Hypoxia with or without Treadmill Exercises Affects Slow-Twitch Muscle Atrophy and Joint Destruction in a Rat Model of Rheumatoid Arthritis. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 24, n. 11, 2023.

KANDASAMY, Ram; CALSBEEK, Jonas J; MORGAN, Michael M. Home cage wheel running is an objective and clinically relevant method to assess inflammatory pain in male and female rats. **Journal of Neuroscience Methods**, [s. l.], v. 1, n. 263, p. 115–122, 2016.

KAROUZAKIS, Emmanuel *et al.* Molecular characterization of human lymph node stromal cells during the earliest phases of rheumatoid arthritis. **Frontiers in Immunology**, [s. l.], v. 10, p. 1863, 2019. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fimmu.2019.01863/full>.

KATZ, Patricia P. *et al.* Poverty, Depression, or Lost in Translation? Ethnic and Language Variation in Patient-Reported Outcomes in Rheumatoid Arthritis. **Arthritis Care & Research**, [s. l.], v. 68, n. 5, p. 621–628, 2016. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/acr.22748>.

KUNZ, Regina Inês *et al.* Histomorphometric changes in the knee joint of wistar rats after remobilization in a water environment. **Fisioterapia e Pesquisa**, [s. l.], v. 22, n. 3, p. 317–324, 2015. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/fp/a/GtZ4s3dWGLdWvWRysLhpYWL/?lang=en>.

LANGE, Elvira *et al.* Effects of Aerobic and Resistance Exercise in Older Adults With Rheumatoid Arthritis: A Randomized Controlled Trial. **Arthritis Care & Research**, [s. l.], v. 71, n. 1, p. 61–70, 2019. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/acr.23589>.

LEE, David M; WEINBLATT, Michael E. Rheumatoid arthritis. **The Lancet**, [s. l.], v. 358, n. 9285, p. 903–911, 2001. Disponível em: [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(01\)06075-5/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(01)06075-5/fulltext).

LEESE, Jenny *et al.* Ethical issues experienced by persons with rheumatoid arthritis in a wearable-enabled physical activity intervention study. **Health Expectations**, [s. l.], v. 25, n. 4, p. 1418–1431, 2022. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/hex.13481>.

LI, Jie *et al.* Efficacy of B cell depletion therapy for murine joint arthritis flare is



associated with increased lymphatic flow. **Arthritis & Rheumatism**, [s. l.], v. 65, n. 1, p. 130–138, 2013. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/art.37709>.

LI, Jie *et al.* Expanded CD23(+)/CD21(hi) B cells in inflamed lymph nodes are associated with the onset of inflammatory-erosive arthritis in TNF-transgenic mice and are targets of anti-CD20 therapy. **Journal of Autoimmunity**, [s. l.], v. 184, n. 11, p. 6142–6150, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2019.102400>.

LUCCHINO *et al.* Mucosa–Environment Interactions in the Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis. **Cells**, [s. l.], v. 8, n. 7, p. 700, 2019. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2073-4409/8/7/700>.

MALANOTTE, Jéssica Aline *et al.* Jumping in aquatic environment after sciatic nerve compression: nociceptive evaluation and morphological characteristics of the soleus muscle of Wistar rats. **Einstein (São Paulo)**, [s. l.], v. 15, n. 1, p. 77–84, 2017. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1679-45082017000100077&lng=en&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1679-45082017000100077&lng=en&tlng=en).

MARANINI, Beatrice *et al.* Focus on Sex and Gender: What We Need to Know in the Management of Rheumatoid Arthritis. **Journal of Personalized Medicine**, [s. l.], v. 12, n. 3, p. 499, 2022. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2075-4426/12/3/499/htm>.

MARCIOLI, Marieli Araujo Rossoni *et al.* Nociceptive and Histomorphometric Evaluation of Neural Mobilization in Experimental Injury of the Median Nerve. **The Scientific World Journal**, [s. l.], v. 2013, p. 476890, 2013. Disponível em: <http://www.hindawi.com/journals/tswj/2013/476890/>.

MARGARETTEN, M *et al.* Socioeconomic determinants of disability and depression in patients with rheumatoid arthritis. **Arthritis Care & Research**, [s. l.], v. 63, n. 2, p. 240–246, 2011. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/acr.20345>.

MCINNES, Iain B.; SCHETT, Georg. Pathogenetic insights from the treatment of rheumatoid arthritis. **The Lancet**, [s. l.], v. 389, n. 10086, p. 2328–2337, 2017. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)31472-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(17)31472-1).

MCINNES, Iain B.; SCHETT, Georg. The Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis. **New England Journal of Medicine**, [s. l.], v. 365, n. 23, p. 2205–2219, 2011. Disponível em: [https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMra1004965?url\\_ver=Z39.88-2003&rfr\\_id=ori:rid:crossref.org&rfr\\_dat=cr\\_pub 0pubmed](https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMra1004965?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub 0pubmed).

MCWILLIAMS, Daniel F.; WALSH, David A. Pain mechanisms in rheumatoid arthritis. **Clinical and experimental rheumatology**, [s. l.], v. 35 Suppl 1, n. 5, p. 94–101, 2017. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28967354>.

MEEUS, Mira *et al.* Endogenous pain modulation in response to exercise in patients with rheumatoid arthritis, patients with chronic fatigue syndrome and comorbid fibromyalgia, and healthy controls: A double-blind randomized controlled trial. **Pain Practice**, [s. l.], v. 15, n. 2, p. 98–106, 2015. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/papr.12181>.

MINGO, Chivon A. *et al.* Individual and Community Socioeconomic Status: Impact on Mental Health in Individuals with Arthritis. **Arthritis**, [s. l.], v. 2014, p. 256498, 2014. Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/arthritis/2014/256498/>.

MOTA, Licia Maria Henrique da *et al.* Consenso 2012 da Sociedade Brasileira de Reumatologia para o tratamento da artrite reumatoide. **Revista Brasileira de Reumatologia**, [s. l.], v. 52, n. 2, p. 152–174, 2012. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0482-50042012000200002&lng=pt&nrm=iso&tling=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0482-50042012000200002&lng=pt&nrm=iso&tling=en).

NEVES, Morgana. **Efeitos do exercício físico e laser de baixa intensidade sobre a articulação do joelho de ratos wistar submetidos a um modelo de artrite reumatoide**. 2020. 160 f f. - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel - PR, [s. l.], 2020. Disponível em: <https://tede.unioeste.br/handle/tede/5135>.

NEVES, Morgana *et al.* Morphometric aspects of the articular cartilage of rats treated with low-level laser therapy and exercise in a rheumatoid arthritis model. **ABCS Health Sciences**, [s. l.], 2022. Disponível em: <https://www.portalnepas.org.br/abcshs/article/view/1771>.

NEVES, Morgana *et al.* Physical exercise and low-level laser therapy on the nociception and leukocyte migration of Wistar rats submitted to a model of rheumatoid arthritis. **Lasers in Medical Science**, [s. l.], v. 35, n. 6, p. 1277–1287, 2020. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s10103-019-02905-2>.

O'BYRNE, Aoife M.; DE JONG, Tineke A.; VAN BAARSEN, Lisa G. M. Bridging insights from lymph node and synovium studies in early rheumatoid arthritis. **Frontiers in Medicine**, [s. l.], v. 8, p. 820232, 2022. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmed.2021.820232/full>.

OH, Dong-Won *et al.* Formulation and in vitro / in vivo evaluation of chitosan-based film forming gel containing ketoprofen. **Drug Delivery**, [s. l.], v. 24, n. 1, p. 1056–1066, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/10717544.2017.1346001>.

OLIVEIRA, Anselmo Alves *et al.* Rheumatoid arthritis-increased gene expressions in muscle atrophy are restored back to control as a response to acute resistance exercise. **Revista Brasileira de Ciência e Movimento**, [s. l.], v. 26, n. 2, p. 24–33, 2018. Disponível em: <https://portalrevistas.ucb.br/index.php/RBCM/article/view/7928>.

OSTROWSKA, Monika *et al.* Cartilage and bone damage in rheumatoid arthritis. **Reumatologia**, [s. l.], v. 56, n. 2, p. 111–120, 2018. Disponível em: <https://www.termedia.pl/doi/10.5114/reum.2018.75523>.

PETRELLI, Fiorella *et al.* Pathogenesis of rheumatoid arthritis: one year in review 2022. **Clinical and Experimental Rheumatology**, [s. l.], v. 40, n. 3, p. 475–482, 2022. Disponível em: <https://www.clinexprheumatol.org/abstract.asp?a=18523>.

POPE, Janet E. Management of fatigue in rheumatoid arthritis. **RMD Open**, [s. l.], v. 6, n. 1, p. e001084, 2020. Disponível em: <https://rmdopen.bmj.com/lookup/doi/10.1136/rmdopen-2019-001084>.

PROUDMAN, Susanna M. *et al.* Fish oil in recent onset rheumatoid arthritis: a

randomised, double-blind controlled trial within algorithm-based drug use. **Annals of the Rheumatic Diseases**, [s. l.], v. 74, n. 1, p. 89–95, 2015. Disponível em: <https://ard.bmj.com/lookup/doi/10.1136/annrheumdis-2013-204145>.

PUTRIK, Polina *et al.* Inequities in access to biologic and synthetic DMARDs across 46 European countries. **Annals of the Rheumatic Diseases**, [s. l.], v. 73, n. 1, p. 198–206, 2014. Disponível em: <https://ard.bmj.com/lookup/doi/10.1136/annrheumdis-2012-202603>.

RAHIMI, Homaira *et al.* Lymphatic imaging to assess rheumatoid flare: mechanistic insights and biomarker potential. **Arthritis Research & Therapy**, [s. l.], v. 18, p. 194, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1186/s13075-016-1092-0>.

RAMWADHDOEBE, T.H. *et al.* Myeloid dendritic cells are enriched in lymph node tissue of early rheumatoid arthritis patients but not in at risk individuals. **Cells**, [s. l.], v. 8, n. 7, p. 756, 2019. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2073-4409/8/7/756>.

RETAMEIRO, Ana C.B. *et al.* Physical Exercise and Low-Level Laser Therapy Systemic Effects on the Ankle Joint in an Experimental Rheumatoid Arthritis Model. **Journal of Manipulative and Physiological Therapeutics**, [s. l.], v. 45, n. 4, p. 248–260, 2022. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0161475422000896>.

RETAMEIRO, Ana Caroline Barbosa *et al.* Resistance exercise and low-level laser therapy improves grip strength and morphological aspects in the ankle joint of Wistar rats with experimental arthritis. **Anatomical Record**, [s. l.], v. 306, n. 4, p. 918–932, 2023.

ROCHA, Thiago Casali *et al.* Os efeitos do exercício físico sobre o manejo da dor em pacientes com osteoartrose de joelho: uma revisão sistemática com meta-análise. **Revista Brasileira de Ortopedia**, [s. l.], v. 55, n. 5, p. 509–517, 2020. Disponível em: <http://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.1055/s-0039-1696681>.

RODRÍGUEZ-CARRIO, Javier *et al.* Brief report: Altered innate lymphoid cell subsets in human lymph node biopsy specimens obtained during the at-risk and earliest phases of rheumatoid arthritis. **Arthritis & Rheumatology**, [s. l.], v. 69, n. 1, p. 70–76, 2017. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/art.39811>.

SCHNAUFER, Thaís *et al.* Effects of aerobic and resistance exercise in murine models of rheumatoid arthritis and osteoarthritis – a systematic review. **Journal of Pre-Clinical and Clinical Research**, [s. l.], v. 16, n. 1, p. 16–20, 2022. Disponível em: <http://www.jpccr.eu/Effects-of-aerobic-and-resistance-exercise-in-murine-models-of-rheumatoid-arthritis,145974,0,2.html>.

SCOTT, David L.; WOLFE, Frederick; HUIZINGA, Tom W.J. Rheumatoid arthritis. **The Lancet**, [s. l.], v. 376, n. 9746, p. 1094–1108, 2010. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)60826-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(10)60826-4).

SEMB, Anne Grete *et al.* Atherosclerotic cardiovascular disease prevention in rheumatoid arthritis. **Nature Reviews Rheumatology**, [s. l.], v. 16, n. 7, p. 361–379, 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/s41584-020-0428-y>.

SHARIF, Salaheddin *et al.* Resistance exercise reduces skeletal muscle cachexia and improves muscle function in rheumatoid arthritis. **Case Reports in Medicine**, [s. l.], v. 2011, p. 205691, 2011.

SHIMOMURA, Seiji *et al.* Treadmill running ameliorates destruction of articular cartilage and subchondral bone, not only synovitis, in a rheumatoid arthritis rat model. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 19, n. 6, 2018.

SILVAGNI, Ettore *et al.* One year in review 2021: novelties in the treatment of rheumatoid arthritis. **Clinical and experimental rheumatology**, [s. l.], v. 39, n. 4, p. 705–720, 2021. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/34238403>.

SMITH, Christopher D. *et al.* Mechanical testing of intra-articular tissues. Relating experiments to physiological function. **Current Orthopaedics**, [s. l.], v. 22, p. 341–348, 2008. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cuor.2008.07.010>.

SMOLEN, Josef S *et al.* EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs: 2019 update. **Annals of the Rheumatic Diseases**, [s. l.], v. 79, n. 6, p. 685–699, 2020. Disponível em: <https://ard.bmj.com/lookup/doi/10.1136/annrheumdis-2019-216655>.

SMOLEN, Josef S *et al.* New therapies for treatment of rheumatoid arthritis. **The Lancet**, [s. l.], v. 370, n. 9602, p. 1861–1874, 2007. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673607607843>.

SMOLEN, Josef S. *et al.* Rheumatoid arthritis. **Nature Reviews Disease Primers**, [s. l.], v. 4, n. 1, p. 18001, 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/nrdp.2018.1>.

SMOLEN, Josef S.; ALETAHA, Daniel; MCINNES, Iain B. Rheumatoid arthritis. **The Lancet**, [s. l.], v. 388, n. 10055, p. 2023–2038, 2016. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)30173-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(16)30173-8).

SOUBRIER, Martin *et al.* A randomised, double-blind, placebo-controlled study assessing the efficacy of high doses of vitamin D on functional disability in patients with rheumatoid arthritis. **Clinical and experimental rheumatology**, [s. l.], v. 36, n. 6, p. 1056–1060, 2018. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30148432>.

SPARKS, Jeffrey A. Rheumatoid Arthritis. **Annals of Internal Medicine**, [s. l.], v. 170, n. 1, p. ITC1–ITC16, 2019. Disponível em: <http://annals.org/article.aspx?doi=10.7326/AITC201901010>.

STEINZ, Maarten M.; SANTOS-ALVES, Estela; LANNER, Johanna T. Skeletal muscle redox signaling in rheumatoid arthritis. **Clinical Science**, [s. l.], v. 134, n. 21, p. 2835–2850, 2020. Disponível em: <https://portlandpress.com/clinsci/article/134/21/2835/226890/Skeletal-muscle-redox-signaling-in-rheumatoid>.

SUDOŁ-SZOPIŃSKA, Iwona *et al.* The pathogenesis of rheumatoid arthritis in radiological studies. Part I: Formation of inflammatory infiltrates within the synovial membrane. **Journal of Ultrasonography**, [s. l.], v. 12, n. 49, p. 202–213, 2012.

Disponível em: <http://jultason.pl/index.php/issues/volume-12-no-49/the-pathogenesis-of-rheumatoid-arthritis-in-radiological-studies-part-i-formation-of-inflammatory-infiltrates-within-the-synovial-membrane?aid=14>.

SUMMERS, Greg D. *et al.* Rheumatoid cachexia: a clinical perspective. **Rheumatology**, [s. l.], v. 47, n. 8, p. 1124–1131, 2008. Disponível em: <https://academic.oup.com/rheumatology/article-lookup/doi/10.1093/rheumatology/ken146>.

SWÄRDH, E; BRODIN, N. Effects of aerobic and muscle strengthening exercise in adults with rheumatoid arthritis: a narrative review summarising a chapter in physical activity in the prevention and treatment of disease (FYSS 2016). **British Journal of Sports Medicine**, [s. l.], v. 50, n. 6, p. 362–367, 2016. Disponível em: <https://bjsm.bmj.com/lookup/doi/10.1136/bjsports-2015-095793>.

TAKAHASHI, I. *et al.* Joint unloading inhibits articular cartilage degeneration in knee joints of a monosodium iodoacetate-induced rat model of osteoarthritis. **Osteoarthritis and Cartilage**, [s. l.], v. 27, n. 7, p. 1084–1093, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.joca.2019.03.001>.

TONUSSI, Carlos Rogério; FERREIRA, Sérgio H. Rat knee-joint carrageenin incapacitation test: an objective screen for central and peripheral analgesics. **Pain**, [s. l.], v. 48, n. 3, p. 421–427, 1992. Disponível em: <https://journals.lww.com/00006396-199203000-00020>.

VEALE, Douglas J.; ORR, Carl; FEARON, Ursula. Cellular and molecular perspectives in rheumatoid arthritis. **Seminars in Immunopathology**, [s. l.], v. 39, n. 4, p. 343–354, 2017. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s00281-017-0633-1>.

VIVANCOS, G.G. *et al.* An electronic pressure-meter nociception paw test for rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, [s. l.], v. 37, n. 3, p. 391–399, 2004. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-879X2004000300017&lng=en&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-879X2004000300017&lng=en&tlng=en).

WIIG, Helge; SWARTZ, Melody A. Interstitial fluid and lymph formation and transport: physiological regulation and roles in inflammation and cancer. **Physiological Reviews**, [s. l.], v. 92, n. 3, p. 1005–1060, 2012. Disponível em: <https://www.physiology.org/doi/10.1152/physrev.00037.2011>.

XU, NeiLi *et al.* Associations of perceived social support and positive psychological resources with fatigue symptom in patients with rheumatoid arthritis. **PLOS ONE**, [s. l.], v. 12, n. 3, p. e0173293, 2017. Disponível em: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0173293>.

YAMADA, Chika *et al.* Pathological assessment of the lymph node biopsies for lymphadenopathy in rheumatoid arthritis. **Modern Rheumatology**, [s. l.], v. 30, n. 5, p. 835–842, 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1080/14397595.2019.1675260>.

YANG, Chen-Ying *et al.* Trapping of naive lymphocytes triggers rapid growth and remodeling of the fibroblast network in reactive murine lymph nodes. **Proceedings of**

**the National Academy of Sciences**, [s. l.], v. 111, n. 1, p. 109–118, 2014. Disponível em: <https://pnas.org/doi/full/10.1073/pnas.1312585111>.

ZERNICKE, Jan *et al.* A prospective pilot study to evaluate an animated home-based physical exercise program as a treatment option for patients with rheumatoid arthritis. **BMC Musculoskeletal Disorders**, [s. l.], v. 17, p. 351, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1186/s12891-016-1208-3>.

ZUIDEMA, Rixt *et al.* Efficacy of a web-based self-management enhancing program for patients with rheumatoid arthritis: explorative randomized controlled trial. **Journal of Medical Internet Research**, [s. l.], v. 21, n. 4, p. e12463, 2019. Disponível em: <https://www.jmir.org/2019/4/e12463/>.

## ANEXOS

### Anexo I – Aprovação do Comitê de Ética do Uso de Animais (CEUA) da UNIOESTE.



### Autorização

O Protocolo nº 13-22 intitulado “**Artrite reumatóide: um estudo comparativo da ação de exercícios aeróbios e anaeróbios e a suplementação com cúrcuma em ratos *Wistar***”, sob a responsabilidade de **Gladson Ricardo Flor Bertolini** que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo *Chordata*, subfilo *Vertebrata*, para fins de pesquisa científica encontra-se **Aprovado** para execução, está de acordo com as Normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) do UNIOESTE em reunião de 05/08/2022. Essa Autorização não substitui o Certificado Experimental de realização ética da pesquisa, necessitando do encaminhamento do Relatório Final de execução do Projeto para sua emissão.

FINALIDADE	Pesquisa Científica
Vigência da autorização	01/09/2022 - 13/03/2026
Espécie/linhagem/raça	Rato heterogênico/ <i>Wistar</i>
N. de animais	147
Peso/Idade	250 – 350 g/ 2 e 4 meses
Sexo	Masculino
Origem	Biotério Central da UNIOESTE, campus de Cascavel.

Cascavel, 08/08/2022.

**Prof. Dra. Luciana Oliveira de Fariña**  
 Coordenadora do CEUA  
 Portaria nº 3126/2018-GRE