

**UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE - UNESC
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE - PPGCS
DOUTORADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

MATEUS CARDOSO COLARES

**EXERCÍCIO FÍSICO COMO TRATAMENTO DA OSTEOARTRITE
EM RATOS WISTAR PROMOVE BENEFÍCIOS DEPENDENTES DA
FREQUÊNCIA**

**CRICIÚMA
2023**

UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE - UNESC
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE - PPGCS
DOUTORADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

MATEUS CARDOSO COLARES

EXERCÍCIO FÍSICO COMO TRATAMENTO DA OSTEOARTRITE
EM RATOS WISTAR PROMOVE BENEFÍCIOS DEPENDENTES DA
FREQUÊNCIA

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde para obtenção do título de doutor em Ciências da Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Cesar Lock Silveira.

CRICIÚMA

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

C683e Colares, Mateus Cardoso.

Exercício físico como tratamento da
osteoartrite em ratos *wistar* promove benefícios
dependentes da frequência / Mateus Cardoso
Colares. - 2023.

94 p. : il.

Tese (Doutorado) - Universidade do Extremo
Sul Catarinense, Programa de Pós-Graduação em
Ciências da Saúde, Criciúma, 2023.

Orientação: Paulo Cesar Lock Silveira.

1. Osteoartrite - Tratamento. 2. Exercícios
terapêuticos. 3. Inflamação. 4. Estresse
oxidativo. 5. Cartilagem articular. I. Título.

CDD 23. ed. 616.7223

Bibliotecária Eliziane de Lucca Alosilla - CRB 14/1101
Biblioteca Central Prof. Eurico Back - UNESC



unesc

UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE – UNESC
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO, INOVAÇÃO E EXTENSÃO
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (Mestrado e Doutorado)
Recomendado pela CAPES – Homologado pelo CNE – Portaria Nº 609 de 14.03.2019

PARECER

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado de Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (Mestrado e Doutorado) reuniram-se para realizar a arguição da Tese de **DOCTORADO** apresentada pelo candidato **MATEUS CARDOSO COLARES**, sob o título “**EXERCÍCIO FÍSICO COMO TRATAMENTO DA OSTEOARTRITE EM RATOS WISTAR PROMOVE BENEFÍCIOS DEPENDENTES DA FREQUÊNCIA**” do Curso de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC.

Após haver analisado o referido trabalho e arguido o candidato, os membros são de parecer pela “**APROVAÇÃO**” da Tese.

Criciúma, SC, 24 de novembro de 2023.

Profa. Dra. FABRICIA CARDOSO PETRONILHO
Membro Relator – UNESC

Profa. Dra. JAQUELINE DA SILVA GENEROSO
Membro Interno – UNESC



Documento assinado digitalmente

Alexandre Pastoris Muller

Data: 30/11/2023 16:56:10-0300

CPF: ***.412.930-**

Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Prof. Dr. ALEXANDRE PASTORIS MULLER
Membro Externo – UFSC



Documento assinado digitalmente

NIVALDO ANTONIO PARIZOTTO

Data: 01/12/2023 09:24:11-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. NIVALDO ANTONIO PARIZOTTO
Membro Externo – Universidade Brasil

Prof. Dr. Paulo Cesar Lock Silveira
Orientador

Prof. Dr. Emilio Luiz Streck
Coordenador Titular do PPGCS

FOLHA INFORMATIVA

Tese elaborada seguindo o estilo ABNT com adaptações descritas na Resolução n. 7/2015 do Colegiado de Coordenação do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde. Este trabalho é apresentado no formato tradicional e foi realizado nas instalações do Laboratório de Fisiopatologia Experimental do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde.

Dedico este estudo

A meus amores Alexandra e Beatriz;

A meus pais Alcides e Elizete;

A meus irmãos(as) Simone, Fabiano e Elisandra;

A todos os profissionais de saúde.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela benção de encontrar os caminhos e as pessoas que tornaram tudo possível. Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade do Extremo Sul Catarinense pelo acolhimento e ao apoio financeiro oportunizado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES.

Gratidão aos professores(as) do programa pelos ensinamentos, especialmente ao Professor Paulo pela confiança e oportunidade cedida, suas orientações, ensinamentos e conselhos foram determinantes e me auxiliaram em todo o processo como doutorando e como pessoa.

Sou grato aos colegas de classe pelos conhecimentos compartilhados, principalmente aos companheiros de laboratório que me apoiaram e fizeram parte da trajetória nos experimentos, nos debates e na troca de experiências e saberes. Destaco entre eles os colegas Leandro e Daniela pela divisão de anseios, frustrações, superações e trabalhos realizados durante todo o doutoramento.

Por fim, mas certamente não menos importante, à minha companheira Alexandra e minha filha Beatriz, que sempre estiveram ao meu lado nesta jornada tanto em momentos de felicidades ou de angústias, de alegrias ou de tristezas, de calma ou de tormentos, vocês indubitavelmente foram a base para o meu crescimento tanto profissional quanto pessoal, amo vocês...

Peço que quaisquer omissões sejam consideradas acidentais! Porém estendo meus agradecimentos a todos que de forma direta ou indireta ajudaram na confecção deste trabalho.

Obrigado a todos!

RESUMO

Osteoartrite é conhecida como uma doença articular crônica multifatorial com predominância na articulação do joelho. Sua patologia está relacionada à degradação da cartilagem articular, estreitamento do espaço articular, remodelação óssea, processo inflamatório e estresse oxidativo. O exercício físico possui forte indicação como tratamento desta doença. Entretanto, sua dose (intensidade, duração e frequência) não é totalmente esclarecida na literatura. Muitos estudos abordam tipos ou intensidades da atividade, porém pouco é retratado sobre duração e, principalmente, frequência. Desta forma, este estudo objetivou analisar os efeitos de diferentes frequências de exercício físico moderado em esteira como tratamento de um modelo de osteoartrite de joelho em ratos Wistar. Foram utilizados 60 ratos Wistar machos, divididos randomicamente em 4 grupos: Controle (*sham*); Osteoartrite (OA); OA + exercício 3x/semana em dias alternados (OA+3x); OA + exercício 5x/semana em dias consecutivos (OA+5x). Foi utilizado o modelo químico de OA por injeção intra-articular de monoiodoacetato de sódio (MIA) no joelho direito. No 15º dia após aplicação de MIA, os grupos com tratamento iniciaram a realização de 1 semana de período de adaptação, seguido de 8 semanas de período de treinamento aeróbio. Os protocolos das terapias com exercício consistiam em andar sobre esteira com frequências de 3 ou 5x semanais, 30 min/dia, a uma velocidade de 13 m/min nas primeiras 4 semanas e 16 m/min nas últimas 4 semanas. Ao final dos protocolos, todos os animais foram anestesiados e submetidos à eutanásia para retirada dos tecidos intra-articulares e do músculo gastrocnêmio. A partir das amostras foram realizadas análises de atividade metabólica, estresse oxidativo, citocinas, expressão gênica de metaloproteinase 13 (MMP13) e proteína morfogênica óssea 2 (BMP2), morfologia e histologia dos tecidos, além de pesagens dos animais durante o período de treinamento. Conforme resultados, as duas terapias com distintas frequências de exercício resultaram em características de inibição da OA, porém o grupo OA+5x apresentou melhor desfecho mediante aumento do consumo energético e diminuição de peso, modulação do estresse oxidativo, diminuição do perfil pró-inflamatório e catabólico, aumento de parâmetros anti-inflamatórios e anabólicos, diminuição dos graus de lesão, inibição de diminuição da espessura da cartilagem e aumento da medida de superfície de cartilagem. Em conclusão, ambos os tratamentos indicam exercer um perfil protetor da cartilagem, todavia evidenciou-se que realizar exercício físico moderado 5x por semana consiste em uma dosagem de frequência com maiores benefícios para o tratamento da OA.

Palavras-chave: Osteoartrite; Exercício Físico; Inflamação; Estresse Oxidativo; Cartilagem.

ABSTRACT

Osteoarthritis is known as a chronic multifactorial joint disease with predominance in the knee joint. Its pathology is related to the degradation of articular cartilage, narrowing of the joint space, bone remodeling, inflammatory process and oxidative stress. Physical exercise has a strong indication as a treatment for this disease. However, its dose (intensity, duration, and frequency) is not fully clarified in the literature. Many studies address types or intensities of activity, but little is reported on duration and, mainly, frequency. Therefore, this study aimed to analyze the effects of different frequencies of moderate physical exercise on a treadmill as a treatment for a model of knee osteoarthritis in Wistar rats. Sixty male Wistar rats were used, randomly divided into 4 groups: Control (sham); Osteoarthritis (OA); OA + exercise 3x/week on alternate days (OA+3x); OA + exercise 5x/week on consecutive days (OA+5x). The chemical model of OA was used, performed by intra-articular injection of sodium monoiodoacetate (MIA) in the right knee. On the 15th day after MIA application, the treatment groups began a 1-week adaptation period, followed by an 8-week aerobic training period. Exercise therapy protocols consisted of walking on a treadmill 3 or 5 times a week, 30 minutes/day, at a speed of 13 m/min in the first 4 weeks and 16 m/min in the last 4 weeks. At the end of the protocols, all animals were anesthetized and euthanized to remove the intra-articular tissues and the gastrocnemius muscle. Analyses of metabolic activity, oxidative stress, cytokines, gene expression of metalloproteinase 13 (MMP 13) and bone morphogenetic protein 2 (BMP2), tissue morphology and histology were carried out from the samples, in addition to weighing the animals during the training period. According to results, the two therapies with different exercise frequencies resulted in OA inhibition characteristics, however the OA+5x group presented a better outcome through increased energy consumption and weight loss, modulation of oxidative stress, reduction of the pro-inflammatory and catabolic profile, increase in anti-inflammatory and anabolic parameters, decrease in injury degrees, inhibition of decrease in cartilage thickness and increase in cartilage surface measurement. In conclusion, both treatments indicate a protective profile for the cartilage, however, it was shown that performing moderate physical exercise 5 times a week consists of a frequency dosage with greater benefits for the treatment of OA.

Keywords: Osteoarthritis; Exercise; Inflammation; Oxidative stress; Cartilage.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Panorama epidemiológico de OA.....	17
Figura 2: Estrutura e componentes da cartilagem.....	19
Figura 3: Estrutura articular do joelho e processo inflamatório.....	22
Figura 4: Interação de ERO com OA.....	23
Figura 5: Principais mecanismos de formação de ERO na OA.....	25
Figura 6: Efeito do exercício agudo sobre o músculo esquelético e a inflamação sistêmica.	28
Figura 7: Imagem ilustrativa do modelo de indução de OA por injeção intra-articular de MIA.....	35
Figura 8: Instrumento para realização dos protocolos de exercício.	36
Figura 9: Protocolo de frequência de exercícios em esteira.....	38
Figura 10: Efeitos do tratamento com exercício físico moderado realizado 3 ou 5 vezes por semana sobre a média de ganho de peso corporal.	47
Figura 11: Efeitos do tratamento com exercício físico moderado realizado 3 ou 5 vezes por semana sobre a atividade metabólica.	48
Figura 12: Efeitos do tratamento com exercício físico moderado realizado 3 ou 5 vezes por semana sobre os níveis de oxidantes.	49
Figura 13: Efeitos do tratamento com exercício físico moderado realizado 3 ou 5 vezes por semana sobre os níveis de dano oxidativo e antioxidantes.	50
Figura 14: Efeitos do tratamento com exercício físico moderado realizado 3 ou 5 vezes por semana sobre os níveis de citocinas pró-inflamatórias.....	51
Figura 15: Efeitos do tratamento com exercício físico moderado realizado 3 ou 5 vezes por semana sobre os níveis de citocinas anti-inflamatórias.	52
Figura 16: Efeitos do tratamento com exercício físico moderado realizado 3 ou 5 vezes por semana sobre a expressão gênica de BMP2 e MMP13.	53
Figura 17: Efeitos do tratamento com exercício físico moderado realizado 3 ou 5 vezes por semana sobre o aspecto morfológico dos tecidos articulares do côndilo femoral e platô tibial.....	54
Figura 18: Efeitos do tratamento com exercício físico moderado realizado 3 ou 5 vezes por semana sobre a análise histológica	55

Figura 19: Síntese dos principais achados sobre diferentes frequências de exercício moderado como tratamento para OA de joelho.....67

LISTA DE ABREVIATURAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ADANTS	Desintegrina e metaloproteinase com motivo de trombospondina
AH	Ácido hialurônico
ANOVA	Análise de variância
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ARE	Elementos de resposta antioxidantes
ARRIVE	<i>Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments</i>
ATP	Adenosina trifosfato
BMP	Proteína morfogênica óssea
Ca ⁺²	Cálcio
CAT	Catalase
CD	Cluster de diferenciação
CEUA	Comissão Ética para Uso de Animais
COX-2	Ciclo-oxigenase 2
CS	Citrato sintase
CTE	Cadeia transportadora de elétrons
CXCL5	Quimiocina 5 com motivo CXC
DAMP's	Padrões moleculares associados ao dano
DCF	Diclorofluoresceína
DCFH-DA	Diacetato de diclorodihidrofluoresceína
DCIP	2,6-dicloroindofenol
DTNB	5,5-ditiobis (ácido 2-nitrobenzóico) ou reagente de Ellman
ELISA	<i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>
EPM	Erro padrão médio
ERK	Quinase regulada por sinal extracelular
ERN	Espécies reativas de nitrogênio
ERO	Espécies reativas de oxigênio
GPX	Glutathione peroxidase
GSH	Glutathione reduzida
GSSG	Dissulfeto de glutathione
H&E	Hematoxilina-eosina

H ₂ O	Água
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
ICAM-1	Molécula de adesão intercelular - 1
IFN- γ	Interferon gama
IL	Interleucina
IL1-RA	Receptor antagonista de IL1
iNOS	Óxido nítrico sintase induzível
JAK	Janus quinase
Keap1	Proteína 1 associada à ECH semelhante a kelch
M1	Macrófago de fenótipo tipo 1
M2	Macrófago de fenótipo tipo 2
MCP1	Proteína quimioatraente de monócito 1
MEC	Matrix extracelular
MHC	Complexo principal de histocompatibilidade
MIA	Monoiodoacetato de sódio
MMP	Metaloproteinases de matriz
NADPH oxidase	Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato oxidase
NF- κ B	Fator nuclear kappa B
NO $\cdot$	Óxido nítrico
NOS	Óxido nítrico sintase
Nrf2	Fator eritróide nuclear 2
O ₂	Óxigênio
O ₂ $^{\cdot-}$	Ânion superóxido
OA	Osteoartrite
OA + 3x	Osteoartrite + exercício físico moderado 3x por semana
OA + 5x	Osteoartrite + exercício físico moderado 5x por semana
OARSI	<i>Osteoarthritis Research Society International</i>
OH $\cdot$	Radical hidroxila
ONOO $^-$	Peroxinitrito
p38 MAPk	Proteína quinase ativada por mitógeno p38
PCR	Reação em cadeia da polimerase
PFA	Paraformaldeído
PGE2	Prostaglandina E2

PRG4	Proteoglicano 4
SC	Sulfato de condroitina
SDH	Succinato desidrogenase
SOD	Superóxido dismutase
SQ	Sulfato de queratano
STAT	Transdutor de sinal e ativador de proteínas de transcrição
TGF- β	Fator de crescimento transformador
Th1	Linfócitos T helper de fenótipo tipo 1
TIMP	Inibidor de metaloproteinases
TLR	Receptores toll-like
TNB	Ácido 2-nitro-5-tiobenzóico
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
VEGF	Fator de crescimento endotelial vascular

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
1.1. OSTEOARTRITE	16
1.2. ESTRUTURA ARTICULAR DO JOELHO	17
1.3. OSTEOARTRITE E INFLAMAÇÃO	20
1.4. OSTEOARTRITE E ESTRESSE OXIDATIVO	23
1.5. EXERCÍCIO FÍSICO COMO TRATAMENTO PARA OSTEOARTRITE	26
1.6. MODELO ANIMAL DE INDUÇÃO DA OSTEOARTRITE	30
2. OBJETIVOS	33
2.1. OBJETIVO GERAL	33
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	33
3. MATERIAIS E MÉTODOS	34
3.1. PROCEDIMENTOS ÉTICOS	34
3.2. ANIMAIS	34
3.3. MODELO DE OSTEOARTRITE	35
3.4. PROTOCOLOS DE EXERCÍCIO FÍSICO	36
3.5. EUTANÁSIA	39
3.6. DESCARTE DE MATERIAL	39
3.7. ANÁLISES	40
3.7.1. Avaliação de ganho de peso	40
3.7.2. Atividade metabólica	40
3.7.3. Oxidantes	41
3.7.4. Marcadores de danos oxidativos	42
3.7.5. Atividades de enzimas antioxidantes	43
3.7.6. Determinação de conteúdo proteico	43
3.7.7. Mediadores inflamatórios	44
3.7.8. Expressão gênica	44
3.7.9. Morfologia tecidual	45
3.7.10. Histologia	45
3.7.11. Análise estatística	45
4. RESULTADOS	47
4.1. GANHO DE PESO	47
4.2. ATIVIDADE METABÓLICA	47

4.3. OXIDANTES	48
4.4. DANO OXIDATIVO E ANTIOXIDANTES	49
4.5. CITOCINAS PRÓ-INFLAMATÓRIAS	50
4.6. CITOCINAS ANTI-INFLAMATÓRIAS.....	51
4.7. EXPRESSÃO GÊNICA	53
4.8. MORFOLOGIA TECIDUAL	53
4.9. HISTOLOGIA	54
5. DISCUSSÃO	56
6. CONCLUSÃO.....	68
REFERÊNCIAS.....	69
APÊNDICES	79
ANEXOS	93

1. INTRODUÇÃO

1.1. OSTEOARTRITE

A osteoartrite (OA) é associada a uma doença articular degenerativa multifatorial. Sua cura é desconhecida, responde pouco a tratamentos atuais e seu desenvolvimento gera custos relativamente altos. O processo de doença da OA é caracterizado pela erosão progressiva da cartilagem articular, levando ao estreitamento do espaço articular, remodelação óssea e inflamação sinovial (Bao *et al.*, 2011).

Possui a particularidade de ser uma patologia muito comum e progressivamente aumentar o número de pessoas acometidas. Em 2019, mais de meio milhão de pessoas em todo mundo desenvolveram OA e, dentre elas, mais de 60% foram ocasionadas na região do joelho (figura 1). Além disso, houve um aumento no número de casos de aproximadamente 250 milhões no mundo e 5 milhões no Brasil em 1990, para 527 milhões no mundo e 14 milhões no Brasil em 2019, ou seja, os números de prevalência de OA global duplicaram, enquanto que no Brasil esse número chegou próximo de triplicar (figura 1) (GBD, 2019).

Além disso, estima-se que uma a cada oito pessoas adultas possua OA (Hunter *et al.*, 2014). Neste cenário, apesar de existir uma alta prevalência de pessoas idosas com OA, 10 a 15 % conforme publicado pela Organização Mundial de Saúde (Wittenauer *et al.*, 2013), contabilizando todos os casos, a maioria dos enfermos está em idade laboral (figura 1) (GBD, 2019). Como exemplo disso, nos Estados Unidos, 64% das pessoas acometidas com OA estão com idade entre 15 a 64 anos de idade e que isso representa cerca de 11% de toda força de trabalho do país (Hunter, 2015).

Apesar de não haver total clareza das razões que desencadeiam o desenvolvimento da OA, sabe-se que vários aspectos podem induzir esta doença, sendo que geralmente está associado a mais de um fator de risco. Dentre os fatores que podem desencadear esta patologia, destacam-se: a genética, a instabilidade articular, a ocupação, os traumas, a sobrecarga, a obesidade, o sexo e o envelhecimento (Jones *et al.*, 2000; Pritzker *et al.*, 2006; Robins *et al.*, 2013; Wittenauer *et al.*, 2013; Castrogiovanni *et al.*, 2019).

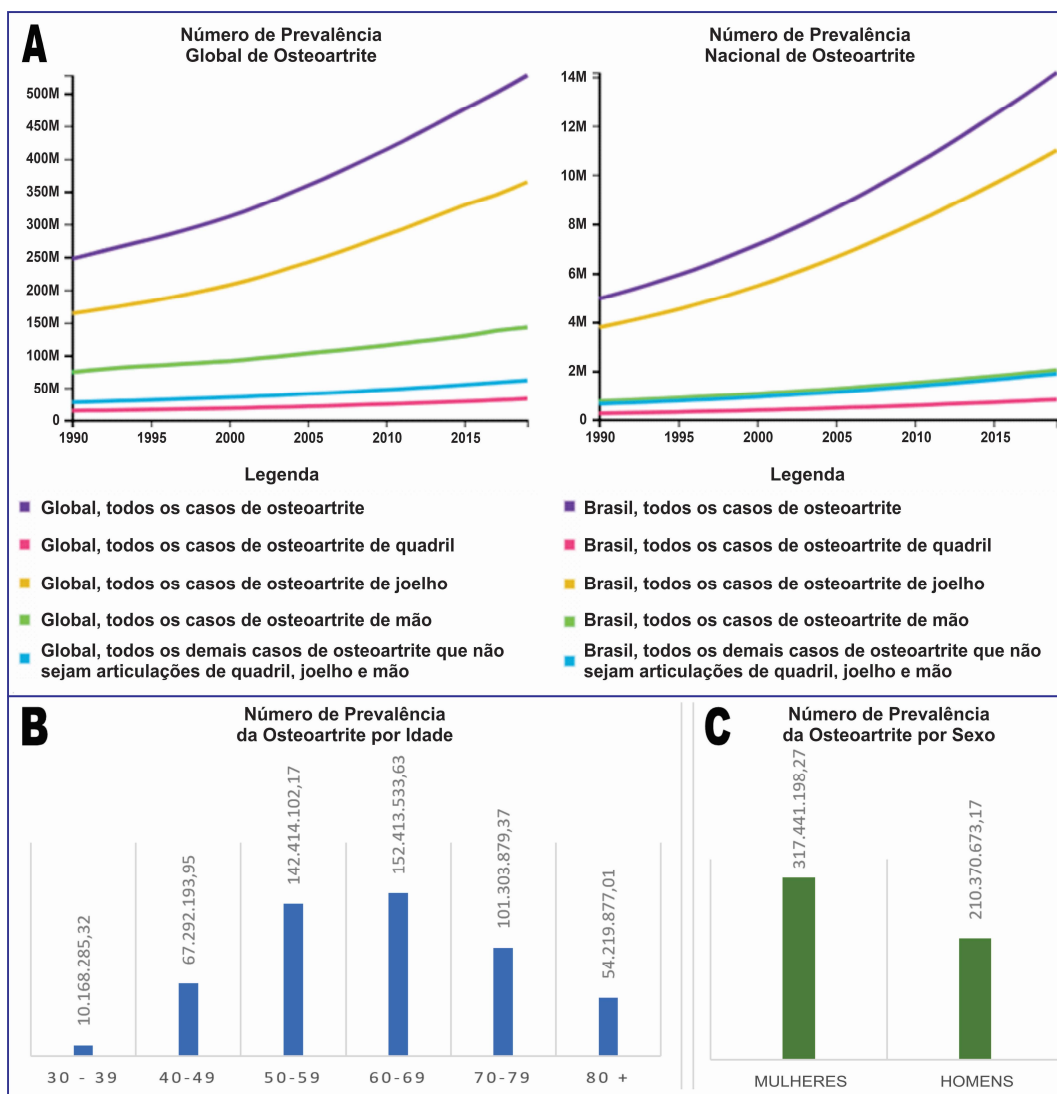


Figura 1: Panorama epidemiológico de OA. Em A, linha do tempo do número de pessoas acometidas com OA no Brasil e no mundo (nº de casos em milhões comparado a período em anos); Em B, prevalência do número de casos de OA por idade no ano de 2019; Em C, prevalência do número de casos de OA por sexo no ano de 2019.

Fonte: Adaptado de GBD (2019)

1.2. ESTRUTURA ARTICULAR DO JOELHO

Conforme relatado, o joelho é a principal articulação afetada pela OA. Além disso todos estes fatores de risco mencionados podem contribuir para criar um ambiente propício ao desenvolvimento de OA que atinge principalmente o menisco, a membrana sinovial (sinóvia), o osso subcondral e especialmente a cartilagem articular (Kuyinu *et al.*, 2016).

Destas estruturas envolvidas com a OA de joelho, o menisco é conhecido por ser um tecido fibrocartilaginoso constituído essencialmente de água, colágeno tipo

I e proteoglicanos (em especial agrecanos). Possui como função auxiliar no suporte de carga e absorção de choques na articulação (Kuyinu *et al.*, 2016).

A sinóvia é composta por células especializadas em diferentes funções, tal como: sinoviócitos do tipo A (macrófagos) e sinoviócitos do tipo B (fibroblastos). Os sinoviócitos do tipo A são quiescentes em sinóvias saudáveis, entretanto em situações de perturbação homeostática, ou seja, quando há algum tipo de distúrbio ou dano à articulação, eles são ativados e ficam responsáveis por fagocitar substâncias indesejadas como restos celulares e/ou fragmentos de tecidos com células mortas (Bao *et al.*, 2011; Lammert e Zeeb, 2014; Kuyinu *et al.*, 2016; Castrogiovanni *et al.*, 2019). Já os sinoviócitos do tipo B exercem a função de produzir componentes da matriz extracelular (MEC), como ácido hialurônico, colágeno e fibronectina, além do líquido sinovial composto pelo proteoglicano lubricina e pelo ácido hialurônico que promovem a lubrificação da cavidade intra-articular (Bao *et al.*, 2011; Lammert e Zeeb, 2014; Kuyinu *et al.*, 2016; Castrogiovanni *et al.*, 2019).

A seguir, o osso-subcondral, constituído principalmente por colágeno tipo I mineralizado, está localizado desde o *tidemark* (linha que divide a união da cartilagem calcificada com a cartilagem não calcificada) até o osso trabecular subjacente (figura 2). Diferentemente da cartilagem, este tecido é vascularizado e altamente innervado, o que provavelmente contribui para a geração de dor na OA. Possui como função oferecer suporte à cartilagem articular suprajacente, absorver e distribuir tensão mecânica e nutrir as camadas profundas da cartilagem (Castañeda Sanz *et al.*, 2006; Glyn-Jones *et al.*, 2015; Kuyinu *et al.*, 2016).

A cartilagem articular por sua vez, é um tecido avascular e sem inervação com propriedades elásticas onde a MEC tem um protagonismo muito forte (Lammert e Zeeb, 2014; Tomazoni *et al.*, 2017; Zahan *et al.*, 2020). Possui como função principal o amortecimento de impactos da articulação, distribuição de carga mecânica e diminuição de atrito tibiofemoral e patelofemoral (Lammert e Zeeb, 2014; Glyn-Jones *et al.*, 2015; Kuyinu *et al.*, 2016).

Dentre os componentes da MEC da cartilagem do joelho, a principal fibra é o colágeno tipo II sendo responsável essencialmente por estabilizar a estrutura tecidual (figura 2) (Lammert e Zeeb, 2014; Glyn-Jones *et al.*, 2015; Humphrey e O'Rourke, 2015; Kuyinu *et al.*, 2016). Apesar disso, outras fibras em menor quantidade, como o colágeno tipo III, VI, IX–XII e XIV, também contribuem para estruturação da MEC (Lammert e Zeeb, 2014).

Outro componente importante da MEC são os proteoglicanos, com destaque ao agrecano que está presente em maior quantidade na cartilagem do joelho (Lammert e Zeeb, 2014; Roughley e Mort, 2014; Glyn-Jones *et al.*, 2015; Kuyinu *et al.*, 2016). Este proteoglicano é formado por um conjunto de glicosaminoglicanos, caracterizados como açúcares com propriedades de potencial negativo ao qual possuem grande afinidade com água. No caso específico, os glicosaminoglicanos sulfato de condroitina (SC) e sulfato de queratano (SQ), que são ligados a uma proteína central, que por sua vez é ligada ao ácido hialurônico (AH) por meio de uma proteína de ligação (figura 2) (Roughley e Mort, 2014).

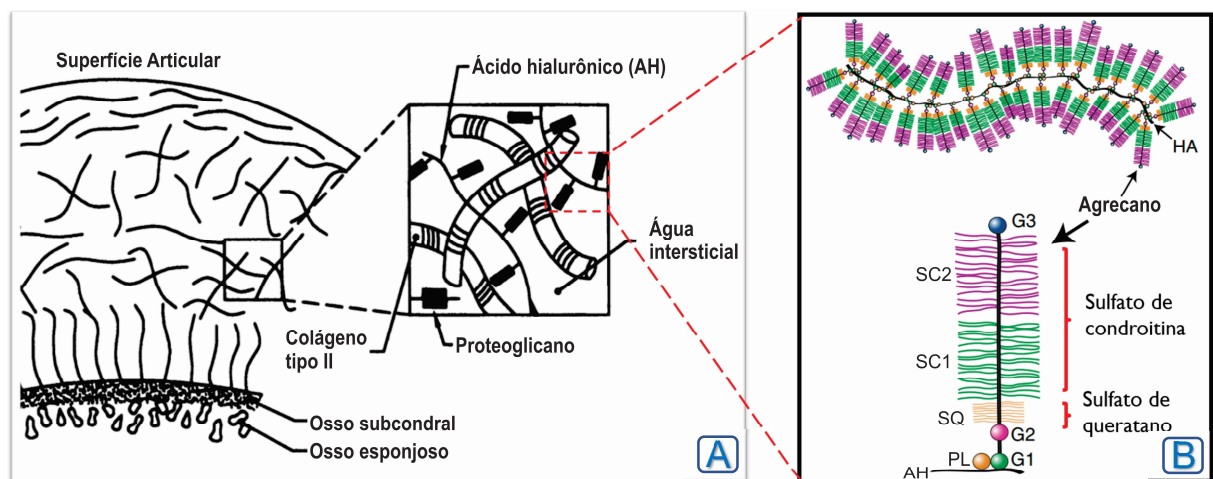


Figura 2: Estrutura e componentes da cartilagem. Em A, estrutura da cartilagem articular do joelho; Em B, estrutura do proteoglicano agrecano. Ácido hialurônico (AH); região globular 1, 2 ou 3 (G1, G2 ou G3); proteína de ligação (PL); sulfato de queratano (SQ); sulfato de condroitina 1 e 2 (SC1 e SC2).
Fonte: Imagem A adaptada de Humphrey e O'Rourke (2015). Imagem B adaptada de Roughley e Mort (2014)

Ademais, conforme figura 3, microscopicamente a cartilagem é dividida em (Pritzker *et al.*, 2006; Glyn-Jones *et al.*, 2015; Humphrey e O'Rourke, 2015; Castrogiovanni *et al.*, 2019):

- Zona superficial, há boa parte das células da cartilagem que são denominadas de condrócitos, especialmente porque a principal fonte de nutrientes é o líquido sinovial, além de ficarem distribuídas paralelas à superfície assim como as fibras colágenas;
- Zona média, os condrócitos e fibras colágenas aparecem de forma arbitrária com maior volume de proteoglicanos e água;
- Zona profunda, condrócitos e fibras colágenas alinham-se no sentido transversal, ou seja, na direção osso subcondral para superfície articular.

Outro aspecto da cartilagem do joelho, constitui-se de que por peso úmido, consiste de 58 a 78% de água, entretanto, por peso seco, representa aproximadamente 50 a 73% de colágeno tipo II, 15 a 30% de proteoglicanos e apenas 5% de condrócitos (Humphrey e O'Rourke, 2015). Os condrócitos, apesar de quantidade relativamente baixa, são células especializadas que exercem importante regulação do ambiente cartilaginoso, sendo as principais moduladoras de ações catabólicas e anabólicas do tecido em resposta a estímulos químicos e mecânicos (Lammert e Zeeb, 2014; Glyn-Jones *et al.*, 2015; Kuyinu *et al.*, 2016).

1.3. OSTEOARTRITE E INFLAMAÇÃO

O processo de origem e desenvolvimento da degradação da cartilagem ainda é bem discutido. Muito se fala sobre desgaste natural e/ou mecânico da cartilagem (Glyn-Jones *et al.*, 2015; Iijima *et al.*, 2016a). Todavia um conceito bem aceito na literatura é o da ação *crosstalk*, ou seja, vários tecidos em torno da cartilagem podem favorecer seu processo de degradação uma vez que citocinas, espécies reativas e fatores de crescimento podem causar influências de um tecido para outro. Essa comunicação geralmente se dá por vias parácrinas, podendo haver uma interação entre tecidos adiposo, muscular, ósseo, cartilaginoso e da sinóvia (Lammert e Zeeb, 2014; Iijima *et al.*, 2016a; Kirk *et al.*, 2020). Isto é, baseado nessa interação entre os tecidos, a OA deve ser pensada como uma doença que se relaciona com os diversos tipos teciduais da articulação e não apenas com a cartilagem (Lammert e Zeeb, 2014; Iijima *et al.*, 2016a).

Dentre as anormalidades associadas com a OA, a abrasão mecânica motivada por movimentos repetitivos e sobrecarga na articulação, pode causar anomalias da função dos meniscos, promovendo rompimentos e degeneração progressiva com perda de colágeno tipo I e tipo II. Com isso, este comprometimento de suas capacidades pode acarretar em instabilidades articulares e sobrecarga sobre a cartilagem articular (Kuyinu *et al.*, 2016).

Por sua vez, estes estímulos de cisalhamento abrupto que conduzem a um estresse mecânico podem repercutir em desorganização da MEC da cartilagem. Sendo assim, inicialmente os condrócitos promovem respostas anabólicas na tentativa de reparação (Robins *et al.*, 2013; Lammert e Zeeb, 2014). Contudo a quantidade de células para recuperação do tecido é relativamente baixa e os

condrócitos possuem limitações de captação de nutrientes por não possuírem um ambiente vascularizado (Lammert e Zeeb, 2014; Tomazoni *et al.*, 2017).

Com a continuidade do estímulo agressor, poderá haver desestruturação da MEC com perda de proteoglicanos, diminuição da rede de colágeno e apoptose de condrócitos. Deste modo, condrócitos restantes realizam processos de proliferação e induzem respostas catabólicas por meio de citocinas pró-inflamatórias, em especial interleucina 1 – beta ($IL1-\beta$) e fator de necrose tumoral – alfa ($TNF-\alpha$), com o intuito de realizar a varredura do tecido lesado de materiais indesejados e células mortas (Lammert e Zeeb, 2014; Glyn-Jones *et al.*, 2015; Kuyinu *et al.*, 2016; Woodell-May e Sommerfeld, 2020; Molnar *et al.*, 2021).

Porém como a resposta celular contra o estímulo agressor é lenta, isso desencadeia um desbalanço entre a resposta catabólica e anabólica favorecendo um ciclo vicioso de degeneração da cartilagem, ou seja, o processo de dano consegue superar o processo de recuperação (Lammert e Zeeb, 2014; Glyn-Jones *et al.*, 2015; Kuyinu *et al.*, 2016; Woodell-May e Sommerfeld, 2020; Molnar *et al.*, 2021). Ademais, quanto maior o grau da degradação da cartilagem, maior será o desequilíbrio em favor da degeneração haja vista que os condrócitos restantes podem ficar sobrecarregados e hipertróficos ocasionando senescência e apoptose celular (Woodell-May e Sommerfeld, 2020; Molnar *et al.*, 2021).

Nos processos catabólicos, as citocinas pró-inflamatórias $IL1-\beta$ e $TNF-\alpha$ irão estimular condrócitos e sinoviócitos do tipo A a produzirem metaloproteinases de matriz (MMP) e uma desintegrina e metaloproteinase com motivo de trombospondina (ADAMTS). Essas collagenases (como a MMP13) e agrecanases (como a ADAMTS5) possuem o trabalho de degradar a MEC da cartilagem, contribuindo para a lesão cartilaginosa (Thielen *et al.*, 2019; Woodell-May e Sommerfeld, 2020; Molnar *et al.*, 2021).

Este processo de inflamação também desencadeia proteínas como a ciclo-oxigenase 2 (COX-2), prostaglandina E2 (PGE2), além da liberação do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) os quais promovem dor, vasodilatação e angiogênese. Desta forma, induzem a um aumento do número e volume dos vasos sanguíneos da membrana sinovial com consequente edema e inchaço do tecido (Scher e Pillinger, 2009; Robins *et al.*, 2013; Woodell-May e Sommerfeld, 2020).

Paralelo a isso, os sinoviócitos do tipo B, tem sua produção de líquido sinovial prejudicada pelo processo inflamatório que, apesar de aumentar o volume de

secreção do fluido, possuem dificuldades em manter o líquido viscoso, o que consequentemente diminui a capacidade de lubrificação da articulação possibilitando maior estresse das estruturas articulares. A essa cadeia de acontecimentos, resulta o aspecto de joelho edemaciado (Hunter, 2015; Castrogiovanni *et al.*, 2019; Molnar *et al.*, 2021).

Além disso, o VEGF também estimula a infiltração de vasos sanguíneos no osso subcondral. Estes vasos penetram as camadas mais profundas da cartilagem concomitantemente à remodelação óssea desencadeada por citocinas pró-inflamatórias que, por ação *crosstalk*, estimula osteoclastos e osteoblastos a formação de osteófitos, cistos e esclerose do osso subcondral, além de contribuírem ao processo inflamatório por secretarem citocinas pró-inflamatórias (figura 3) (Glyn-Jones *et al.*, 2015; Iijima *et al.*, 2015; Kuyinu *et al.*, 2016).

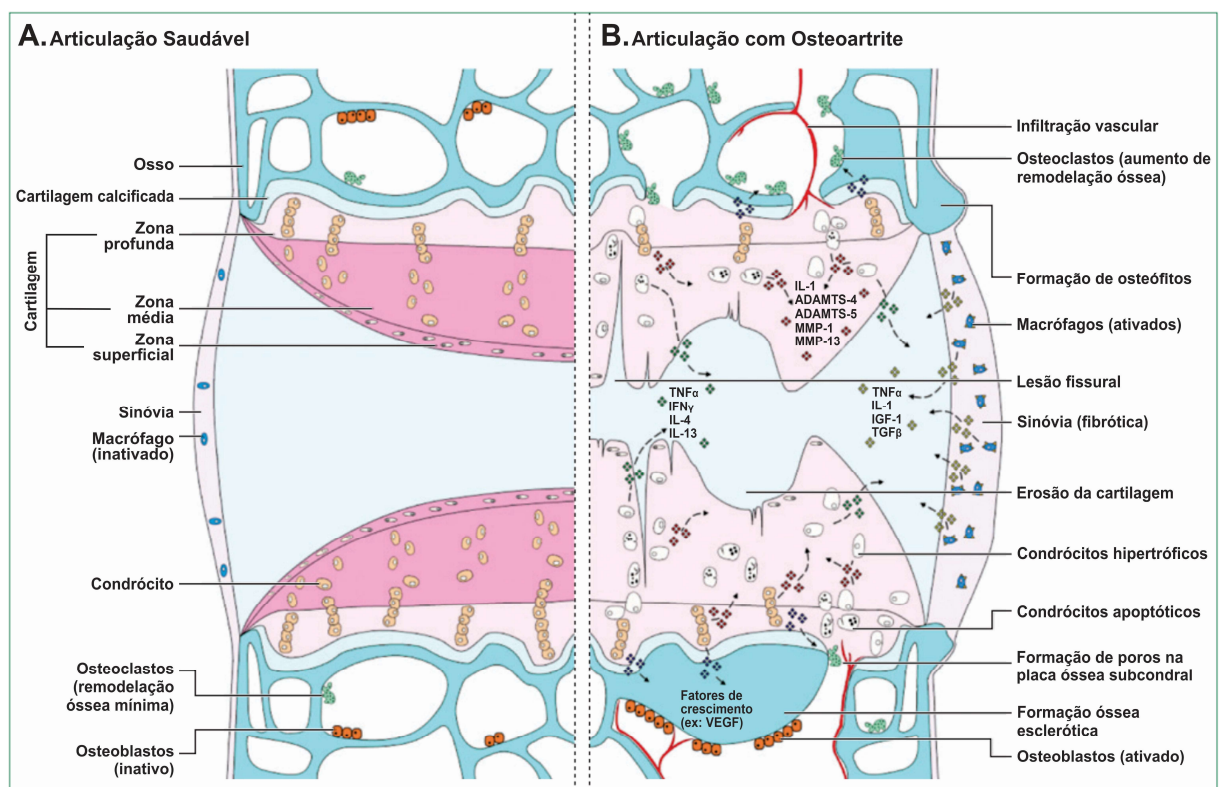


Figura 3: Estrutura articular do joelho e processo inflamatório.

Fonte: Adaptado de Glyn-Jones *et al.* (2015)

Outro mecanismo reconhecido do processo inflamatório da OA é o contato de sinoviócitos do tipo A residentes no ambiente articular com fragmentos do tecido lesado. Estes macrófagos identificam esses padrões moleculares associados ao dano (DAMP's) por meio de receptores *toll-like* (TLR) localizados em sua membrana, ativando fatores de transcrição como fator nuclear kappa B (NF-kB), que

subsequentemente se transloca ao núcleo e induz posterior secreção de citocinas pró-inflamatórias como IL1- β e o TNF- α (Lammert e Zeeb, 2014; Woodell-May e Sommerfeld, 2020).

Além disso, os sinoviócitos do tipo A ativados secretam quimiocinas, moléculas quimioatraentes, a fim de recrutar leucócitos ao local. Os neutrófilos são os primeiros a chegarem ao ambiente prejudicado, posteriormente compõem os macrófagos de fenótipo 1 (M1) e linfócitos T helper 1 (Th1) os quais irão estimular ainda mais expressão de citocinas pró-inflamatórias como INF- γ , IL1- β , IL6 e TNF- α , desencadeando um ciclo vicioso com mais processo pró-inflamatório e recrutamento de leucócitos ao local (figura 3) (Woodell-May e Sommerfeld, 2020).

1.4. OSTEOARTRITE E ESTRESSE OXIDATIVO

Doravante, a OA pode ser intimamente influenciada pelos processos de estresse oxidativo provenientes dos desequilíbrios de reações pró-oxidantes e antioxidantes que geram acúmulo de espécies reativas de oxigênio (ERO) (Zahan *et al.*, 2020; Setti *et al.*, 2021; Ding *et al.*, 2022). Por sua vez, as ERO são consideradas um significativo indutor de diversos fatores relacionados com a OA, tais como apoptose e senescência de condrócitos, inflamação sinovial, degradação da cartilagem, entre outros (figura 4) (Ding *et al.*, 2022).

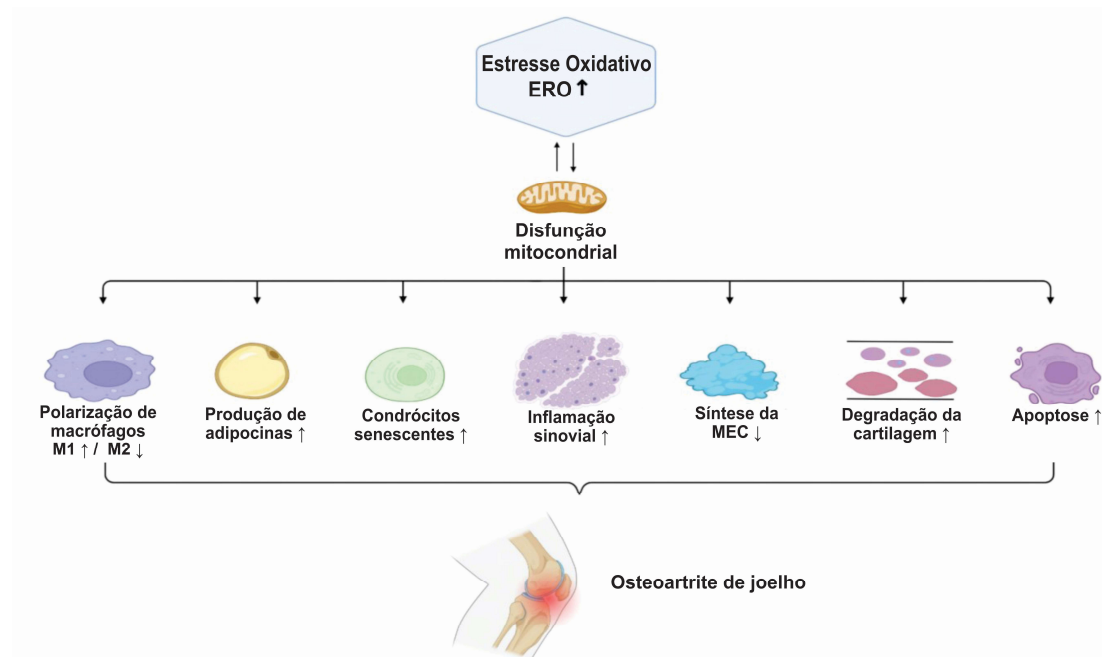


Figura 4: Interação de ERO com OA.

Fonte: Imagem adaptada de Ding *et al.* (2022)

As ERO são moléculas que, devido à sua instabilidade molecular, promovem reações de oxidação com outras moléculas, como proteínas, lipídios e DNA, a fim de se estabilizarem (Tromm *et al.*, 2011; Gomes *et al.*, 2012; Juan *et al.*, 2021; Fadilah *et al.*, 2023). Diversos fatores podem desencadear radicais livres e/ou ERO na OA. Em especial o complexo nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH) oxidase através dos próprios processos inflamatórios de fagocitose e, principalmente, na disfunção mitocondrial (figura 5) (Zahan *et al.*, 2020).

Em mitocôndrias, o processo disfuncional da fosforilação oxidativa gera a redução da molécula de oxigênio (O_2). Um elétron é ligado ao orbital da molécula de O_2 transformando-a no radical livre ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$) (Biswas, 2016; Zahan *et al.*, 2020; Juan *et al.*, 2021). Todavia $O_2^{\cdot-}$ poderá ser catalisado a partir da enzima antioxidante superóxido dismutase (SOD) gerando o peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Esta última é uma ERO menos agressiva que o $O_2^{\cdot-}$ e que consequentemente poderá ser neutralizada pela catalase (CAT) ao dissociar a molécula de H_2O_2 em água e oxigênio ($H_2O + O_2$), ou pela ação com glutathiona peroxidase (GPX) que catalisa a conversão de glutathiona reduzida (GSH) oxidando-a para glutathiona oxidada (GSSG) (Biswas, 2016; Zahan *et al.*, 2020; Setti *et al.*, 2021).

Entretanto, a molécula de H_2O_2 na presença das moléculas de ferro ou cobre, poderá ser dissociada pela reação de Fenton e gerar uma molécula de hidroxila ($OH^{\cdot-}$) e uma molécula de radical hidroxila ($OH^{\cdot}$). A primeira com 8 elétrons na sua órbita e a segunda com 7 elétrons na sua órbita, formando-se, mediante inexistência de um catalizador para a molécula de $OH^{\cdot-}$, um dos radicais livres mais agressivos aos tecidos (Biswas, 2016; Zahan *et al.*, 2020; Juan *et al.*, 2021).

Adicionalmente, a partir do dano aos tecidos da articulação, característico da OA, sinoviócitos do tipo A presentes no ambiente irão reconhecer estes DAMP's e secretar quimiocinas e citocinas pró-inflamatórias que realizarão o recrutamento de mais células fagocíticas. Isto é, neutrófilos e macrófagos capazes de gerar mais ERO e citocinas pró-inflamatórias fortificando um ciclo vicioso (Biswas, 2016; Zahan *et al.*, 2020; Setti *et al.*, 2021).

Em fagócitos, a NADPH oxidase é a principal fonte de ERO (Zahan *et al.*, 2020; Setti *et al.*, 2021). Normalmente este complexo é quiescente, porém após estimulação devido a eventos antimicrobianos e inflamatórios, componentes citosólicos translocam-se para a membrana plasmática do fagossoma para formar um complexo enzimático totalmente ativo (Gomes *et al.*, 2012; Zahan *et al.*, 2020; Setti *et*

al., 2021). Assim, a NADPH oxidase gera ERO através da transferência de elétrons do NADPH intracelular através do complexo ativo na membrana, acoplando-os ao O_2 presente no vacúolo do fagossoma, formando o $O_2^{\cdot-}$ (Gomes *et al.*, 2012; Robins *et al.*, 2013; Zahan *et al.*, 2020; Setti *et al.*, 2021).

Paralelamente, a enzima óxido nítrico sintase (NOS), especialmente a isoforma óxido nítrico sintase induzível (iNOS), estimula a produção do radical livre óxido nítrico ($NO^{\cdot}$) a partir da oxidação da L-arginina em L-citrulina. Por sua vez, $NO^{\cdot}$ interage com a molécula de $O_2^{\cdot-}$ formando peroxinitrito ($ONOO^-$) para auxiliar a eliminar o conteúdo do fagossoma. Este último faz parte das espécies reativas de nitrogênio (ERN), uma família de moléculas derivadas de $NO^{\cdot}$ e $O_2^{\cdot-}$ que são responsáveis pelo estresse nitrosativo e atuam junto com as ERO no processo de dano celular da OA (Zahan *et al.*, 2020; Juan *et al.*, 2021).

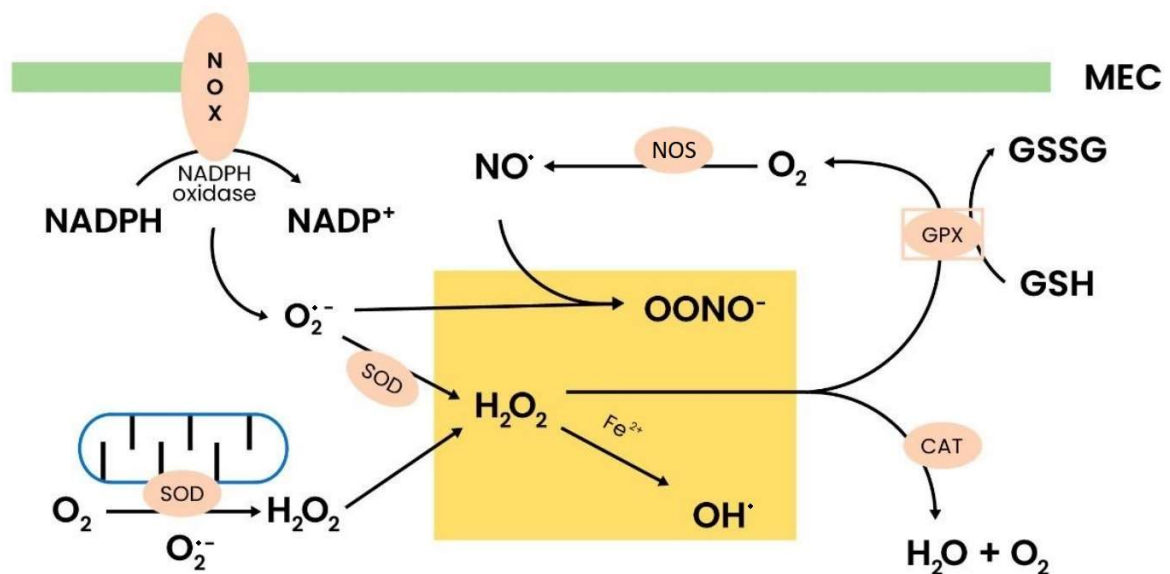


Figura 5: Principais mecanismos de formação de ERO na OA.

Fonte: Imagem adaptada de Zahan *et al.* (2020)

Todavia, para minimizar o dano oxidativo mediado pelas ERO/ERN, sistemas antioxidantes são envolvidos. Antioxidantes enzimáticos como SOD, CAT e GPX, fornecem maior proteção contra o estresse oxidativo, neutralizando ou eliminando espécies reativas (Gomes *et al.*, 2012; Biswas, 2016; Zahan *et al.*, 2020).

Além disso há os antioxidantes não enzimáticos como vitaminas C e E, carotenoides, ácido úrico, entre outros que também podem contribuir para anular os efeitos das ERO (Gomes *et al.*, 2012; Biswas, 2016). Somado a isso, transferrina, ceruloplasmina e albumina indiretamente também podem desempenhar papel

antioxidante haja vista que sequestram íons de metais de transição, como ferro e cobre, pois estes metais reagem rapidamente com H_2O_2 para produzir $OH\cdot$ altamente tóxico (Biswas, 2016).

Desta forma, a carência de enzimas antioxidantes ou os processos demasiados que propiciam maior volume de ERO/ERN, são aspectos que induzem o desenvolvimento da OA. Por sua vez, esse desbalanço resulta na geração de estresse oxidativo que desencadeia necrose e apoptose de condrócitos, diminuição da produção de colágeno e agreganos e promoção de processos inflamatórios e de degradação da cartilagem (Biswas, 2016; Zahan *et al.*, 2020; Setti *et al.*, 2021).

1.5. EXERCÍCIO FÍSICO COMO TRATAMENTO PARA OSTEOARTRITE

Dentre os tratamentos existentes para OA, a literatura evidencia o exercício físico como uma das principais e mais fortes indicações de medidas para proteção e controle à progressão da OA (Kolasinski *et al.*, 2020). O exercício manifesta uma complexa rede de respostas metabólicas provenientes de sua prática dentre os quais seus benefícios são geralmente associados a respostas antioxidantes e anti-inflamatórias (Gleeson *et al.*, 2011; Allen *et al.*, 2015; Benatti e Pedersen, 2015).

Durante a contração muscular, o exercício induz o aumento do consumo de energia estimulando maior produção mitocondrial de adenosina trifosfato (ATP), molécula capaz de fornecer energia a partir da dissociação de ligações de fosfato. Para sua sintetização, por meio da via oxidativa primária (glicolítica), o ciclo de Krebs gera equivalentes redutores como NADH e $FADH_2$, que por sua vez, irão transferir elétrons para a cadeia transportadora de elétrons (CTE) a fim de promover a fosforilação oxidativa e geração de ATP (Ryan *et al.*, 2019).

No decorrer da fosforilação oxidativa, os elétrons utilizados no bombeamento de prótons para o espaço intermembranoso da mitocôndria, são liberados pelo complexo IV para a matriz mitocondrial, tendo o oxigênio como aceptor final. Consequentemente este oxigênio se dissocia em duas moléculas, ligando-se cada uma a duas moléculas de hidrogênio formando H_2O (Ryan *et al.*, 2019). Porém o extravasamento de elétrons entre os complexos I a III, propicia que parte do oxigênio disponível na mitocôndria seja convertido em ERO (Tromm *et al.*, 2011; Gomes *et al.*, 2012; Zahan *et al.*, 2020).

Desta forma, quanto maior o consumo energético do exercício, possivelmente maior será a quantidade de ERO (Tromm *et al.*, 2011; Gomes *et al.*, 2012). Contudo, para neutralizar o aumento destes oxidantes, simultaneamente mecanismos antioxidantes são acionados. Na presença de ERO, o fator eritróide nuclear 2 (Nrf2) no citosol é desassociado da proteína 1 associada à ECH semelhante a kelch (Keap1), ao qual no núcleo estimula respostas antioxidantes (de Sire *et al.*, 2021). Somado a isso, o exercício regular mediante os frequentes estímulos supracitados, melhoram o condicionamento das defesas antioxidantes auxiliando na manutenção do equilíbrio redox (da Silva *et al.*, 2009; Tromm *et al.*, 2011; Gomes *et al.*, 2012).

Ademais, durante a execução do exercício físico, miócitos realizam a liberação da citocina IL6. Esta interleucina é a primeira citocina detectável no sangue a partir do músculo esquelético em contração e induz um aumento subsequente na produção do receptor antagonista de IL1- β (IL1-RA) e IL10 por células mononucleares do sangue (figura 6) (Gleeson *et al.*, 2011; Allen *et al.*, 2015; Benatti e Pedersen, 2015; Castrogiovanni *et al.*, 2019).

A IL1-RA se liga ao mesmo receptor de IL1- β , porém sem desencadear respostas subseqüentes, desta forma inibe os efeitos pró-inflamatórios da IL1- β ao impedir sua ligação com seu receptor (Allen *et al.*, 2015; Woodell-May e Sommerfeld, 2020). Já a IL10, a literatura sugere que possua como principal função a regulação negativa das respostas imunes adaptativas e a minimização do dano tecidual induzido pelos efeitos pró-inflamatórios (Gleeson *et al.*, 2011). Além disto, embora o TNF- α estimule a produção de IL6 em macrófagos (efeito pró-inflamatório), a IL6 liberada pela contração muscular induz um feedback negativo inibindo a produção de TNF- α (efeito anti-inflamatório) (Benatti e Pedersen, 2015).

Adicionalmente, o exercício é relacionado ao controle dos níveis de gordura visceral, inibição da infiltração de macrófagos no tecido adiposo, assim como de mudanças fenotípicas destas células (Gleeson *et al.*, 2011). Portanto, colabora na diminuição de adipocinas, citocinas associadas à inflamação crônica de baixo grau derivadas do tecido adiposo (Gleeson *et al.*, 2011; Ouchi *et al.*, 2011; Wu *et al.*, 2020).

Além disso, a literatura retrata que o exercício pode auxiliar na regulação negativa da expressão de receptores de membrana TLR em monócitos e macrófagos (Gleeson *et al.*, 2011; Allen *et al.*, 2015). Ou seja, pode diminuir processos pró-

inflamatórios haja vista que em macrófagos a IL1- β e o TNF- α são regulados principalmente pela cascata de sinalização a partir de receptores TLR que resulta em ativação e translocação nuclear de NF- κ B (Gleeson *et al.*, 2011; Allen *et al.*, 2015; Benatti e Pedersen, 2015).

Ainda que o estímulo fisiológico do exercício para a regulação negativa da ativação de TLR's não seja totalmente conhecido, estudos relatam que comparações entre indivíduos fisicamente ativos e inativos, evidenciaram que monócitos de indivíduos fisicamente ativos possuem resposta inflamatória reduzida à estimulação de endotoxinas *in vitro* (Flynn e McFarlin, 2006; Gleeson *et al.*, 2006; Gleeson *et al.*, 2011). Essas células também apresentaram diminuição da expressão de TLR4, que está associado à diminuição da produção subsequente de citocinas inflamatórias (Lancaster *et al.*, 2005; Gleeson *et al.*, 2011).

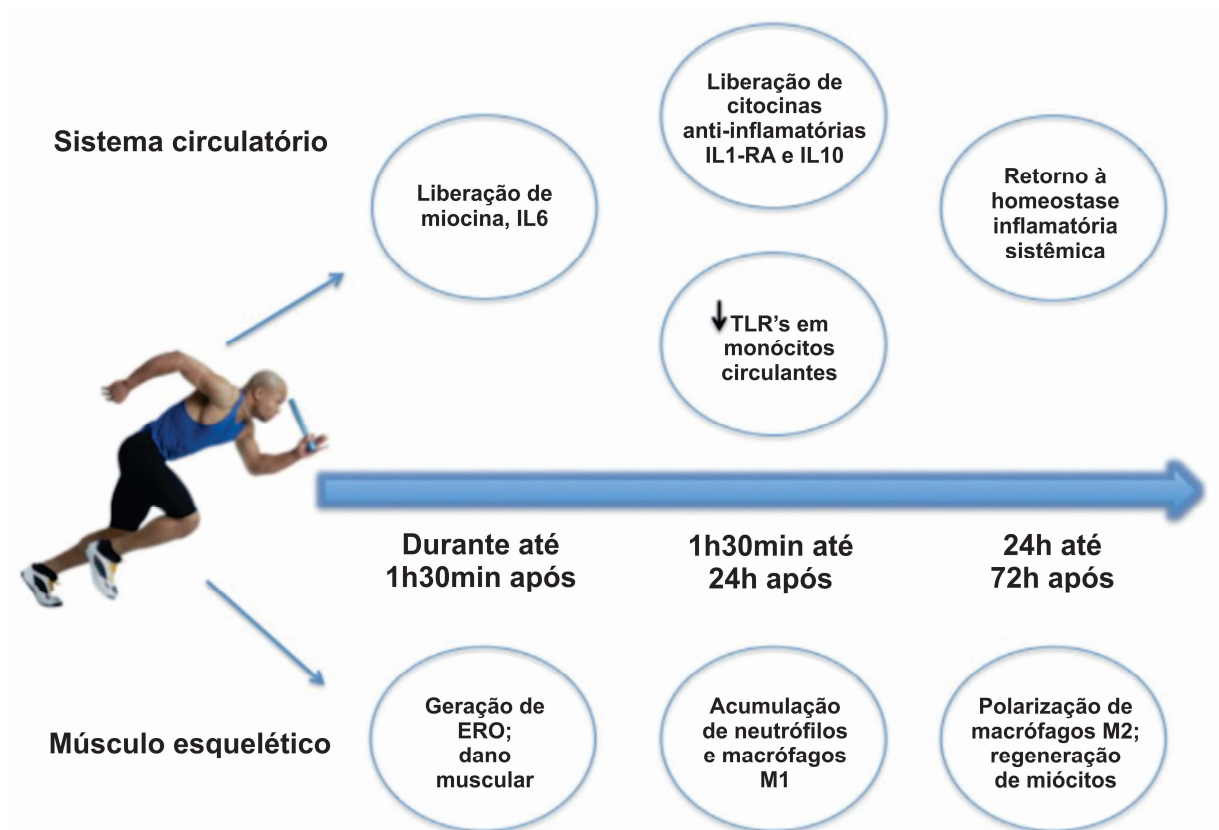


Figura 6: Efeito do exercício agudo sobre o músculo esquelético e a inflamação sistêmica.

Fonte: Imagem adaptada de Allen *et al.* (2015)

Somado a isso, a literatura também tem reportado outros benefícios do exercício sobre a OA, tais como (Iijima *et al.*, 2016a; Castrogiovanni *et al.*, 2019):

- Redução de peso corporal, diminuindo a sobrecarga sobre a articulação;
- Fortalecimento muscular, os músculos ao entorno da cápsula articular auxiliam na firmeza da estrutura evitando instabilidades;
- Perfusão do líquido sinovial, a cartilagem é avascular e sua principal fonte de nutrientes é o líquido sinovial, logo o exercício em proporções adequadas promove melhor troca de substâncias entre os meios;
- Aumento da expressão de lubricina, o exercício está associado ao aumento da expressão deste proteoglicano localizado na superfície da cartilagem e no líquido sinovial;
- Aumento da expressão de fatores de crescimento como às proteínas morfogênicas ósseas (BMP's), especialmente BMP2, BMP4 e BMP6, responsáveis por diversos aspectos anabólicos que contribuem para reparação tecidual.

Consequentemente vários estudos têm recomendado o exercício físico com intensidade moderada para o tratamento da OA, ao passo que, já é possível encontrar um posicionamento mais consolidado quanto a este aspecto (Gleeson *et al.*, 2011; Allen *et al.*, 2015; Benatti e Pedersen, 2015; Febbraio, 2017; Iijima *et al.*, 2017; Castrogiovanni *et al.*, 2019; Cerqueira *et al.*, 2020; Metsios *et al.*, 2020; Chow *et al.*, 2022; da Silva *et al.*, 2023). Porém o conhecimento sobre a eficácia da frequência com o qual deve ser realizado estes exercícios se apresenta obscuro na literatura.

Tanto que, em meados de 2021 foi realizada uma pesquisa na base de dados PubMed – MEDLINE, usando descritores *MESH* como “*Osteoarthritis AND Exercise*” e filtros como “*Other animals*” e “*10 years*”, ao qual foi possível encontrar 81 artigos. Ao realizar a leitura dos títulos e resumos foram selecionados 43 artigos que, após leitura na íntegra, resultou em 38 trabalhos que condiziam com os critérios de elegibilidade (artigos que associavam modelos animais de OA de joelho com exercício físico na última década). Foi averiguado que nenhum dos 38 estudos encontrados analisou o efeito de diferentes frequências semanais do exercício sobre OA (apêndice A).

Além disso, foi verificado que não existe um consenso quanto à frequência da prática de exercícios aplicada: primeiro porque os artigos usaram diversas frequências diferentes, desde 3x/semana a 7x/semana; e segundo porque a grande maioria não explicava os motivos da escolha das frequências utilizadas (Beckett *et al.*, 2012; Moriyama *et al.*, 2012; Kim *et al.*, 2013; Siebelt *et al.*, 2013; Yamaguchi *et al.*, 2013; Boudenot *et al.*, 2014; Siebelt *et al.*, 2014; Assis *et al.*, 2015; Cruz *et al.*, 2015; Iijima *et al.*, 2015; Assis *et al.*, 2016; Iijima *et al.*, 2016a; Iijima *et al.*, 2016b; Liu *et al.*, 2016; Milares *et al.*, 2016; Miyatake *et al.*, 2016; Tomazoni *et al.*, 2016; Al-Hashem *et al.*, 2017; Allen *et al.*, 2017; Cormier *et al.*, 2017; Gronau *et al.*, 2017; Iijima *et al.*, 2017; Tomazoni *et al.*, 2017; Yang *et al.*, 2017; Almonte-Becerril *et al.*, 2018; Assis *et al.*, 2018; Ma *et al.*, 2018; Castrogiovanni *et al.*, 2019; Peng *et al.*, 2019; Son *et al.*, 2019; Szychlińska *et al.*, 2019; Tsai *et al.*, 2019; Zhang *et al.*, 2019; Chen *et al.*, 2020; Griffin *et al.*, 2020; Takada *et al.*, 2020; Fang *et al.*, 2021; Tian *et al.*, 2021).

A mesma carência de informações se repetiu em estudos de revisão da mesma temática e que avaliaram artigos anteriores a última década. Nestas revisões o principal desfecho se baseava na intensidade do exercício físico (Bricca *et al.*, 2016; Bricca *et al.*, 2017; Mazor *et al.*, 2019; Andrea Vargasa *et al.*, 2020).

Em vista disso, estudos precisam ser realizados para melhor elucidar a influência do exercício sobre esta patologia (Mazor *et al.*, 2019). Todavia, a avaliação fisiopatológica da OA em humanos possui alguns impeditivos como análises teciduais e de desencadeamento e controle patológico. Assim, modelos animais que mimetizem suas características, são mais indicados para alcançar resultados que possam se aproximar da realidade da doença (Thote *et al.*, 2013).

1.6. MODELO ANIMAL DE INDUÇÃO DA OSTEOARTRITE

Diante do exposto, este estudo destaca o modelo de injeção intra-articular por monoiodoacetato de sódio (MIA), substância que atua inibindo a via aeróbia da glicólise celular, consequentemente induzindo a morte celular ao inibir a atividade da gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase nos condrócitos. O início das lesões articulares com este modelo é rápido e generalizado, podendo ser observadas lesões histológicas e processo inflamatório agudo logo no 1º a 3º dia após a injeção de MIA (Kuyinu *et al.*, 2016; Serra e Soler, 2019).

A literatura indica que o modelo de MIA é eficaz para induzir OA em experimentos animais, de modo que sua efetividade é explicada por (McCoy, 2015; Kuyinu *et al.*, 2016; Jacobs *et al.*, 2017; Kim *et al.*, 2018; Serra e Soler, 2019):

- Mimetizar parâmetros estruturais de modo abrangente, pois ao causar a morte de células especializadas como condrócitos, estimulará uma série de respostas catabólicas como o aumento de MMP e consequente perda de conteúdo da MEC, provocando alterações estruturais como a redução da espessura de cartilagem, formação de osteófitos e redução do espaço intra-articular;
- Induz parâmetros inflamatórios associados com estresse oxidativo de modo que a morte celular provocada pela substância injetada, dará início a processos pró-inflamatórios mediados principalmente por citocinas como IL1- β e TNF- α e de estresse oxidativo, causando inchaço e aumento de temperatura no local da articulação, consequentemente favorecendo à diminuição da mobilidade articular, característica da patologia;
- Promover dor localizada que pode ser visualizada pela marcha antálgica, característico de OA humana unilateral.

Além disso, dentre as características do modelo proposto, estão relacionadas: a eliminação da necessidade de cirurgia e consequentemente de possíveis infecções relacionadas que possam prejudicar os animais e o próprio modelo; são menos invasivos que modelos mecânicos; facilidade de manejo de animais para indução; podem mimetizar OA em menor espaço de tempo; possuem alta reprodutibilidade, ou seja, possui menor variação da aplicabilidade do modelo; é menos suscetível à vieses de indução por se tratar de um modelo relativamente mais simples, enquanto que modelos mais complexos, estão mais suscetíveis a erros na indução, como por exemplo, modelos cirúrgicos que exigem maior gama de procedimentos (McCoy, 2015; Kuyinu *et al.*, 2016; Kim *et al.*, 2018).

Adicionalmente, o crescente aumento de uso deste modelo indica melhores possibilidades comparativas entre estudos, podendo levar a tomadas de decisões mais assertivas sobre abordagens relacionadas (McCoy, 2015; Kuyinu *et al.*, 2016; Kim *et al.*, 2018). Portanto, mediante todos os aspectos relatados, este trabalho teve como intuito estudar os efeitos de diferentes frequências de exercício moderado sobre

a OA de joelho em ratos Wistar, induzida por um composto químico (MIA) em modelo animal.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Analisar o efeito de diferentes frequências de exercício físico moderado em esteira como tratamento da OA de joelho induzida por MIA em ratos Wistar.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Averiguar o ganho de peso dos animais submetidos ao experimento mediante pesagem durante período de treinamento;
- Detectar níveis de enzimas do ciclo de Krebs citrato sintase e succinato desidrogenase, além de enzimas da cadeia transportadora de elétrons (complexo I e II) em amostras de gastrocnêmio da pata traseira direita;
- Verificar a produção de oxidantes (DCF e Nitrito), sistema de defesa antioxidante (SOD e GSH) e danos oxidativos (carbonil e sulfidril) em amostras intra-articulares do joelho direito;
- Identificar níveis de citocinas pró-inflamatórias TNF- α , IL1- β e IL6 em amostras intra-articulares do joelho direito;
- Identificar níveis de citocinas anti-inflamatórias IL4 e IL10, além do fator de crescimento como TGF- β , em amostras intra-articulares do joelho direito;
- Verificar a expressão gênica de metaloproteinases de matriz 13 (MMP13) e proteína morfogênica óssea 2 (BMP2) em amostras intra-articulares do joelho direito;
- Registrar imagens macro dos tecidos articulares do platô tibial e do côndilo femoral do joelho direito;
- Analisar a histologia dos tecidos da cartilagem do platô tibial e do côndilo femoral do joelho direito, tal como: grau de lesão da cartilagem, quantificação de condrócitos, espessura da cartilagem e medida de superfície de contato.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. PROCEDIMENTOS ÉTICOS

O presente estudo foi submetido a avaliação da Comissão Ética para Uso de Animais (CEUA) da Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC, sendo aprovado conforme parecer em anexo, no dia 22 de fevereiro de 2022, sob o número protocolar 083/2021, com todos os procedimentos em conformidade com as diretrizes brasileiras para uso de animais com propósitos científicos e didáticos (Lei 11.794, DOU 27/5/13, MCTI, p.7). Salienta-se ainda que todas as experiências com uso de animais foram baseadas em conformidade com as diretrizes ARRIVE (Percie du Sert *et al.*, 2020).

3.2. ANIMAIS

Este trabalho contou com a utilização de 60 ratos Wistar machos com 2 meses de idade, pesando entre 200 a 300 g, provindos da colônia de reprodução do Biotério da Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC. Todos os animais foram alojados em caixas de plástico específicas acomodando 4 a 5 ratos. Estas caixas (gaiolas) continham aproximadamente 30 cm de comprimento x 20 cm de largura x 13 cm de altura. Possuíam na base interior revestimento com maravalha e na parte superior grade em metal para circulação de ar, inspeção, armazenamento de comida e mamadeiras de água. As caixas foram mantidas em local com climatização controlada de $21 \pm 1^{\circ}\text{C}$, ciclo claro-escuro de 12/12h. Foi fornecido aos ratos dieta padrão para roedores e água do sistema hidráulico da instituição de forma *ad libitum*.

Para o experimento, os animais foram divididos randomicamente em 4 grupos contendo 14 a 16 animais conforme descrito a seguir:

- Controle (sham): n=14
- Osteoartrite (OA): n=14
- Osteoartrite + exercício físico moderado 3x por semana em dias alternados (OA + 3x): n=16
- Osteoartrite + exercício físico moderado 5x por semana em dias consecutivos (OA + 5x): n=16

Os grupos com intervenção foram acrescidos de 2 animais por grupo ((14+2=16) = (+14%)) para suprir eventuais perdas ou não adaptação ao protocolo. Na ocorrência de não haver circunstâncias excludentes dos animais acrescidos, tal como sofrimento e/ou ausência de adaptação ao exercício, seriam mantidos nos cálculos do estudo. Todavia conforme esperado, dos 60 animais envolvidos no experimento, 2 em cada grupo de exercício foram excluídos mediante inaptidão para realização dos movimentos de caminhada em esteira. Desta forma os resultados apresentados são organizados a partir de um n de 56 ratos subdivididos igualmente em 14 animais cada grupo.

3.3. MODELO DE OSTEOARTRITE

Para indução de OA por injeção intra-articular de MIA, os ratos foram anestesiados com isoflurano 4%, colocados em decúbito dorsal, joelhos foram flexionados e tricotomizados, limpados assepticamente e realizada a inserção da injeção através da região medial adjacente ao ligamento infrapatelar do joelho direito (figura 7).

Este procedimento foi realizado com injeção intra-articular em dose única de 1,5mg de MIA (Sigma-Aldrich corporation, lote:#SLCK0393) diluído em 50 μ l de solução salina 0.9% conforme Yamada *et al.* (2019). No grupo controle foi realizada aplicação de solução salina no joelho direito seguindo o mesmo procedimento anterior.

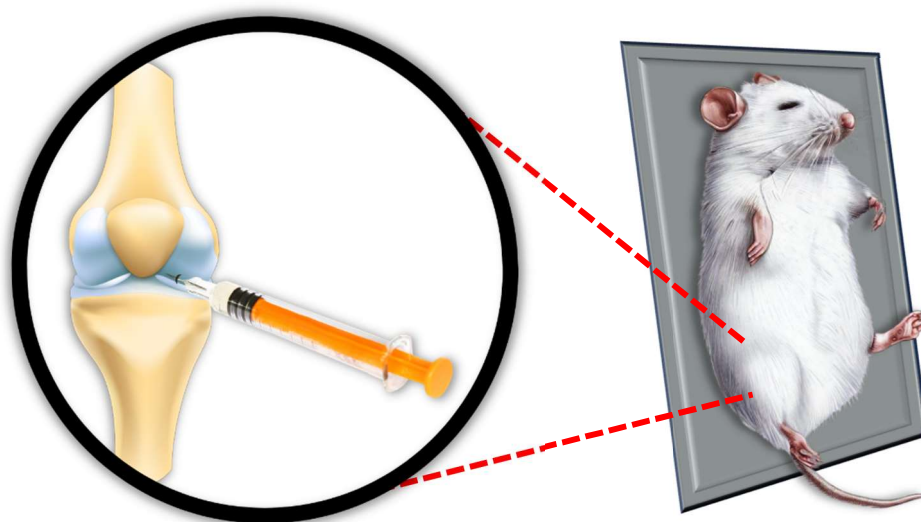


Figura 7: Imagem ilustrativa do modelo de indução de OA por injeção intra-articular de MIA.
Fonte: Própria autoria

O preparado com MIA foi realizado no dia de indução da OA e reservado em tubo de falcon para o subsequente procedimento de aplicação. Foram utilizadas seringas com ponta fixa e capacidade para 500 μ l, comumente usadas para administração de insulina. Para melhor controle da quantidade injetada, a cada aplicação era aspirado pela seringa no tubo de falcon, a dosagem de 50 μ l do preparado.

3.4. PROTOCOLOS DE EXERCÍCIO FÍSICO

Para a prática de exercícios físicos, foi utilizada uma esteira motorizada Insight (modelo EP-131, Ribeirão Preto, SP, Brasil) composta por 6 baias individuais com altura de 15 cm, largura interna de 10 cm e comprimento de 50 cm (figura 8). Equipamento conta com regulador digital de velocidade, tempo e unidade de medida (cm/s ou m/min), além de painel com visor digital indicando velocidade, tempo e distância percorrida. Também possui barra para ajuste manual da inclinação, carenagem em acrílico e grade de eletroestimulação no fundo de cada baia com controlador no painel.

Para forçar os animais a realizarem os exercícios, salienta-se que não foi utilizado a grade de eletroestimulação do equipamento, em contrapartida optou-se pela utilização de bolinhas de tênis que quando colocadas atrás dos ratos, os estimulavam por toque e por sons a seguir no curso da esteira (figura 8).

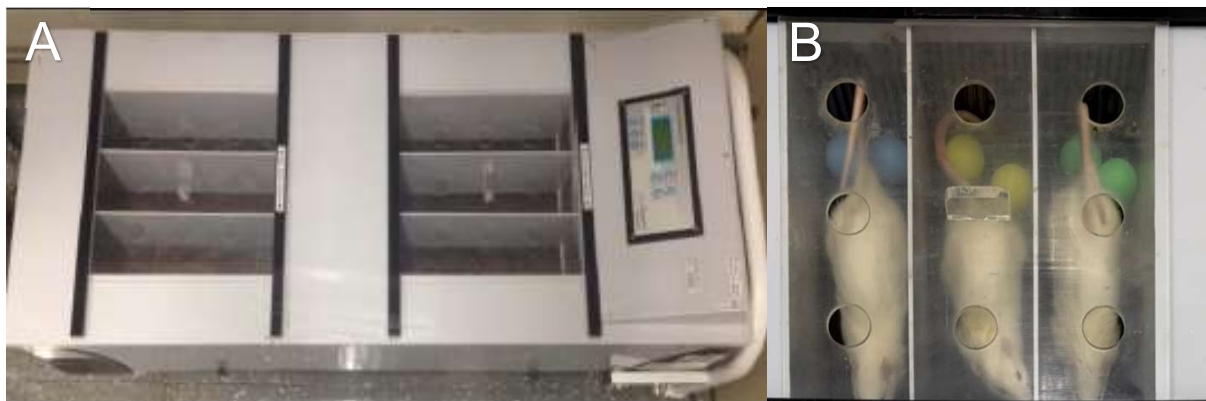


Figura 8: Instrumento para realização dos protocolos de exercício. Em A, esteira usada para a prática de exercícios por ratos wistar. Em B, execução de exercício em esteira com utilização de bolinhas de tênis para estímulo de animais.

Fonte: Própria autoria

No 15º dia após aplicação intra-articular de MIA, iniciou-se a terapia com exercícios aeróbios de intensidade moderada onde os animais foram submetidos a dois tipos de intervenção:

- Exercício físico em esteira 3x por semana em dias alternados (OA+3x) (figura 9).
 - Período de adaptação: 4 dias de exercício a uma velocidade de 10 m/min, sem inclinação e com progressão de tempo (1º dia: 10 min, 2º dia: 15 min, 3º dia: 20 min e 4º dia: 25 min);
 - Período de treinamento: 8 semanas de duração, realizado sem inclinação, 30 min/dia, a uma velocidade de 13 m/min nas primeiras 4 semanas de treinamento e velocidade de 16 m/min nas semanas subsequentes, que conforme Leandro *et al.* (2007), seria o equivalente a aproximadamente 50-60% do $VO_{2máx}$.
- Exercício físico em esteira 5x por semana em dias consecutivos (OA+5x) (figura 9).
 - Período de adaptação: 4 dias de exercício a uma velocidade de 10 m/min, sem inclinação e com progressão de tempo (1º dia: 10 min, 2º dia: 15 min, 3º dia: 20 min e 4º dia: 25 min);
 - Período de treinamento: 8 semanas de duração, realizado sem inclinação, 30 min/dia, a uma velocidade de 13 m/min nas primeiras 4 semanas de treinamento e velocidade de 16 m/min nas semanas subsequentes, que conforme Leandro *et al.* (2007), seria o equivalente a aproximadamente 50-60% do $VO_{2máx}$.

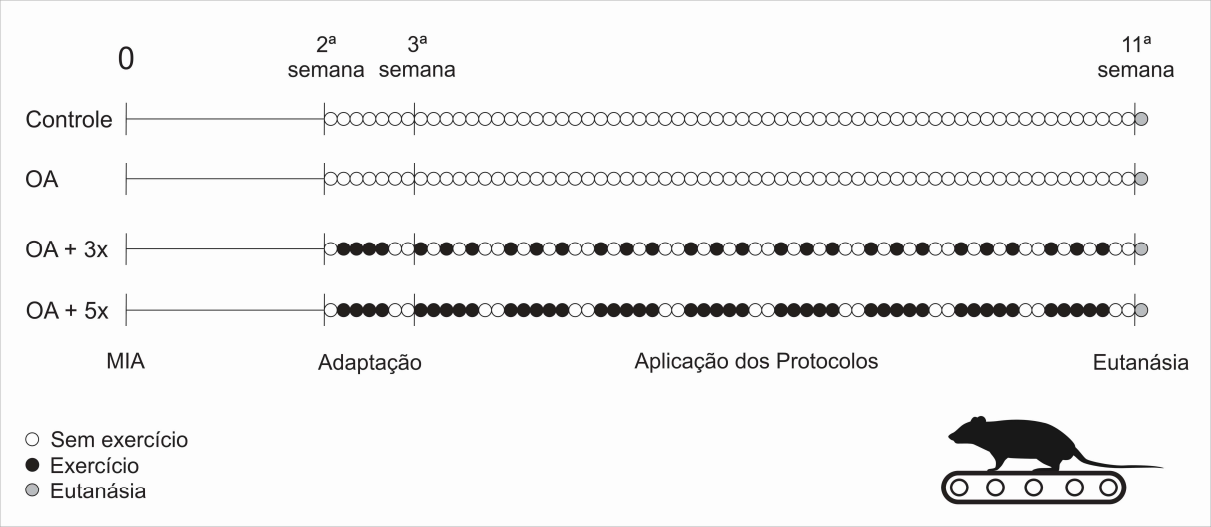


Figura 9: Protocolo de frequência de exercícios em esteira.
Fonte: Própria autoria

Este protocolo de exercício, resumido e exposto logo abaixo na tabela 1, foi baseado em Cifuentes *et al.* (2010), e adaptado a partir de análises de revisões sobre exercícios e modelos animais de OA (Bricca *et al.*, 2016; Bricca *et al.*, 2017; Mazor *et al.*, 2019; Andrea Vargasa *et al.*, 2020), de dados elencados na tabela do apêndice A que mostra um conjunto de artigos que também relacionam exercícios e modelos animais de OA, além da síntese destas informações conforme apêndice B.

Tabela 1: Tabela resumo do protocolo de exercício físico moderado em esteira

Semana	Frequência (semanal)	Tempo (min)	Velocidade (m/min)
Adaptação	4x	10 a 25	10
1	3x ou 5x	30	13
2	3x ou 5x	30	13
3	3x ou 5x	30	13
4	3x ou 5x	30	13
5	3x ou 5x	30	16
6	3x ou 5x	30	16
7	3x ou 5x	30	16
8	3x ou 5x	30	16

Fonte: Adaptado de Cifuentes *et al.* (2010)

Segundo revisão realizada por Mazor *et al.* (2019), destaca-se que períodos de intervenção com velocidade de 18 m/min possuem mudanças morfológicas positivas quando implementados entre 3 a 4 semanas. Porém períodos de intervenção maiores, recomenda-se velocidades menores como 13 a 15 m/min.

Em adição, dados apontados nos artigos do apêndice A e sintetizados no apêndice B, ilustram que a maioria dos protocolos que visam o tratamento da OA por meio do exercício moderado, realizam velocidades entre 12 a 18 m/min, tempo de 30 min, período de 8 semanas e frequências entre 3 a 5x/semana. Dessa forma, tentou-se organizar o protocolo deste estudo de modo que ficasse alinhado com as principais características encontradas na literatura para o uso do exercício como terapia da OA.

3.5. EUTANÁSIA

Após a intervenção com treinamento físico, os animais foram anestesiados com isoflurano 4% e conduzidos à guilhotina para eutanásia. Posteriormente os tecidos intra-articulares e do músculo gastrocnêmio da pata posterior direita foram removidos e acondicionados em freezer -80 °C para análises subsequentes.

Para realização das análises metabólicas, foram designadas de cada grupo 6 amostras de músculo gastrocnêmio. Nas avaliações bioquímicas e moleculares, utilizou-se de cada grupo 9 amostras de tecidos intra-articulares (todos os tecidos intracapsulares da articulação). Destas 9, antes da homogeneização, foram selecionadas randomicamente 3 amostras de cada grupo para realização de imagens macro do platô tibial e côndilo femoral, depois foram reencaminhadas para serem homogeneizadas. Para as avaliações histológicas, foram utilizadas 5 amostras de cada grupo contendo a epífise óssea femoral distal com a superfície cartilaginosa, epífise óssea tibial proximal com a superfície cartilaginosa, além dos meniscos.

3.6. DESCARTE DE MATERIAL

Posteriormente à eutanásia, os animais foram acondicionados em sacos plásticos brancos leitosos devidamente identificados como “lixo infectante” e encaminhados ao freezer de resíduos do biotério da instituição. Todos os procedimentos conforme RDC nº 306/2004 da ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária).

3.7. ANÁLISES

3.7.1. Avaliação de ganho de peso

Para pesagem dos animais, foi utilizada uma balança com escala em miligramas e um recipiente cônico de contenção. O recipiente foi colocado sobre a balança, realizada a tara e posteriormente colocado os animais individualmente no recipiente para avaliação do peso. Como forma de acompanhamento, as pesagens foram realizadas todas as semanas a partir do início do período de treinamento e para avaliação do ganho de peso foi computada a subtração do peso final pelo peso inicial de cada animal. Os resultados foram expressos em gramas.

3.7.2. Atividade metabólica

Os tecidos do músculo gastrocnêmio (n-6 animais/grupo) foram homogeneizados com tampão SETH (250 mM sacarose, 2 mM EDTA, 10 mM Trisma base, 50 IU/ml heparina), pH 7,4. O homogenato foi centrifugado a 3000 RPM por 10 minutos e o sobrenadante foi mantido a -80 °C até a realização das análises.

3.7.2.1. Citrato sintase

Foi avaliado em um meio de incubação contendo 5,5-ditiobis-(ácido 2-nitrobenzóico) (DTNB) 0,1 mM, ácido oxaloacético 0,2 mM, Triton X-100 0,1 % e acetil-CoA 0,1 mM, em um tampão Tris-HCl 100 mM, pH 8,0. A redução do DTNB a ácido 2-nitro-5-tiobenzóico (TNB) foi medida espectrofotometricamente a 412 nm por 3 minutos a 37°C (Srere, 1969). A atividade foi expressa em nmol.min⁻¹.mg proteína⁻¹.

3.7.2.2. Succinato desidrogenase

Para a medida da atividade da enzima succinato desidrogenase, ao meio de incubação contendo tampão fosfato de potássio 62,5 mM pH 7,4, Triton X-100 0,1 %, succinato de sódio 1 mM e 2,6-dicloroindofenol (DCIP) 9 µM, foi adicionado amostra contendo cerca de 80 a 140 µg de proteína. Os sistemas foram pré-incubados por 30 minutos a 30°C em banho-maria e, após, ocorreu a adição de azida sódica 4,3

mM, rotenona 7 μ M, metassulfato de fenazina 1 mM e DCIP 42 μ M. A redução do DCIP foi determinada em 600 nm durante 5 minutos a 25°C (Fischer *et al.*, 1985). A atividade foi expressa em nmol.min⁻¹.mg proteína⁻¹.

3.7.2.3. Complexo I

Ao meio contendo tampão fosfato de potássio (100 mM, pH 7,4) e proteínas do homogeneizado foram adicionados NADH 14mM, rotenona 1,0 mM e ferrocianeto (FeCN 10 mM). As absorbâncias foram registradas por 3 minutos a 420nm a 25 °C. A atividade do complexo I foi medida através da taxa de NADH-dependente da redução do ferricianeto, que pode ser observada pela diminuição da absorbância (Cassina e Radi, 1996). Os dados foram apresentados em nmol/min⁻¹.mg protein⁻¹.

3.7.2.4. Complexo II

O meio de incubação foi constituído de fosfato de potássio (40 mM, pH 7,4), succinato de sódio (16 mM) e DCIP (8 μ M) e as proteínas do homogeneizado incubados a 30°C por 20 minutos. Depois, foi adicionado ao meio 4 mM de azida sódica e 7 mM de rotenona e a reação iniciou com adição de 40 mM de DCIP. As absorbâncias foram registradas por 5 minutos a 600 nm. A atividade do complexo II foi medida pela diminuição da absorbância causada pela redução do 2,6-dicloroindofenol (Fischer *et al.*, 1985). Os dados foram apresentados em nmol/min⁻¹.mg protein⁻¹.

3.7.3. Oxidantes

3.7.3.1. DCFH-DA

Os níveis de 2,7-diclorofluoresceína oxidada (DCF) (n-9 animais/grupo) foram monitorados em amostras incubadas com 10 mM diacetato de 2',7'-diclorodihidrofluoresceína (DCFH-DA) a 37 °C por 30 minutos. A formação de derivados fluorescentes oxidados foi monitorada em comprimentos de onda de excitação e emissão de 488 e 525nm, respectivamente, usando um espectrofotômetro de fluorescência. Uma curva padrão DCF foi medida usando 10 mM DCF como um

controle interno no experimento, e os resultados são expressos como intensidade de fluorescência (Wang *et al.*, 1999).

3.7.3.2. Indicador da formação de óxido nítrico (NO·)

A produção de NO· (n-9 animais/grupo) foi avaliada espectrofotometricamente através do metabolito estável nitrito. Para mensurar o conteúdo de nitrito, as amostras foram incubadas com reagente Griess (1 % sulfanilamida em 0,1 mol/L HCl e 0,1 % de dicloridrato de n-(1-naftil)-etilenodiamina) em temperatura ambiente por 10 minutos e a absorbância será medida a 540 nm usando leitor de microplacas. O conteúdo de nitritos foi calculado com base em uma curva padrão de 0 a 100 nM realizada com o metabólito nitrito de sódio. Os resultados foram calculados em µmol nitrito/mg proteína (Chae *et al.*, 2004)

3.7.4. Marcadores de danos oxidativos

3.7.4.1. Grupos sulfidril

O teor de tiol total (n-9 animais/grupo) foi determinado usando o método com DTNB (reagente de Ellman). Resumidamente, 30 mL de amostra foram misturados com 1 mL de solução salina tamponada com fosfato/1 mM de EDTA (pH 7,5). A reação foi iniciada pela adição de 30 µL de solução estoque de DTNB 10 mM em solução salina tamponada com fosfato. Amostras de controle, que não incluem DTNB ou proteína, foram executadas simultaneamente. Após incubação por 30 minutos em temperatura ambiente, foi realizada leitura da absorbância em 412 nm e calculada a quantidade de TNB (equivalente à quantidade de grupos sulfidril) (Aksenov e Markesbery, 2001).

3.7.4.2. Carbonilação de proteínas

O dano oxidativo de proteínas (n-9 animais/grupo) foi determinado mediante a quantificação de proteínas carboniladas através da reação de grupos carbonilas com a 2,4-dinitrofenilhidrazina. As proteínas foram precipitadas pela adição de ácido tricloroacético a 20% e reação com 2,4-dinitrofenilhidrazina. As amostras

foram então redissolvidas em cloridrato de guanidina 6M e os conteúdos de carbonila foram determinados medindo a absorbância em 370 nm e usando um coeficiente de absorção molar de 22.000 M⁻¹ cm⁻¹ (Levine *et al.*, 1990).

3.7.5. Atividades de enzimas antioxidantes

3.7.5.1. Superóxido dismutase (SOD)

A atividade da SOD (n-9 animais/grupo) foi determinada pela inibição da oxidação da adrenalina. As amostras de plasma foram homogeneizadas em tampão de glicina. Volumes de 5, 10 e 15 µl de amostra foram separados após homogeneização e 5 ml de catalase (0,0024 mg/ml em água destilada), 175-185 ml de tampão glicina (0,75 g em 200 ml de água destilada a 32 °C, pH 10,2), e 5 µl de adrenalina (60 mM em água destilada mais 15 ml/ml de HCl fumegante) foram adicionados, incubados por 180 segundos em intervalos de 10 segundos e medidos em um leitor SpectraMax i3xELISA a 480 nm. Os valores foram expressos como unidade SOD/mg de proteína (U/mg de proteína) (Bannister e Calabrese, 1987).

3.7.5.2. Glutathione (GSH)

Os níveis de GSH (n-9 animais/grupo) foram determinados como descrito por Hissin & Hilf, com algumas adaptações. GSH foi mensurada nas amostras de tecido após precipitação de proteína com ácido tricloroacético a 10%. Em parte da amostra foi adicionado 800 mM de tampão fosfato (pH 7,4) contendo 500 mM de o-ftaldialdeído. O desenvolvimento de cor resultante a partir da reação entre o-ftaldialdeído e tióis atingiu o máximo em 5 minutos e manteve-se estável durante mais de 30 min. A absorbância foi lida a 412 nm depois de 10 min. Uma curva padrão de glutathione reduzida foi usada para calcular os níveis de GSH nas amostras. Os resultados são expressos como U fluorescência/mg de proteína (Hissin e Hilf, 1976).

3.7.6. Determinação de conteúdo proteico

O teor de proteína a partir das amostras de tecido homogeneizados (n-9 animais/grupo) foi avaliado utilizando albumina de soro bovino como um padrão, de

acordo com Lowry e colaboradores. Reagente fosfomolibdico-fosfotungstico (Folin fenol) foi adicionado para ligar-se à proteína. O reagente foi lentamente reduzido passando de amarelo para azul. Absorbância foi lida a 750 nm (Lowry *et al.*, 1951).

3.7.7. Mediadores inflamatórios

3.7.7.1. Citocinas

As amostras foram processadas (n-9 animais/grupo) e após foi sensibilizado a placa para posterior incubação com o anticorpo. Para dosagem das citocinas (TNF- α , IL1- β , IL6, IL4, IL10, TGF- β) foi utilizado o método *enzyme-linked immunosorbent assay – sandwich* (ELISA – sanduíche/captura) ligados a enzimas padrão e leituras de absorbância medidas por espectrofotômetro (Kit ELISA invitrogen; by Thermo Fischer Scientific – Bender Medsystems GmbH; Vienna, Austria).

3.7.8. Expressão gênica

Foi avaliado a expressão gênica (n-6 animais/grupo) de proteína morfogênica óssea (BMP2 – Id. gene: 29373) e metaloproteinase 13 (MMP13 – Id. gene: 171052) (NCBI, 2022). O RNA total foi extraído utilizando o reagente TRIzol® (Life Technologies) e seguindo as instruções recomendadas pelo fabricante. O RNA obtido foi solubilizado em 30 μ l de água Milli-Q, tratada com DEPC 0,1% (Sigma), agrupado em um único tubo e armazenado a -20 °C. O RNA total extraído foi quantificado por espectrofotometria em absorbância a 260nm e 280nm. A relação entre as absorbâncias 260/280 nm foi utilizada para estimar a contaminação por proteínas. Foram considerados de boa qualidade os RNAs cuja relação 260/280nm estiverem entre 1,8 e 2,0. Logo após, o DNA complementar foi sintetizado por meio da transcriptase reversa M-MLV, que promove uma fita de DNA complementar a partir de RNA de fita simples. A parte final inclui a reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real, por meio do sistema do corante SYBR Green, que possui ligação altamente específica ao DNA dupla-fita, para detectar o produto da PCR, conforme se acumula durante os ciclos da reação.

3.7.9. Morfologia tecidual

Para apresentar imagens representativas da morfologia dos tecidos articulares de cada grupo (n-3 animais/grupo), realizou-se a captura de imagens macroscópicas por meio do estereomicroscópio Zeiss Stemi DV4 com ampliação de até 32x. A seleção da imagem que melhor representa o perfil de cada grupo foi realizada por 2 pesquisadores em separado. Na divergência da escolha, um terceiro pesquisador foi acionado. Foram exibidas na ilustração que reúne as imagens do perfil de cada grupo, as estruturas tanto de côndilo femoral, quanto de platô tibial.

3.7.10. Histologia

Nas avaliações histológicas, as amostras teciduais da articulação posterior direita (n-5 animais/grupo) foram embebidas em solução de paraformaldeído (PFA) a 10% em tampão fosfato 0,1 M (pH 7,4) por 48 horas. Posteriormente, incluídas em parafina após descalcificação, desidratação e clareamento, e seccionadas em cortes de 5 µm de espessura. Através da coloração de hematoxilina-eosina (H&E) foram avaliados o número de condrócitos, a espessura de cartilagem e a medida de superfície da cartilagem (Moscardi *et al.*, 2018). A leitura das lâminas foi realizada em microscópio óptico (até 400x de aumento) e quantificadas com auxílio do programa ImageJ. A contagem do número de condrócitos foi realizada através da utilização do Plugin “Cell Counter” do software considerando a coloração nuclear de células. Para avaliação dos graus de lesão da cartilagem, as amostras foram marcadas com Alcian Blue e analisadas conforme o score OARSI descrito por Pritzker *et al.* (2006): 0 - cartilagem normal; 1 – fibrilações de superfície, 2 – fibrilações até camadas mais profundas e desorientação de condrócitos, 3 – fissuras, 4 – erosão dos componentes da matrix extracelular, 5 – desnudação óssea, 6 – microfraturas e remodelação óssea.

3.7.11. Análise estatística

Na análise estatística os dados foram apresentados por média e erro padrão médio (EPM), ao qual foram avaliados a partir do teste de normalidade de Shapiro Wilk e mensurados através do teste de análise de variância de uma via

(ANOVA-one way) seguido pelo teste de *post hoc* Tukey, considerando $p < 0.05$. Como pacote estatístico, foi usado o programa GraphPad Prism 7.

4. RESULTADOS

4.1. GANHO DE PESO

Nesta análise os animais foram pesados semanalmente, a partir deste procedimento foi possível averiguar o ganho de peso que cada animal atingiu ao final das 8 semanas de treinamento. Na figura 10, o grupo OA + 5x demonstra um menor ganho de peso em comparação aos grupos sham ($p<0.05$) e OA ($p<0.01$).

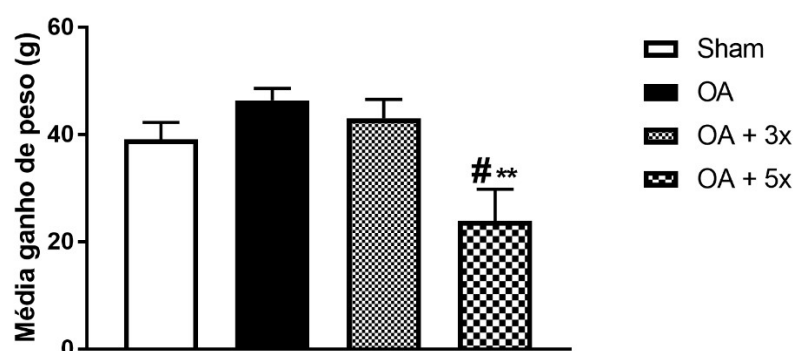


Figura 10: Efeitos do tratamento com exercício físico moderado realizado 3 ou 5 vezes por semana sobre a média de ganho de peso corporal. Esta avaliação foi realizada a partir do ganho de massa corporal total dos animais. Abreviações: g, gramas. Dados são apresentados como média $\pm$ EPM em que: # $p<0.05$ vs. grupo sham; ** $p<0.01$ vs. grupo OA.

4.2. ATIVIDADE METABÓLICA

Na figura 11 é apresentada a avaliação dos níveis da atividade de componentes do ciclo de Krebs e da CTE, entre eles: succinato desidrogenase (SDH); citrato sintase (CS); complexo I; e complexo II. Na avaliação de SDH em A não houve resultados significativos. Em B, ambos os grupos tratados com exercício moderado demonstraram aumento significativo de atividade da CS em comparação ao grupo OA ($p<0.05$). Subsequentemente em C, o complexo I apresentou aumento significativo de atividade no grupo OA + 3x em comparação com o grupo OA ($p<0.05$), porém houve aumento significativo ainda maior da atividade do complexo I no grupo OA + 5x quando comparado com o grupo OA ($p<0.001$). Em D, na análise do complexo II, não houve resultados significativos.

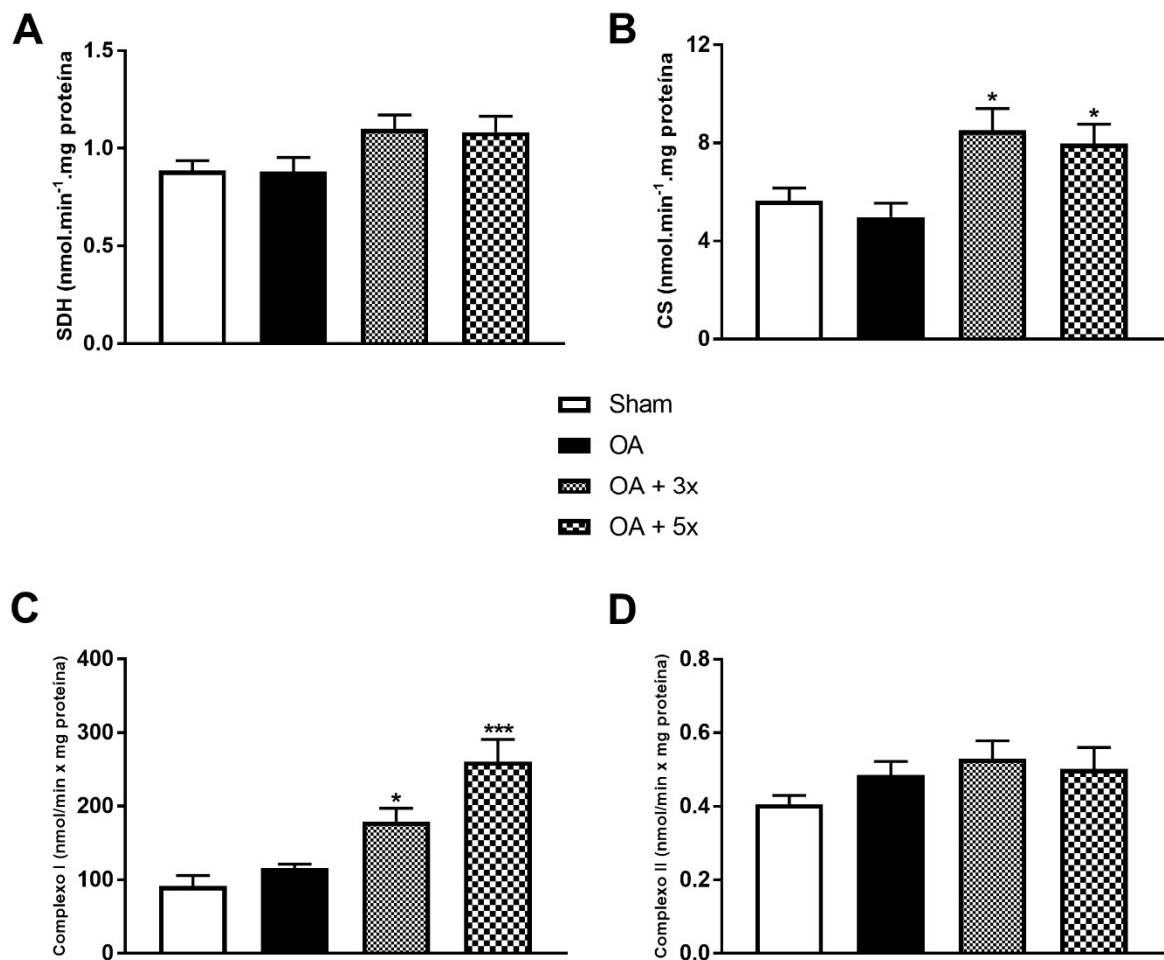


Figura 11: Efeitos do tratamento com exercício físico moderado realizado 3 ou 5 vezes por semana sobre a atividade metabólica. Nos gráficos são apresentadas as avaliações de SDH em A, CS em B, Complexo I em C e Complexo II em D. Estas avaliações foram realizadas a partir de amostras do músculo gastrocnêmio. Abreviações: SDH, succinato desidrogenase; CS, citrato sintase. Dados são apresentados como média $\pm$ EPM em que: * $p < 0.05$ vs. grupo OA; *** $p < 0.001$ vs. grupo OA.

4.3. OXIDANTES

Para analisar aspectos de estresse oxidativo, avaliou-se a atividade de moléculas oxidantes conforme figura 12. Em A, o grupo OA apresentou aumento significativo de DCF em comparação ao grupo Sham ($p < 0.05$). Ademais, em contraste com o grupo OA, houve diminuição significativa de DCF tanto no grupo OA + 3x ($p < 0.01$), quanto especialmente no grupo OA + 5x com diminuição significativa ainda maior ($p < 0.0001$). Já em B, o grupo OA + 5x não mostrou diferença significativa nos níveis de nitrito quando comparado aos dados do grupo sham. Porém tanto o grupo OA, quanto o grupo OA + 3x indicaram aumento significativo de nitrito comparado ao grupo sham ($p < 0.05$).

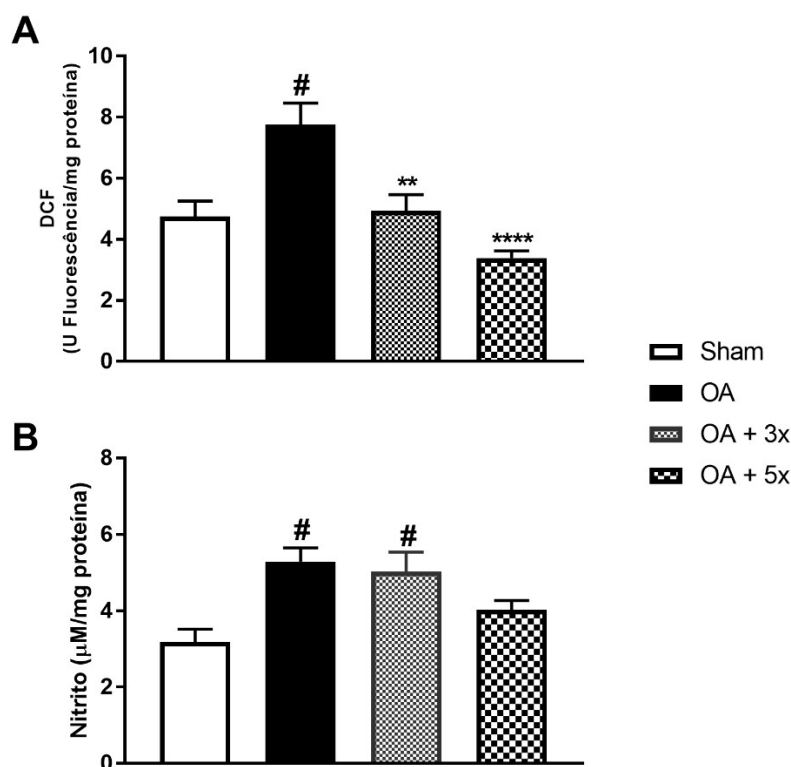


Figura 12: Efeitos do tratamento com exercício físico moderado realizado 3 ou 5 vezes por semana sobre os níveis de oxidantes. Nos gráficos são apresentadas as avaliações de DCF em A e Nitrito em B. Estas avaliações foram realizadas a partir de amostras dos tecidos intracapsulares da articulação do joelho. Abreviações: DCF, Diclofluoresceína. Dados são apresentados como média $\pm$ EPM em que: # $p < 0.05$ vs. grupo sham; ** $p < 0.01$ vs. grupo OA; **** $p < 0.0001$ vs. grupo OA.

4.4. DANO OXIDATIVO E ANTIOXIDANTES

Nos demais aspectos para análise de estresse oxidativo, avaliou-se o dano oxidativo (figura 13, A e B) e a atividade de enzimas antioxidantes (figura 13, C e D). Na análise do carbonil em A, o grupo OA + 5x não resultou em diferença significativa comparada ao grupo sham, enquanto ambos os grupos OA e OA + 3x obtiveram aumento significativo de carbonil comparado com o grupo sham ($p < 0.05$). Em B, na avaliação de conteúdo de sulfidril, não houve resultados significativos. Na avaliação da atividade antioxidante em C, o grupo OA mostrou diminuição significativa da SOD em comparação com o grupo sham ($p < 0.05$). Além disso, ambos os grupos tratados com exercício demonstraram aumento significativo de atividade da SOD quando comparados ao grupo OA ($p < 0.05$). Em D, na análise de GSH, não houve resultados significativos.

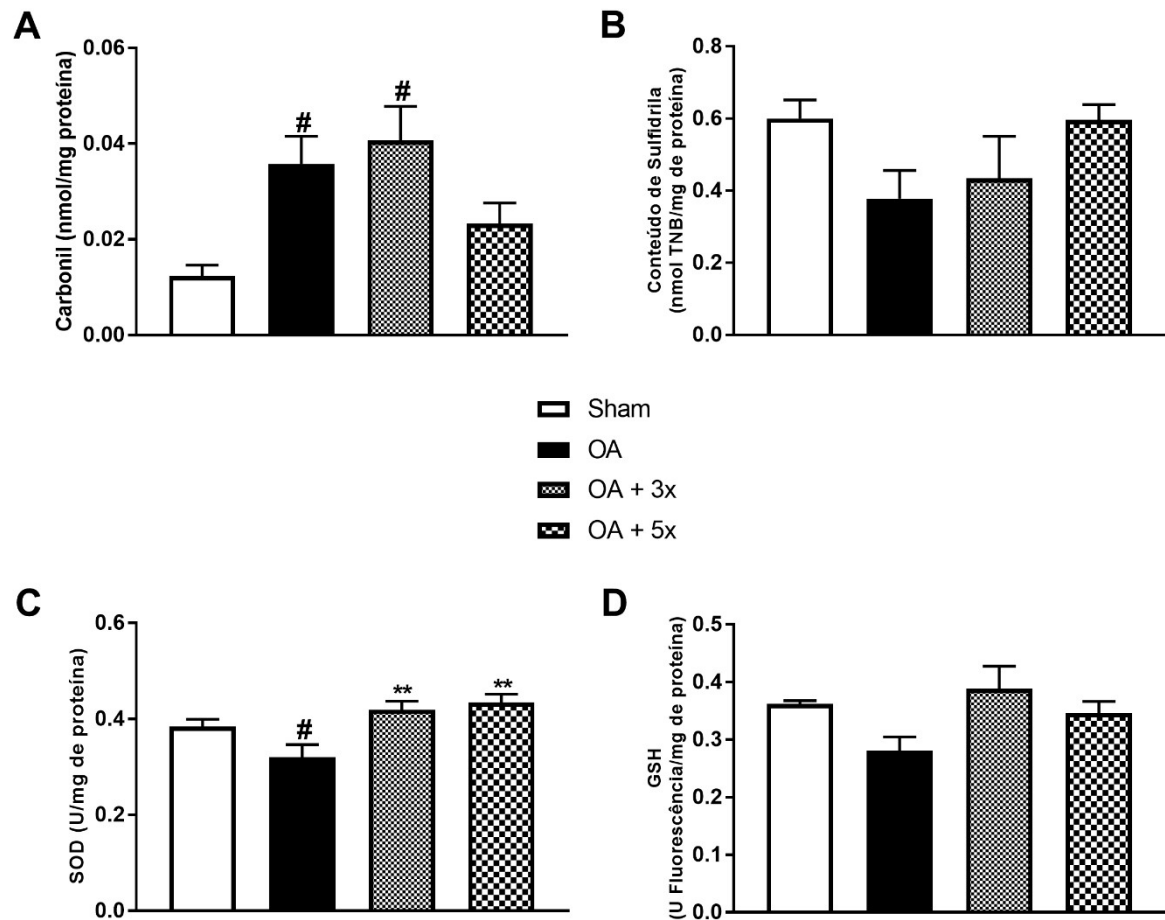


Figura 13: Efeitos do tratamento com exercício físico moderado realizado 3 ou 5 vezes por semana sobre os níveis de dano oxidativo e antioxidantes. Nos gráficos são apresentadas as avaliações de Carbonil em A, Conteúdo de sulfidril em B, SOD em C e GSH em D. Estas avaliações foram realizadas a partir de amostras dos tecidos intracapsulares da articulação do joelho. Abreviações: SOD, superóxido dismutase; GSH, glutathiona. Dados são apresentados como média $\pm$ EPM em que: $\#p < 0.05$ vs. grupo sham; $**p < 0.01$ vs. grupo OA.

4.5. CITOCINAS PRÓ-INFLAMATÓRIAS

Também foi realizada avaliação de quadros pró-inflamatórios por meio de citocinas como TNF- α , IL1- β e IL6 (figura 14). Em A e B, o grupo OA apresentou aumento significativo nos níveis de TNF- α e IL1- β comparado ao grupo sham ($p < 0.05$). Em contraste com o grupo OA, houve diminuição significativa na expressão de TNF- α e IL1- β tanto no grupo OA + 3x ($p < 0.01$), quanto principalmente no grupo OA + 5x com diminuição significativa ainda maior destes marcadores ($p < 0.001$ e $p < 0.0001$ respectivamente). Em C, o grupo OA demonstrou aumento significativo de IL6 quando

comparado com o grupo sham ($p<0.05$). Por outro lado, os grupos tratados com exercício não apresentaram diferenças significativas com o grupo sham.

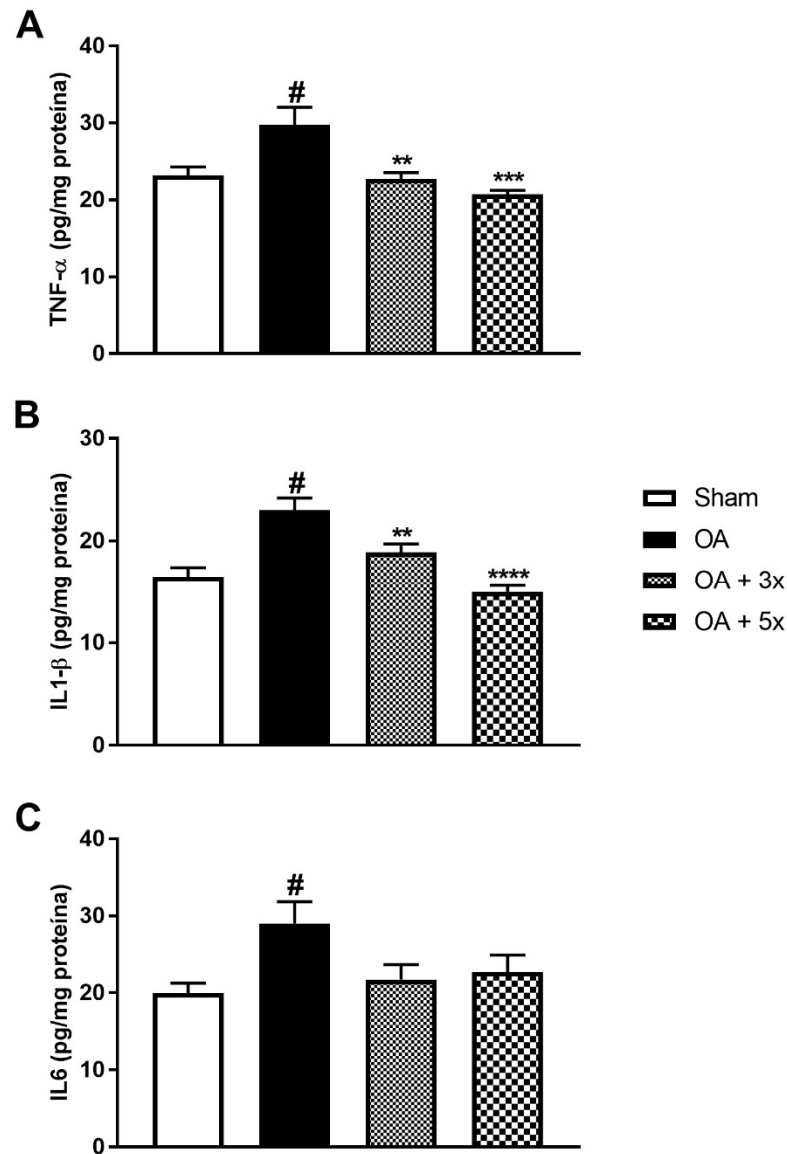


Figura 14: Efeitos do tratamento com exercício físico moderado realizado 3 ou 5 vezes por semana sobre os níveis de citocinas pró-inflamatórias. Nos gráficos são apresentadas as avaliações de TNF- α em A, IL1- β em B e IL6 em C. Estas avaliações foram realizadas a partir de amostras dos tecidos intracapsulares da articulação do joelho. Abreviações: IL, interleucina; TNF, fator de necrose tumoral. Dados são apresentados como média $\pm$ EPM em que: # $p<0.05$ vs. grupo sham; ** $p<0.01$ vs. grupo OA; *** $p<0.001$ vs. grupo OA; **** $p<0.0001$ vs. grupo OA.

4.6. CITOCINAS ANTI-INFLAMATÓRIAS

Ademais este estudo avaliou o nível de citocinas anti-inflamatórias como IL4, IL10 e o fator de crescimento TGF- β conforme figura 15. Em A, na análise de IL4, não houve resultados significativos. Em B, o grupo OA obteve diminuição significativa

da expressão de IL10 em comparação com o grupo sham ($p<0.05$). Além disso, o grupo OA + 5x apresentou aumento significativo nos níveis de IL10 em comparação ao grupo OA ($p<0.01$). Em C, os grupos OA e OA + 3x sinalizaram diminuição significativa na expressão de TGF- β quando comparados com o grupo sham ($p<0.05$). Ainda na mesma análise, o grupo OA + 5x indicou aumento significativo de TGF- β em comparação ao grupo OA ($p<0.05$).

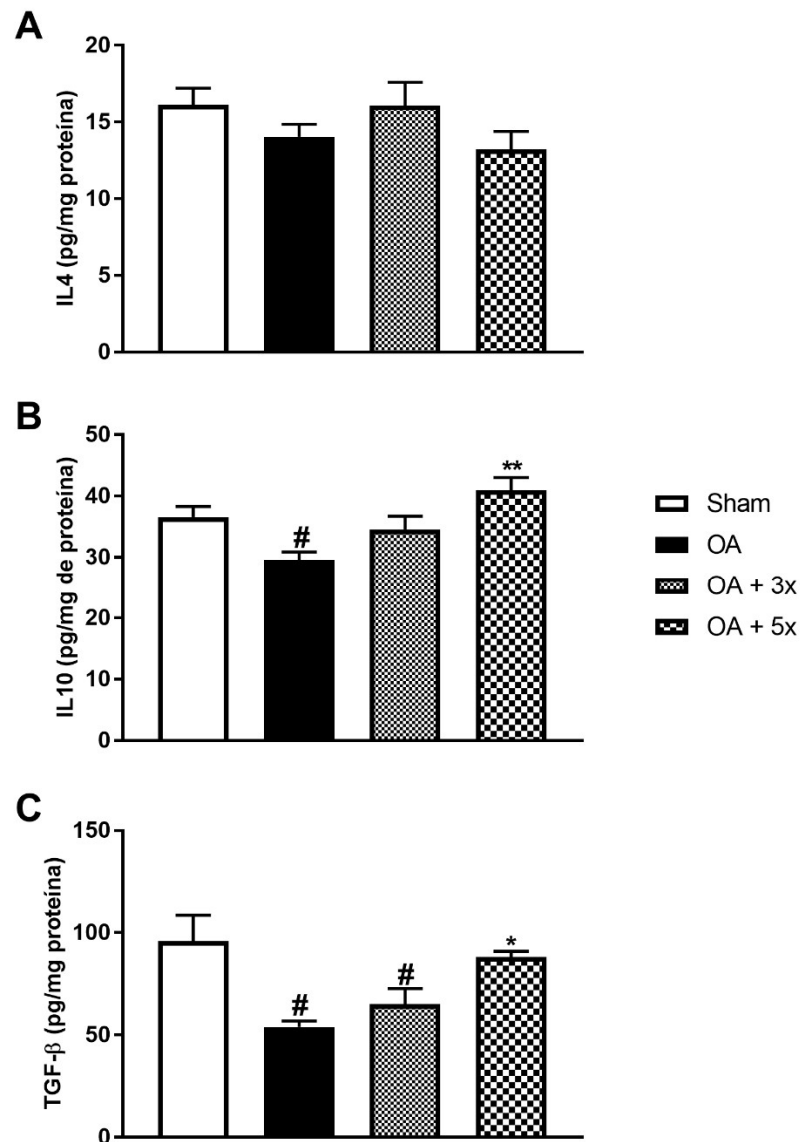


Figura 15: Efeitos do tratamento com exercício físico moderado realizado 3 ou 5 vezes por semana sobre os níveis de citocinas anti-inflamatórias. Nos gráficos são apresentadas as avaliações de IL4 em A, IL10 em B e TGF- β em C. Estas avaliações foram realizadas a partir de amostras dos tecidos intracapsulares da articulação do joelho. Abreviações: IL, interleucina; TGF, fator de crescimento transformador. Dados são apresentados como média $\pm$ EPM em que: [#] $p<0.05$ vs. grupo sham; ^{*} $p<0.05$ vs. grupo OA; ^{**} $p<0.01$ vs. grupo OA.

4.7. EXPRESSÃO GÊNICA

Na figura 16 foi avaliado o estímulo ao perfil anabólico decorrente da expressão gênica de BMP2 e do perfil catabólico oriundo da expressão gênica de MMP13. Em A, o grupo OA demonstrou diminuição significativa de BMP2 comparado ao grupo sham ($p < 0.05$). Enquanto isso, ambos os grupos tratados com exercício resultaram em aumento significativo de BMP2 ao compará-los com o grupo OA ($p < 0.01$). Em B, O grupo OA apresentou aumento significativo de MMP13 em comparação ao grupo sham ($p < 0.05$). Em contrapartida o grupo OA + 5x mostrou diminuição significativa de MMP13 em relação ao grupo OA ($p < 0.05$).

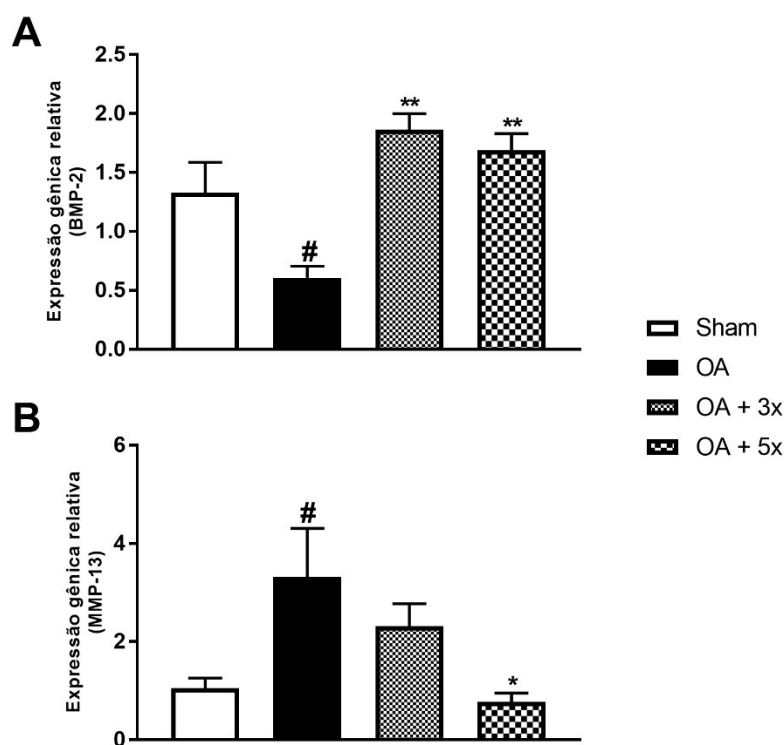


Figura 16: Efeitos do tratamento com exercício físico moderado realizado 3 ou 5 vezes por semana sobre a expressão gênica de BMP2 e MMP13. Nos gráficos são apresentadas as avaliações de BMP2 em A e MMP13 em B. Estas avaliações foram realizadas a partir de amostras dos tecidos intracapsulares da articulação do joelho. Abreviações: BMP, proteína morfogênica óssea; MMP, metaloproteinase de matriz. Dados são apresentados como média $\pm$ EPM em que: # $p < 0.05$ vs. grupo sham; * $p < 0.05$ vs. grupo OA; ** $p < 0.01$ vs. grupo OA.

4.8. MORFOLOGIA TECIDUAL

Na figura 17, são apresentadas as imagens representativas do aspecto morfológico articular relacionado aos grupos investigados no presente estudo. Na

parte superior da ilustração são mostrados os côndilos femorais, enquanto na parte inferior são expostos os platôs tibiais de cada grupo.

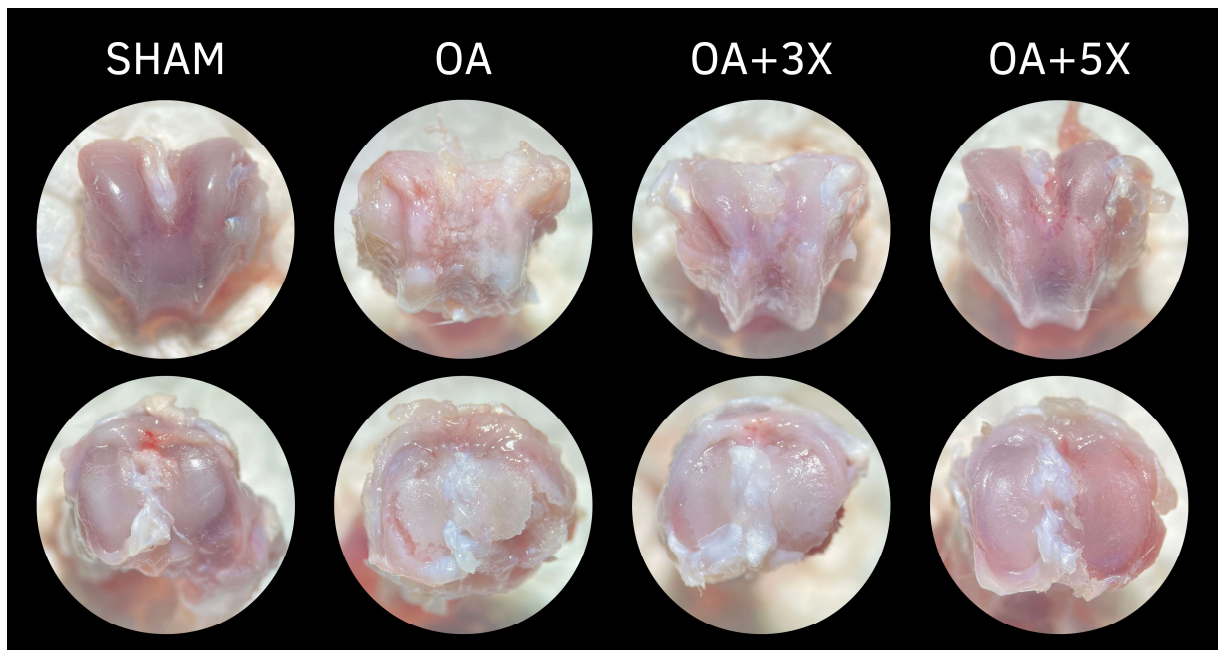


Figura 17: Efeitos do tratamento com exercício físico moderado realizado 3 ou 5 vezes por semana sobre o aspecto morfológico dos tecidos articulares do côndilo femoral (parte superior) e platô tibial (parte inferior).

4.9. HISTOLOGIA

Na análise apresentada na figura 18, foram realizadas avaliações demonstradas por imagens histológicas representativas, graus de lesão mediante o score OARSI, quantificação de condrócitos, medida de espessura de cartilagem e medida de superfície de contato. Em A, são ilustradas as imagens representativas de cada grupo. No gráfico B, o grupo OA resultou em aumento significativo do grau de lesão em comparação ao grupo sham ($p < 0.05$). Em contrapartida ambos os grupos com tratamento de exercício físico sinalizaram diminuição significativa dos graus de lesão em relação ao grupo OA ($p < 0.05$). Em C, na quantificação do número de condrócitos, não houve resultados significativos. Em D, o grupo OA apresentou diminuição significativa de espessura de cartilagem ao compará-lo com o grupo sham ($p < 0.05$). Por outro lado, ambos os grupos tratados com exercício moderado não apresentaram diferenças significativas comparados com o grupo sham. Em E, o grupo OA + 5x demonstrou aumento significativo de superfície de contato em relação ao grupo OA ($p < 0.01$).

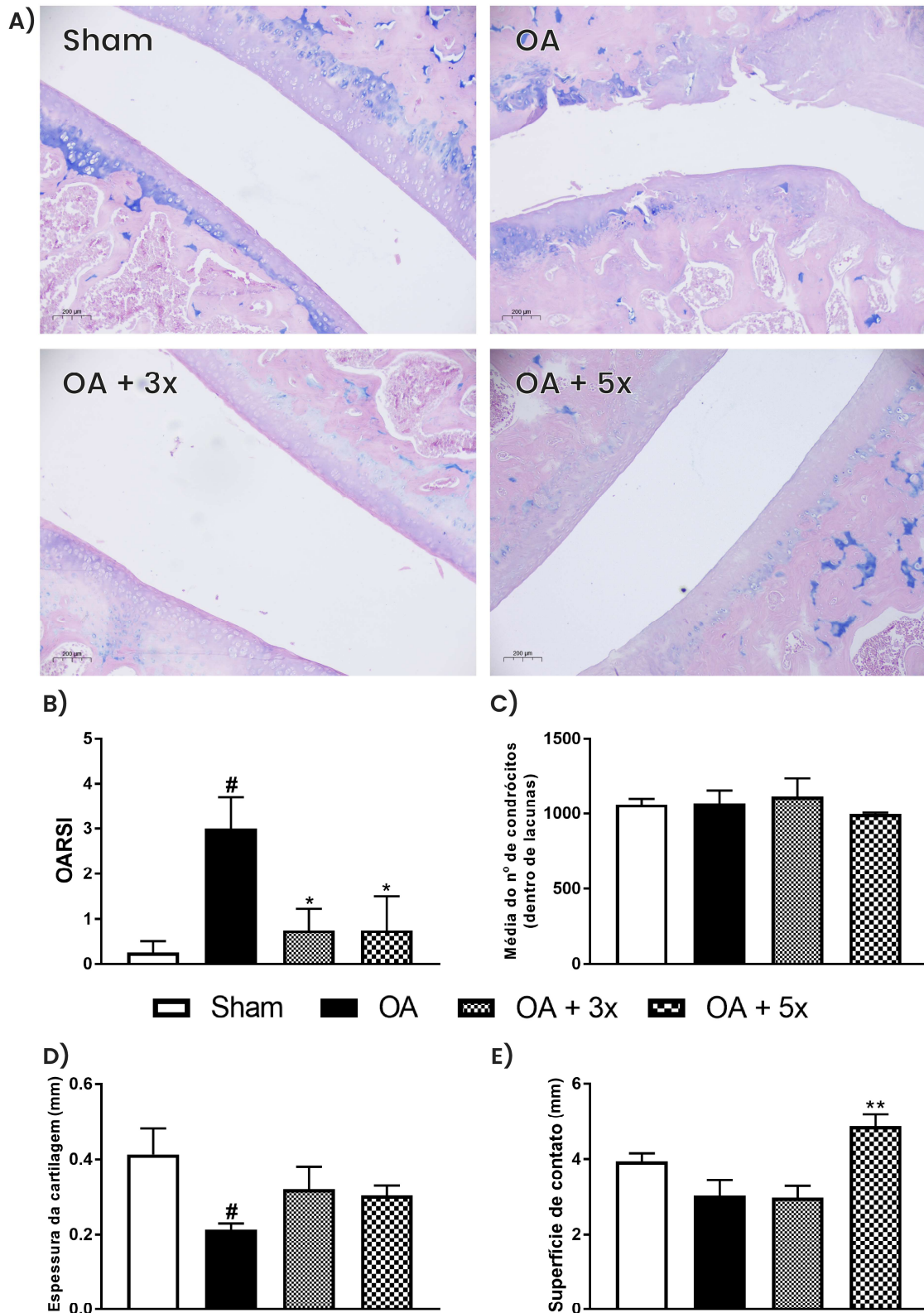


Figura 18: Efeitos do tratamento com exercício físico moderado realizado 3 ou 5 vezes por semana sobre a análise histológica. Em A são demonstradas imagens representativas de cada grupo marcadas com Alcian Blue; em B o score OARSI; em C o número de condrocitos; em D a espessura de cartilagem; e em E a medida de superfície de contato. Estas avaliações foram realizadas a partir de amostras dos tecidos articulares do platô tibial e côndilo femoral. Abreviações: OARSI, *Osteoarthritis Research Society International*. Dados são apresentados como média $\pm$ EPM em que: # $p < 0.05$ vs. grupo sham; * $p < 0.05$ vs. grupo OA; ** $p < 0.01$ vs. grupo OA.

5. DISCUSSÃO

A osteoartrite (OA) é caracterizada como uma doença articular crônica multifatorial associada com degeneração da cartilagem, processo inflamatório, estresse oxidativo e alterações ósseas. Apesar da cartilagem articular ser o principal tecido envolvido nesta patologia, estudos reafirmam que esta doença envolve uma ação *crosstalk* entre tecido cartilaginoso, ósseo, muscular e adiposo (Hunter e Felson, 2006; Lammert e Zeeb, 2014; Iijima *et al.*, 2016a; Ding *et al.*, 2022).

Entre os tratamentos para OA, o exercício físico é evidenciado como uma das principais e mais fortes indicações (Wittenauer *et al.*, 2013; Kolasinski *et al.*, 2020). Todavia, assim como em medicamentos, é imperativo atentar-se para as dosagens adequadas destas atividades. Conforme a literatura, a realização de exercícios estimula processos fisiológicos que podem desencadear micro lesões, processos inflamatórios e estresse oxidativo dependentes de diversos fatores da prática, tal como intensidade, duração e frequência (Gomes *et al.*, 2012; Allen *et al.*, 2015; Chow *et al.*, 2022).

Isto é, enquanto exercícios de intensidade vigorosa estimulam estresse físico capaz de proporcionar fatores propícios à formação de OA, exercícios de intensidade moderada são recorrentemente indicados por induzir adaptações moduladas por reações anti-inflamatórias e antioxidantes capazes de equalizar e/ou suprimir a promoção de expressões pró-inflamatórias e oxidantes (Gomes *et al.*, 2012; Allen *et al.*, 2015; Chow *et al.*, 2022; da Silva *et al.*, 2023). Além disso, dentro da discussão dos efeitos benéficos do exercício, a manutenção/cronificação destas atividades é elencada como ponto importante para obtenção de efeitos favoráveis (Gleeson *et al.*, 2011; Tromm *et al.*, 2011; Gomes *et al.*, 2012; Allen *et al.*, 2015; Scheffer e Latini, 2020; Chow *et al.*, 2022).

Isto posto, a frequência de execução do exercício físico moderado pode ser determinante para potencializar efeitos protetores no tratamento da OA (da Silva *et al.*, 2023). Corroborando com tal aspecto, no presente estudo, a dosagem de exercício 5x/semana em dias consecutivos mostrou-se superior frente à análise fisiológica, de marcadores metabólicos, de estresse oxidativo, de inflamação e de histologia. Desta forma, identificou-se que a cartilagem como tecido distinto e limitado quanto à sua recuperação, pode sofrer interferência da frequência do esforço físico motivado pelo

exercício, resultando em aspectos diferenciados dependentes da frequência de execução.

Na análise fisiológica de ganho de peso dos animais, evidenciou-se que a realização de exercícios 5x semanais promove maior controle da massa corporal, podendo contribuir para diminuição do estresse mecânico sobre a articulação do joelho. Além disso o sobrepeso é um dos fatores predisponentes para o desenvolvimento da OA, logo o controle de peso corporal pode ser encarado como um auxiliar no combate à OA (Hunter e Felson, 2006; Robins *et al.*, 2013; Wittenauer *et al.*, 2013; Kolasinski *et al.*, 2020).

Ademais, estudos indicam que o sobrepeso é associado com inflamação sistêmica crônica de baixo grau. Adipócitos hipertróficos podem limitar o fluxo sanguíneo em tecidos e provocar inibição de oxigênio e nutrientes celulares proporcionando hipóxia e morte celular (Ouchi *et al.*, 2011; Allen *et al.*, 2015).

Em resposta a este processo, adipócitos realizam a liberação de quimiocinas (MCP1 e CXCL5) com intuito de recrutar leucócitos para o local prejudicado a fim de combater e/ou remover o estímulo celular agressor. Somado a isso, estas células adiposas hipertróficas também expressão adipocinas (TNF- α e IL6) ativando macrófagos no tecido adiposo, que por sua vez realizam a liberação de IL1- β , TNF- α e NO $\cdot$, formando um ciclo inflamatório vicioso (Gleeson *et al.*, 2011; Ouchi *et al.*, 2011; Wu *et al.*, 2020). Neste mesmo sentido e de forma mais localizada, a gordura de Hoffa, tecido adiposo localizado na face posterior do ligamento infrapatelar, pode ser responsável por secretar citocinas pró-inflamatórias com potencial de interagir com tecidos intracapsulares da articulação e auxiliar na condução de processos inflamatórios capazes de influenciar a OA (Yang *et al.*, 2017; Wu *et al.*, 2020; Zahan *et al.*, 2020).

Sendo assim, fomenta-se a hipótese que o menor peso corporal do grupo OA + 5x pode ter influenciado na diminuição da massa adiposa, repercutindo em efeitos inibitórios de processos pró-inflamatórios mediados pelo tecido adiposo. O tratamento com exercício regular promove a diminuição da produção de adipocinas pró-inflamatórias e estimula a liberação de níveis mais altos de adiponectinas anti-inflamatórias (Gleeson *et al.*, 2011; Ouchi *et al.*, 2011; Metsios *et al.*, 2020). Além disso, conforme a literatura, o exercício físico aumenta a lipólise, melhora o perfil lipídico do sangue e a sensibilidade a insulina e reduz o risco de desenvolver adiposidade excessiva. Característica relacionada principalmente com o aumento de

consumo energético associado com o exercício, ao qual queima parte da gordura corporal e evita o balanço energético positivo que contribui para o acúmulo de adiposidade (Gleeson *et al.*, 2011; Ouchi *et al.*, 2011; Metsios *et al.*, 2020).

Desta maneira, associa-se que o menor ganho de peso dos animais exercitados 5x por semana pode estar atrelado com o aumento de consumo energético nos grupos tratados, especialmente no grupo com 5x semanais de exercício conforme análise de marcadores metabólicos do complexo I e citrato sintase (CS). Por sua vez, a CS é uma importante enzima participante do ciclo de Krebs, em que o aumento de sua atividade indica a elevação da taxa de produção de energia mitocondrial. Portanto tem sido utilizada como um marcador metabólico na avaliação da capacidade respiratória e oxidativa (Pereira *et al.*, 1992; Leandro *et al.*, 2007). Assim os resultados alcançados no presente estudo demonstram estar alinhados com a literatura, especialmente pela convergência entre os apontamentos de controle de peso e maior gasto energético dos grupos tratados ao qual reafirma o potencial de intervenção metabólica dos protocolos de exercício empregados.

Adiante, na avaliação de marcadores de estresse oxidativo, ambas as frequências de exercício físico moderado utilizados para o tratamento de OA mostraram modular os parâmetros avaliados. Porém, principalmente o grupo OA + 5x que devido o maior número de sessões/estímulos semanais, pôde ter contribuído com maior eficiência para modulação do estado redox.

Cada sessão de exercício induz à elevação na produção mitocondrial de ATP por meio da fosforilação oxidativa realizada na CTE. Este aumento de ATP mitocondrial motivado pelo exercício, é simultaneamente acompanhado do aumento de ERO (Tromm *et al.*, 2011; Gomes *et al.*, 2012). A fim de contrabalançar o aumento de moléculas oxidantes, paralelamente é estimulada a produção de enzimas antioxidantes dependentes da intensidade da atividade. Isto é, conforme ocorre a elevação da intensidade do exercício, há o aumento concomitante de ERO que dentro de limites fisiológicos, são equalizadas por respostas antioxidantes (Gomes *et al.*, 2012).

Conforme a literatura o exercício físico é capaz de ativar Nrf2, envolvido na redução do estresse oxidativo (de Sire *et al.*, 2021). Este fator de transcrição atua ligando-se aos elementos de resposta antioxidantes (ARE) na região promotora de genes antioxidantes. Normalmente o Nrf2 é mantido quiescente por meio da

associação com a Keap1 no citosol, restringindo sua translocação para o núcleo (de Sire *et al.*, 2021; Zhang *et al.*, 2021; Fadilah *et al.*, 2023).

Todavia, na presença de ERO, o NFR2 se desvincula da Keap1, translocando-se do citoplasma para o núcleo a fim de se ligar ao ARE. Como resultado a transcrição de enzimas antioxidantes são promovidas com intuito de neutralizar as ERO (de Sire *et al.*, 2021; Zhang *et al.*, 2021; Fadilah *et al.*, 2023). Desta forma, o exercício físico ativa Nrf2 em resposta ao aumento de ERO (de Sire *et al.*, 2021).

Adicionalmente, o exercício moderado regular, ou seja, a cronificação desta atividade, é capaz de gerar ambientes com maior atividade de antioxidantes (Cifuentes *et al.*, 2010; Tromm *et al.*, 2011; Gomes *et al.*, 2012). Tal qual como foi identificado nos resultados dos grupos tratados desta pesquisa, onde indicou-se aumento de atividade antioxidante (SOD), contribuindo para diminuição de oxidantes e em decorrência inibindo o dano oxidativo, principalmente no grupo OA + 5x ao qual possuía maior frequência de exercícios semanais.

Por outro lado, a ausência de tratamento no grupo OA, demonstrou a eficácia do modelo de indução da doença à medida que conseguiu promover parâmetros esperados para OA evidenciados pelos marcadores avaliados. Conforme estudos, o aumento de espécies reativas é um aspecto frequentemente associado com processos de degeneração e consequentemente com a OA (Wittenauer *et al.*, 2013; Zahan *et al.*, 2020; Ding *et al.*, 2022).

No desenvolvimento da OA, motivados por fatores biofísicos e bioquímicos que estimulam a degradação da cartilagem, condrócitos tentam suprir materiais danificados da MEC realizando sua síntese. Como consequência, aumentam sua atividade metabólica, podendo resultar em elevação mitocondrial de O_2^- que posteriormente é catalisado em H_2O_2 . (Zahan *et al.*, 2020; Setti *et al.*, 2021; Ding *et al.*, 2022). Como efeito, o aumento exacerbado de ERO's pode ultrapassar as barreiras antioxidantes conduzindo à despolarização da membrana mitocondrial e produção sustentada de ERO's (Mao *et al.*, 2020; de Sire *et al.*, 2021). Desta forma, o H_2O_2 é recorrentemente associado com a inibição da produção de proteoglicanos nos condrócitos mediante disfunção mitocondrial, favorecendo ao desbalanço entre a atividade anabólica e catabólica em favor do catabolismo (Mao *et al.*, 2020; Zahan *et al.*, 2020; Setti *et al.*, 2021; Ding *et al.*, 2022).

Isto posto, destaca-se que o marcador DCF tem sido usado como indicador de H_2O_2 haja vista ser um produto fluorescente da oxidação de DCFH-DA, que ocorre

principalmente na presença de H_2O_2 (Han *et al.*, 2000). Conforme essa relação, a elevação de DCF no grupo OA pode estar atribuída ao aumento de H_2O_2 , reforçando as características osteoartríticas destes animais. Por outro lado, a diminuição nos grupos tratados, enaltece o papel condroprotetor do exercício, principalmente no grupo OA + 5x ao qual obteve maior significância.

Evidências de implicação de espécies reativas na degradação da cartilagem, destacam também a presença de nitrito nos fluidos biológicos de pacientes com OA e na cartilagem em modelos animais de OA (Zahan *et al.*, 2020). Neste aspecto, nitrito é um produto da oxidação de $NO\cdot$ que normalmente reage com várias moléculas diferentes formando nitrato ou nitrito, possibilitando ser um marcador para este radical livre (Zahan *et al.*, 2020). $NO\cdot$ é comumente produzido pela enzima NOS, predominantemente pela isoforma iNOS em condrócitos e macrófagos na articulação, que produzem quantidades relativamente grandes de $NO\cdot$ em resposta a citocinas pró-inflamatórias ($IL1-\beta$, $TNF-\alpha$ e $IFN-\gamma$) e sobrecargas de cisalhamento (Zahan *et al.*, 2020; Setti *et al.*, 2021). Devido sua toxicidade oxidativa, sua superprodução na OA é relacionada com a quebra de filamentos de DNA, oxidação de proteínas e lipídeos (Mao *et al.*, 2020; Zahan *et al.*, 2020; Setti *et al.*, 2021).

Dentre estes possíveis danos oxidativos, destaca-se neste estudo a susceptibilidade de oxidação das proteínas na presença de ERO/ERN, que pôde ser averiguado baseando-se nos níveis de carbonilas proteicas elevadas e oxidação de tióis proteicos (Han *et al.*, 2000; Tirosh e Reznick, 2000). Assim sendo, o aumento significativo de nitrito e carbonil no grupo OA indica, respectivamente, elevação na formação de $NO\cdot$ e oxidação de proteínas, ambos atributos que apontam o perfil osteoartrístico (Zahan *et al.*, 2020). Enquanto isso, a inibição do aumento dos marcadores nitrito e carbonil apenas no grupo OA + 5x, evidencia o melhor papel antioxidante desta frequência de exercício (Tromm *et al.*, 2011; Gomes *et al.*, 2012; de Sire *et al.*, 2021).

A fisiologia da OA também é marcada pelo forte papel inflamatório (Glyn-Jones *et al.*, 2015; Blaney Davidson *et al.*, 2017; Molnar *et al.*, 2021). Entre os mediadores inflamatórios na patogênese da OA, estudos destacam $IL1-\beta$, $TNF-\alpha$ e $IL6$ como mais importantes reguladores de processos pró-inflamatórios (Lammert e Zeeb, 2014; Woodell-May e Sommerfeld, 2020; Molnar *et al.*, 2021). Desta forma, este trabalho encontra-se alinhado com a literatura ao passo que o grupo OA apresenta

níveis aumentados de todas as respectivas citocinas pró-inflamatórias supracitadas (IL1- β , TNF- α e IL6), indicando o perfil inflamatório relacionado a OA.

Estas citocinas são ativadoras de uma infinidade de diferentes vias de sinalização que ativam outras citocinas e processos patológicos, tais como expressão de quimiocinas, collagenases, agrecanases, COX-2, PGE2 e NO $\cdot$ (Kuyinu *et al.*, 2016; Molnar *et al.*, 2021). Em adição o desequilíbrio entre citocinas em favor das citocinas pró-inflamatórias estimula um ciclo vicioso e ativação de enzimas catabólicas (MMP e ADAMTS) que conduzem a efeitos finais de danos aos tecidos da articulação (Glyn-Jones *et al.*, 2015; Blaney Davidson *et al.*, 2017; Molnar *et al.*, 2021). Aspecto reafirmado nas avaliações deste estudo em que houve aumento da expressão gênica de MMP13 e aumento dos graus de lesão OARSI registrado no grupo OA.

Por outro lado, a diminuição ou inibição destes marcadores (IL1- β , TNF- α e IL6) nos grupos tratados com diferentes frequências de exercício, reafirma o papel anti-inflamatório do exercício em ambos os tratamentos, especialmente na terapia com exercício 5x por semana ao qual obteve valores mais significativos. Característica esta que pode ser corroborada mediante a análise de citocinas anti-inflamatórias em que principalmente no grupo OA + 5x obteve aumento significativo de IL10 e TGF- β . Este cenário indica que o maior número de sessões semanais de exercício induz uma resposta anti-inflamatória sistêmica mais persistente haja vista que, mesmo realizando a eutanásia após 72h da última sessão de exercício, ainda foi possível encontrar níveis aumentados de marcadores anti-inflamatórios nos animais que realizaram exercício de esteira 5x por semana.

Conforme a literatura, o exercício agudo (uma única sessão de exercício aeróbico ou de resistência) promove alterações humorais a partir da secreção de citocinas, podendo perdurar seus efeitos até 72h após à atividade (Allen *et al.*, 2015; Chow *et al.*, 2022). Entretanto, o exercício regular/crônico (múltiplas sessões de exercício agudo) é associado a alterações mediadas por citocinas até no estado basal (Chow *et al.*, 2022; Magliulo *et al.*, 2022). Fato que pode ter contribuído para as modulações dos marcadores pró-inflamatórios no grupo OA + 3x e dos marcadores pró e anti-inflamatórios no grupo OA + 5x.

Estas citocinas também denominadas de exercinas, são moléculas de sinalização liberadas em resposta ao exercício, que exercem efeitos anti-inflamatórios através de vias endócrinas, parácrinas e/ou autócrinas. Dentre as exercinas

conhecidas, destacam-se principalmente as citocinas IL6, IL10 e IL1-RA (Chow *et al.*, 2022). Somada a isso, verifica-se na literatura especial atenção para a IL6 como parte precursora dos benefícios do exercício. Apesar de originalmente conhecida por possuir papel pró-inflamatório, esta citocina também é reconhecida por seu perfil pleiotrópico, possuindo grande destaque no exercício físico (Gleeson *et al.*, 2011; Allen *et al.*, 2015; Benatti e Pedersen, 2015; Metsios *et al.*, 2020; Chow *et al.*, 2022; Magliulo *et al.*, 2022).

Tendo os macrófagos como secretores, a partir da presença de TNF- α que ativa a via de transcrição de NF-kB e induz a expressão de IL6, esta citocina exerce estímulos pró-inflamatórios associados com a patogênese da OA (Lammert e Zeeb, 2014; Benatti e Pedersen, 2015; Metsios *et al.*, 2020; Woodell-May e Sommerfeld, 2020; Molnar *et al.*, 2021). Por outro lado, a IL6 expressa por miócitos perdura poucas horas após o término do exercício e conduz uma resposta anti-inflamatória associada com a estimulação da secreção de IL10 e IL1-RA (Febbraio e Pedersen, 2002; Allen *et al.*, 2015; Benatti e Pedersen, 2015).

Dessa forma, como às análises deste estudo foram realizadas 72h após a última sessão de exercício, salienta-se que a IL6 aqui avaliada possua perfil pró-inflamatório. Apesar disso, baseado na literatura, entende-se que cada sessão de exercício realizada neste estudo promoveu a liberação de IL6 em miócitos em contração, estimulando um perfil anti-inflamatório sistêmico (Febbraio e Pedersen, 2002; Gleeson *et al.*, 2011; Allen *et al.*, 2015; Benatti e Pedersen, 2015; Metsios *et al.*, 2020; Scheffer e Latini, 2020; Chow *et al.*, 2022; da Silva *et al.*, 2023). Neste sentido, contribuindo com os achados deste trabalho que evidenciaram maior perfil anti-inflamatório do grupo OA + 5x mediante maior frequência de sessões.

O preciso mecanismo de como a IL6 é liberada pelas células musculares em contração ainda não é totalmente claro (Allen *et al.*, 2015; Magliulo *et al.*, 2022). Todavia, estudos indicam que os efeitos anti-inflamatórios induzidos pelo exercício, motivados pela produção de IL6 no músculo, ocorre sem a presença de TNF- α ou ativação de NF-kB (Benatti e Pedersen, 2015; Metsios *et al.*, 2020), sendo regulado pelo cálcio (Ca^{+2}) e estímulos glicogênio/p38 MAPK (Benatti e Pedersen, 2015; Metsios *et al.*, 2020; Scheffer e Latini, 2020; da Silva *et al.*, 2023).

Destaca-se ainda que o pico de ação da IL6 liberada por miócitos é atingido paralelamente com o término do exercício, fortificando sua dependência do movimento, enaltecendo que cada sessão de exercício induz sua produção (Febbraio

e Pedersen, 2002; Benatti e Pedersen, 2015) e significando que o grupo OA + 5x teve possivelmente mais picos de IL6 derivados de miócitos do que o grupo OA + 3x. Fato alinhado com o perfil anti-inflamatório mais efetivo encontrado no grupo OA + 5x haja vista que, em resposta à elevação dos níveis circulantes de IL6, subsequentemente inicia-se um importante aumento da expressão de IL1-RA e IL10 por células mononucleares, além da inibição de TNF- α (Allen *et al.*, 2015; Benatti e Pedersen, 2015; Castrogiovanni *et al.*, 2019; Scheffer e Latini, 2020).

Para corroborar com esta perspectiva, é evidenciado nos achados do presente estudo a diminuição de IL1- β em ambos os grupos tratados, principalmente no grupo OA + 5x, evento que pode estar atrelado ao efeito do exercício na estimulação da IL1-RA. Esta citocina se liga com os receptores de IL1- β , inibindo a ação pró-inflamatória por não estimular cascatas a jusante, além de bloquear a ligação da IL1- β com seu receptor (Gleeson *et al.*, 2011; Allen *et al.*, 2015; Scheffer e Latini, 2020).

Adicionalmente, outro fator que pode contribuir com esta perspectiva, é a modulação dos níveis de IL10 encontrados nos grupos com terapia de exercício, principalmente no grupo OA + 5x ao qual obteve significativo aumento desta citocina. A IL10 exerce efeitos anti-inflamatórios em uma variedade de células imunes, incluindo a redução da expressão do complexo principal de histocompatibilidade (MHC), molécula de adesão intercelular - 1 (ICAM-1) e moléculas co-estimuladoras (CD80 e CD86) em células apresentadoras de antígenos. Desta forma, diminui a infiltração de células inflamatórias (Gleeson *et al.*, 2011; Allen *et al.*, 2015; Scheffer e Latini, 2020).

Em adição, IL10 também inibe a expressão de citocinas pró-inflamatórias tal como TNF- α , limitando a capacidade de leucócitos sustentarem uma resposta inflamatória prolongada (Gleeson *et al.*, 2011; Allen *et al.*, 2015). Circunstância que pode ter contribuído para a diminuição mais significativa de TNF- α do grupo OA + 5x.

Ademais, associa-se que o aumento de IL10 encontrado especialmente na amostra tecidual do grupo OA + 5x, seja resultado da cronificação do exercício e da maior frequência de sessões/estímulos. Em decorrência, o aumento desta citocina pode ter proporcionado sua ligação com receptores IL10R em condrócitos. Este desfecho ativa a via intracelular JAK-STAT quinase e estimula a expressão de genes dependentes de IL10. Como produto final, induz a síntese de colágeno tipo II e

proteoglicano agregado, bem como a síntese do inibidor de metaloproteinases-1 (TIMP-1) e fatores de crescimento (Wojdasiewicz *et al.*, 2014; Molnar *et al.*, 2021)

Deste modo a terapia com exercício pode inibir a produção de MMP em condrócitos e macrófagos por meio da síntese de IL10 (Castrogiovanni *et al.*, 2019; Molnar *et al.*, 2021; da Silva *et al.*, 2023). Corroborando com este cenário foi evidenciado comportamento inversamente proporcional dos dados de IL10 com a expressão gênica de MMP13, apresentando inibição de estados catabólicos em ambos os grupos, principalmente no grupo OA + 5x que obteve diminuição significativa de MMP13. Circunstância alinhada ainda, com os dados de histologia em que se aponta papel protetor do exercício na degeneração da cartilagem.

Aspecto parecido foi visualizado na literatura em estudo com ratos Wistar que analisou os efeitos do exercício moderado sobre a OA e o papel dos sinoviócitos. Nesta pesquisa foi indicado aumento de IL10 e consequente diminuição de MMP13 (Castrogiovanni *et al.*, 2019). Em adição, outros estudos com diferentes tipos de animais e modelos de OA também relataram efeito de diminuição de MMP13 motivado pelo exercício (Tomazoni *et al.*, 2016; Yang *et al.*, 2017; Ma *et al.*, 2018; Takada *et al.*, 2020).

Além disso, o aumento da expressão gênica de BMP2 nos grupos tratados evidencia o estímulo ao papel anabólico proporcionado pelo exercício em ambas as frequências, além de indicar uma tentativa de reparo tecidual (Iijima *et al.*, 2016a; Iijima *et al.*, 2017; Thielen *et al.*, 2019). Este aumento pode possuir relação com as modulações encontradas na análise de IL10 do presente estudo. Conforme a literatura indica, a IL10 ativa a via SMAD1/SMAD5/SMAD8 e ERK1/2 que induz a expressão de BMP2 e BMP6. Estas proteínas são associadas a papéis de condrogênese, produção de colágeno e de proteoglicanos (Wojdasiewicz *et al.*, 2014).

Resultado semelhante foi constatado em estudo que investigou diferentes níveis de intensidade do exercício sobre a OA de joelho em ratos Wistar. O exercício moderado suprimiu a degeneração da cartilagem ao mesmo tempo que aumentou BMP2, BMP4 e BMP6 (Iijima *et al.*, 2017). Em adição, foi relatado em outro artigo que o exercício moderado regula positivamente a secreção de BMP2 e BMP6 pelos condrócitos da região superficial da cartilagem e de células ósseas, conciliando com a prevenção de alterações osteoartíticas (Iijima *et al.*, 2016a).

Desta forma, os achados deste estudo sobre a expressão gênica de MMP13 e BMP2 encontram-se alinhados com as evidências científicas encontradas

na literatura supracitada. Tais constatações dos resultados enaltecem o papel protetor do exercício ao inibir processos catabólicos e favorecer meios anabólicos impedindo a progressão da OA (Lammert e Zeeb, 2014; Wojdasiewicz *et al.*, 2014; Molnar *et al.*, 2021). Efeitos estes que em conjunto se mostraram mais eficazes neste trabalho com maiores frequências de exercício físicos semanais, ao qual possivelmente está relacionado a maior quantidade semanal de episódios anti-inflamatórios e antioxidantes motivados pelo exercício moderado do grupo OA + 5x.

Ademais, na avaliação dos níveis de TGF- β também foi apresentado comportamento de dados semelhante às modulações encontradas nos dados de IL 10. Estima-se que a detecção de IL 10 altamente expressa nos grupos exercitados sinaliza a presença de macrófagos M2 (Wojdasiewicz *et al.*, 2014; Molnar *et al.*, 2021; da Silva *et al.*, 2023), os quais estão envolvidos com a liberação de diversas citocinas anti-inflamatórias e fatores de crescimento associados, entre eles o TGF- β (Robins *et al.*, 2013; Woodell-May e Sommerfeld, 2020). Neste âmbito, relaciona-se que o TGF- β também possa sofrer aumento de expressão mediante maiores frequências de exercício e contribuir para processos de reparação tecidual e anti-inflamatórios.

O TGF- β promove a produção de componentes da MEC em condrócitos auxiliando ao reparo tecidual. Em especial, é um potente indutor de lubricina em condrócitos (Bao *et al.*, 2011; Thielen *et al.*, 2019). Por sua vez, indícios apontam que a lubricina, também conhecido como proteoglicano 4 (PRG4), é associada com diminuição de processos inflamatórios mediados por TLR's (Alquraini *et al.*, 2015; Blaney Davidson *et al.*, 2017). Além de sua função lubrificante, evidências indicam que a lubricina pode se ligar aos receptores pró-inflamatórios TLR2 e TLR4, inibindo a ativação desses receptores de forma dependente da dose (Alquraini *et al.*, 2015; Blaney Davidson *et al.*, 2017).

Em adição, estudos indicam que o exercício moderado induz ao aumento dos níveis de lubricina (Ni *et al.*, 2012; Castrogiovanni *et al.*, 2019). Assim sendo, associa-se que o aumento de TGF- β , mediante estimulação de lubricina, possa resultar em inibição de TLR's e subsequente atenuação de suas respostas inflamatórias na articulação. Cenário que poderia ajudar a exemplificar achados mais significativos na diminuição de marcadores pró-inflamatórios do grupo OA + 5x.

Para averiguar se foram alcançadas alterações nos aspectos teciduais, realizou-se análises macro e histológicas. Destaca-se ainda que, embora nenhum

padrão específico ofereça correlação excepcional com a OA, a avaliação histopatológica é atualmente o padrão ouro para avaliação da OA em modelos animais (Kuyinu *et al.*, 2016).

Na análise macro, as aparências das cartilagens denunciam um efeito protetor do exercício ao passo que é possível observar degradação acentuada da cartilagem no grupo OA, enquanto os grupos tratados com exercício imprimem um aspecto estrutural semelhante ao grupo sem lesão. Indicativo que aparece conciliado com as análises bioquímicas e histológicas, com confirmação mediante avaliação de graus de lesão.

Associa-se ainda que o exercício físico em ambos os tratamentos, porém especialmente no grupo OA + 5x, foi capaz de controlar os danos causados pelo processo inflamatório e de estresse oxidativo presentes na OA. Desta forma, indicando uma tendência de reparação tecidual ao qual provavelmente repercutiu nos melhores achados histológicos evidenciados nos grupos com terapia de exercício.

Na escala OARSI o grupo OA alcançou níveis acima do terceiro grau de lesão, identificando descontinuidade da superfície, fissuras verticais ramificadas, perda de material da MEC e início de processo erosivo da cartilagem que, conseqüentemente, pode ter induzido à diminuição da espessura de cartilagem (Pritzker *et al.*, 2006). Fatores que indicam a confirmação do processo osteoartítico.

Por outro lado, grupos tratados com exercício inibiram a progressão da OA haja vista os baixos níveis de graus de lesão e a inibição de diminuição da espessura de cartilagem em ambos os grupos com terapia (Pritzker *et al.*, 2006). Somado a isso, o grupo OA + 5x também apresentou adaptação tecidual conforme aumento da medida de contato de superfície. Deste modo pressupõe-se que neste grupo a pressão exercida sobre a cartilagem seja diminuída mediante maior área de contato, favorecendo maior distribuição de forças mecânicas sobre o tecido cartilaginoso.

Quanto ao número de condrócitos, mediante dano cartilaginoso registrado nos dados histológicos de graus de lesão e espessura da cartilagem do grupo OA, possivelmente houve proliferação celular de tal forma que aproximou aos níveis entre os grupos. Perspectiva que vai de encontro com a literatura quando verbaliza que uma das medidas para combater danos biomecânicos e/ou bioquímicos da cartilagem, resulta no aumento do número de células na tentativa de reparar a lesão, mas que devido limitações teciduais, pode acabar gerando a senescência com posterior apoptose de condrócitos. (Robins *et al.*, 2013; Lammert e Zeeb, 2014; Woodell-May e

Sommerfeld, 2020). Fato que a julgar pelo quadro inflamatório e de estresse oxidativo persistente evidenciado nos achados do presente estudo, estima-se que caso o experimento fosse conduzido por mais tempo, possivelmente incorreria na condução da morte celular no referido grupo.

Porém nos grupos exercitados, a semelhança dos resultados de número de condrócitos com o grupo sham, pode indicar o papel protetor do exercício refletido pelo baixo grau de lesão e pela inibição da diminuição da espessura de cartilagem. Aspecto que pode estar alinhado também com o papel condroprotetor mediante inibição de ERO, que por sua vez promovem caspases 3 e 9 associadas com a apoptose de condrócitos (Zahan *et al.*, 2020; de Sire *et al.*, 2021; Setti *et al.*, 2021).

Por fim, outro aspecto do exercício físico moderado envolve a ação mecânica do movimento que, ressalvadas proporções adequadas, estimula maior difusão do líquido sinovial na cartilagem, proporcionando mais nutrientes e oxigênio para condrócitos (Iijima *et al.*, 2016a; Castrogiovanni *et al.*, 2019). Com isso, apesar de ambas as terapias mostrarem modular parâmetros bioquímicos e histológicos, estima-se que maiores frequências de exercício semanais podem propiciar um ambiente nutritivo mais persistente para condrócitos, estimulando melhor homeostase local. Corroborando, mediante conjuntura geral dos parâmetros investigados, com os melhores resultados evidenciados no grupo OA + 5x (figura 19).

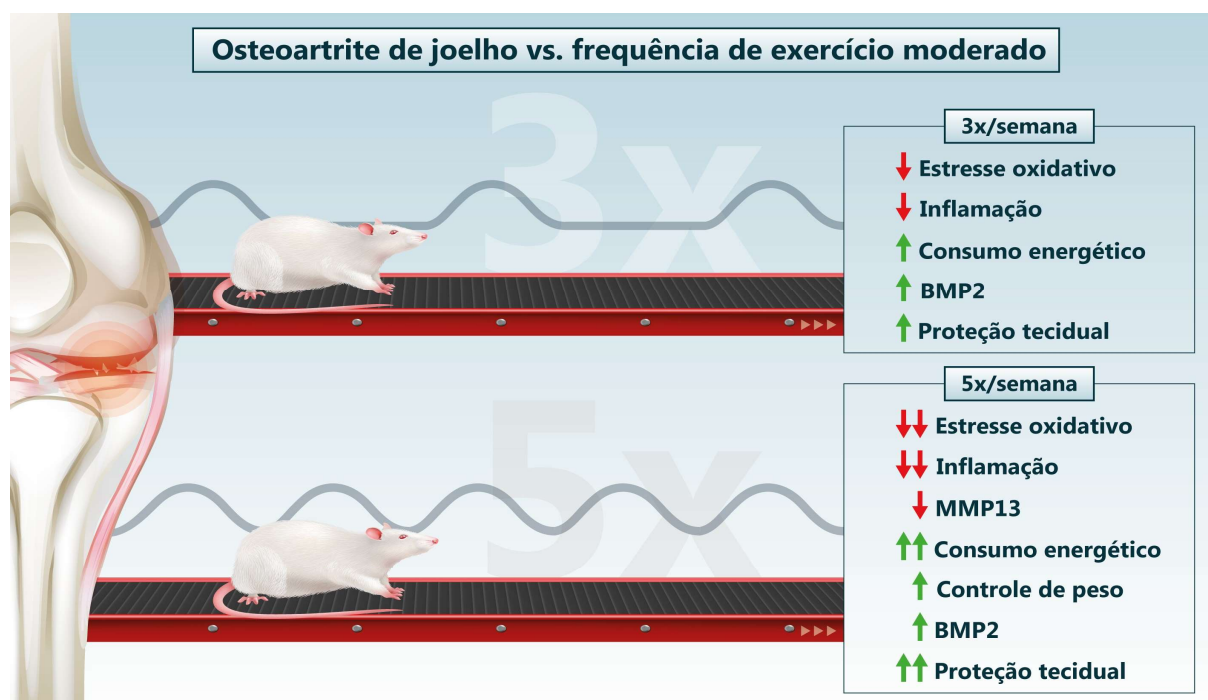


Figura 19: Síntese dos principais achados sobre diferentes frequências de exercício moderado como tratamento para OA de joelho.

Fonte: Própria autoria

6. CONCLUSÃO

Considerando-se os aspectos elencados neste estudo, ambos os tratamentos com diferentes frequências de exercício moderado em esteira mostraram atenuar os processos de desenvolvimento da OA, sinalizando o efeito protetor da cartilagem a partir do uso de exercício como terapia. Entretanto, a partir dos parâmetros analisados, a frequência de 5x semanais de exercício foi apontada com maior quantidade de resultados benéficos. O maior número de sessões de exercício provou modular o estado redox, estimular redução de marcadores pró-inflamatórios e catabólicos, induzir estados anti-inflamatórios e anabólicos, além de inibir a progressão tecidual da doença de OA.

Adicionalmente, o estresse mecânico provocado pelo exercício de impacto em esteira, não repercutiu em avanços na OA. Pelo contrário, o movimento mecânico do exercício moderado, especialmente na dosagem com maior frequência, estima-se acarretar na irrigação mais persistente da cartilagem, provocando melhor ambiente homeostático conforme maior entrega de nutrientes e oxigênio para condrócitos.

Desta forma, neste estudo o exercício reafirmou-se como terapia benéfica para impedir os efeitos deletérios da OA. Porém, evidencia-se a frequência de 5x semanais de exercício moderado como dosagem com maiores benefícios para o tratamento da OA. Outrora, embora os modelos animais expressem associação com patogêneses humanas, estudos clínicos são indicados para averiguar a complexidade dos efeitos do exercício e de processos envolvidos na patogênese da OA.

REFERÊNCIAS

- Aksenov MY, Markesbery WR. Changes in thiol content and expression of glutathione redox system genes in the hippocampus and cerebellum in Alzheimer's disease. *Neurosci Lett*. 2001;302(2-3):141-5.
- Al-Hashem F, El Karib AO, Bin-Jaliah I, Dallak M, Sakr HF, Eid RA, et al. Exercise protects against insulin-dependent diabetes-induced osteoarthritis in rats: A scanning electron microscopy study. *Ultrastructural pathology*. 2017;41(3):252-7.
- Allen J, Imbert I, Havelin J, Henderson T, Stevenson G, Liaw L, et al. Effects of Treadmill Exercise on Advanced Osteoarthritis Pain in Rats. *Arthritis & rheumatology (Hoboken, NJ)*. 2017;69(7):1407-17.
- Allen J, Sun Y, Woods JA. Exercise and the Regulation of Inflammatory Responses. *Progress in molecular biology and translational science*. 2015;135:337-54.
- Almonte-Becerril M, Gimeno LI, Villarroya O, Benito-Jardón M, Kouri JB, Costell M. Genetic abrogation of the fibronectin- $\alpha 5\beta 1$ integrin interaction in articular cartilage aggravates osteoarthritis in mice. *PloS one*. 2018;13(6):e0198559.
- Alquraini A, Garguilo S, D'Souza G, Zhang LX, Schmidt TA, Jay GD, et al. The interaction of lubricin/proteoglycan 4 (PRG4) with toll-like receptors 2 and 4: an anti-inflammatory role of PRG4 in synovial fluid. *Arthritis research & therapy*. 2015;17:353.
- Andrea Vargasa C, Sandoval KA, Salvo CA, del Sol M, Ernesto Ottone N. Exercise in Rats Osteoarthritis. Morphological Aspects and Literature Review. *International Journal of Morphology*. 2020;38(2):481-91.
- Assis L, Almeida T, Milares LP, dos Passos N, Araújo B, Bublitz C, et al. Musculoskeletal Atrophy in an Experimental Model of Knee Osteoarthritis: The Effects of Exercise Training and Low-Level Laser Therapy. *American journal of physical medicine & rehabilitation*. 2015;94(8):609-16.
- Assis L, Milares LP, Almeida T, Tim C, Magri A, Fernandes KR, et al. Aerobic exercise training and low-level laser therapy modulate inflammatory response and degenerative process in an experimental model of knee osteoarthritis in rats. *Osteoarthritis and cartilage*. 2016;24(1):169-77.
- Assis L, Tim C, Magri A, Fernandes KR, Vassão PG, Renno ACM. Interleukin-10 and collagen type II immunoexpression are modulated by photobiomodulation associated to aerobic and aquatic exercises in an experimental model of osteoarthritis. *Lasers in medical science*. 2018;33(9):1875-82.
- Bannister JV, Calabrese L. Assays for superoxide dismutase. *Methods Biochem Anal*. 1987(0076-6941 (Print)).
- Bao JP, Chen WP, Wu LD. Lubricin: a novel potential biotherapeutic approaches for the treatment of osteoarthritis. *Mol Biol Rep*. 2011(1573-4978 (Electronic)).

Beckett J, Jin W, Schultz M, Chen A, Tolbert D, Moed BR, et al. Excessive running induces cartilage degeneration in knee joints and alters gait of rats. *Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society*. 2012;30(10):1604-10.

Benatti FB, Pedersen BK. Exercise as an anti-inflammatory therapy for rheumatic diseases—myokine regulation. *Nature Reviews Rheumatology*. 2015;11(2):86-97.

Biswas SK. Does the Interdependence between Oxidative Stress and Inflammation Explain the Antioxidant Paradox? *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2016;2016:5698931.

Blaney Davidson EN, van Caam AP, van der Kraan PM. Osteoarthritis year in review 2016: biology. *Osteoarthritis and cartilage*. 2017;25(2):175-80.

Boudenot A, Presle N, Uzbekov R, Toumi H, Pallu S, Lespessailles E. Effect of interval-training exercise on subchondral bone in a chemically-induced osteoarthritis model. *Osteoarthritis and cartilage*. 2014;22(8):1176-85.

Bricca A, Juhl CB, Grodzinsky AJ, Roos EM. Impact of a daily exercise dose on knee joint cartilage - a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials in healthy animals. *Osteoarthritis and cartilage*. 2017;25(8):1223-37.

Bricca A, Juhl CB, Steultjens M, Roos EM. Impact of daily exercise dose on knee joint cartilage thickness in healthy animals-a meta-analysis of published randomized control trials. *Osteoarthritis and cartilage*. 2016;24((Bricca A.; Juhl C.B.; Roos E.M.) Univ. of Southern Denmark, Odense, Denmark):S404.

Cassina A, Radi R. Differential inhibitory action of nitric oxide and peroxynitrite on mitochondrial electron transport. *Archives of biochemistry and biophysics*. 1996;328(2):309-16.

Castañeda Sanz S, Bruges-Armas J, Herrero-Beaumont G. [Importance of subchondral bone and synovial membrane on the pathogenesis and treatment of osteoarthritis]. *Acta reumatologica portuguesa*. 2006;31(3):205-13.

Castrogiovanni P, Di Rosa M, Ravalli S, Castorina A, Guglielmino C, Imbesi R, et al. Moderate Physical Activity as a Prevention Method for Knee Osteoarthritis and the Role of Synoviocytes as Biological Key. *International journal of molecular sciences*. 2019;20(3).

Cerqueira É, Marinho DA, Neiva HP, Lourenço O. Inflammatory Effects of High and Moderate Intensity Exercise—A Systematic Review. 2020;10.

Chae SY, Lee M, Kim SW, Bae YH. Protection of insulin secreting cells from nitric oxide induced cellular damage by crosslinked hemoglobin. *Biomaterials*. 2004(0142-9612 (Print)).

Chen L, Lou Y, Pan Z, Cao X, Zhang L, Zhu C, et al. Treadmill and wheel exercise protect against JNK/NF-κB induced inflammation in experimental models of knee osteoarthritis. *Biochemical and biophysical research communications*. 2020;523(1):117-22.

Chow LS, Gerszten RE, Taylor JM, Pedersen BK, van Praag H, Trappe S, et al. Exerkines in health, resilience and disease. *Nature reviews Endocrinology*. 2022;18(5):273-89.

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

Cormier J, Cone K, Lanpher J, Kinens A, Henderson T, Liaw L, et al. Exercise reverses pain-related weight asymmetry and differentially modulates trabecular bone microarchitecture in a rat model of osteoarthritis. *Life sciences*. 2017;180:51-9.

Cruz R, Ramírez C, Rojas OI, Casas-Mejía O, Kouri JB, Vega-López MA. Menisectomized miniature Vietnamese pigs develop articular cartilage pathology resembling osteoarthritis. *Pathology, research and practice*. 2015;211(11):829-38.

da Silva LA, Pinho CA, Rocha LG, Tuon T, Silveira PC, Pinho RA. Effect of different models of physical exercise on oxidative stress markers in mouse liver. *Applied physiology, nutrition, and metabolism = Physiologie appliquee, nutrition et metabolisme*. 2009;34(1):60-5.

da Silva LA, Thirupathi A, Colares MC, Haupenthal D, Venturini LM, Corrêa M, et al. The effectiveness of treadmill and swimming exercise in an animal model of osteoarthritis. *Front Physiol*. 2023;14:1101159.

de Sire A, Marotta N, Marinaro C, Curci C, Invernizzi M, Ammendolia A. Role of Physical Exercise and Nutraceuticals in Modulating Molecular Pathways of Osteoarthritis. *International journal of molecular sciences*. 2021;22(11).

Ding DF, Xue Y, Wu XC, Zhu ZH, Ding JY, Song YJ, et al. Recent Advances in Reactive Oxygen Species (ROS)-Responsive Polyfunctional Nanosystems 3.0 for the Treatment of Osteoarthritis. *Journal of inflammation research*. 2022;15:5009-26.

Fadilah NI, Phang SJ, Kamaruzaman N, Salleh A, Zawani M, Sanyal A, et al. Antioxidant Biomaterials in Cutaneous Wound Healing and Tissue Regeneration: A Critical Review. *Antioxidants* [Internet]. 2023; 12(4). Available from: https://mdpi-res.com/d_attachment/antioxidants/antioxidants-12-00787/article_deploy/antioxidants-12-00787-v3.pdf?version=1681184587.

Fang L, Lin L, Lv Y, Huang Z, Lin X, Wang X, et al. The mechanism of aerobic exercise combined with glucosamine therapy and circUNK in improving knee osteoarthritis in rabbits. *Life sciences*. 2021;275:119375.

Febbraio MA. Health benefits of exercise — more than meets the eye! *Nature Reviews Endocrinology*. 2017;13(2):72-4.

Febbraio MA, Pedersen BK. Muscle-derived interleukin-6: mechanisms for activation and possible biological roles. 2002;16(11):1335-47.

Fischer JC, Ruitenbeek W, Berden JA, Trijbels JM, Veerkamp JH, Stadhouders AM, et al. Differential investigation of the capacity of succinate oxidation in human skeletal

muscle. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 1985;153(1):23-36.

Flynn MG, McFarlin BK. Toll-like receptor 4: link to the anti-inflammatory effects of exercise? *Exercise and sport sciences reviews*. 2006;34(4):176-81.

Global Burden of Disease Collaborative Network. Global Burden of Disease Study 2019 (GBD 2019) results [Internet]. 2019 [cited 02 Nov 2021]. Available from: <http://ghdx.healthdata.org/gbd-results-tool>.

Gleeson M, Bishop NC, Stensel DJ, Lindley MR, Mastana SS, Nimmo MA. The anti-inflammatory effects of exercise: mechanisms and implications for the prevention and treatment of disease. *Nature Reviews Immunology*. 2011;11(9):607-15.

Gleeson M, McFarlin B, Flynn M. Exercise and Toll-like receptors. *Exercise immunology review*. 2006;12:34-53.

Glyn-Jones S, Palmer AJR, Agricola R, Price AJ, Vincent TL, Weinans H, et al. Osteoarthritis. *The Lancet*. 2015;386(9991):376-87.

Gomes EC, Silva AN, de Oliveira MR. Oxidants, antioxidants, and the beneficial roles of exercise-induced production of reactive species. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2012;2012:756132.

Griffin TM, Batushansky A, Hudson J, Lopes EBP. Correlation network analysis shows divergent effects of a long-term, high-fat diet and exercise on early stage osteoarthritis phenotypes in mice. *Journal of sport and health science*. 2020;9(2):119-31.

Gronau T, Krüger K, Prein C, Aszodi A, Gronau I, Iozzo RV, et al. Forced exercise-induced osteoarthritis is attenuated in mice lacking the small leucine-rich proteoglycan decorin. *Annals of the rheumatic diseases*. 2017;76(2):442-9.

Han D, Loukianoff S, McLaughlin L. Part VII • Chapter 17 - Oxidative stress indices: analytical aspects and significance. In: Sen CK, Packer L, Hänninen OOP, editors. *Handbook of Oxidants and Antioxidants in Exercise*. Amsterdam: Elsevier Science B.V.; 2000. p. 433-83.

Hissin PJ, Hilf R. A fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues. *Anal Biochem*. 1976(0003-2697 (Print)).

Humphrey JD, O'Rourke SL. *An Introduction to Biomechanics: Solids and Fluids, Analysis and Design*: Springer New York; 2015.

Hunter DJ. Viscosupplementation for osteoarthritis of the knee. *The New England journal of medicine*. 2015;372(11):1040-7.

Hunter DJ, Felson DT. Osteoarthritis. 2006;332(7542):639-42.

Hunter DJ, Schofield D, Callander E. The individual and socioeconomic impact of osteoarthritis. *Nature reviews Rheumatology*. 2014;10(7):437-41.

Iijima H, Aoyama T, Ito A, Tajino J, Yamaguchi S, Nagai M, et al. Exercise intervention increases expression of bone morphogenetic proteins and prevents the progression of cartilage-subchondral bone lesions in a post-traumatic rat knee model. *Osteoarthritis and cartilage*. 2016a;24(6):1092-102.

Iijima H, Aoyama T, Ito A, Yamaguchi S, Nagai M, Tajino J, et al. Effects of short-term gentle treadmill walking on subchondral bone in a rat model of instability-induced osteoarthritis. *Osteoarthritis and cartilage*. 2015;23(9):1563-74.

Iijima H, Aoyama T, Tajino J, Ito A, Nagai M, Yamaguchi S, et al. Subchondral plate porosity colocalizes with the point of mechanical load during ambulation in a rat knee model of post-traumatic osteoarthritis. *Osteoarthritis and cartilage*. 2016b;24(2):354-63.

Iijima H, Ito A, Nagai M, Tajino J, Yamaguchi S, Kiyan W, et al. Physiological exercise loading suppresses post-traumatic osteoarthritis progression via an increase in bone morphogenetic proteins expression in an experimental rat knee model. *Osteoarthritis and cartilage*. 2017;25(6):964-75.

Jacobs BY, Dunnigan K, Pires-Fernandes M, Allen KD. Unique spatiotemporal and dynamic gait compensations in the rat monoiodoacetate injection and medial meniscus transection models of knee osteoarthritis. *Osteoarthritis and cartilage*. 2017;25(5):750-8.

Jones G, Glisson M, Hynes K, Cicuttini F. Sex and site differences in cartilage development: a possible explanation for variations in knee osteoarthritis in later life. *Arthritis and rheumatism*. 2000;43(11):2543-9.

Juan CA, Pérez de la Lastra JM, Plou FJ, Pérez-Lebeña E. The Chemistry of Reactive Oxygen Species (ROS) Revisited: Outlining Their Role in Biological Macromolecules (DNA, Lipids and Proteins) and Induced Pathologies. *International journal of molecular sciences*. 2021;22(9).

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

Kim JE, Song DH, Kim SH, Jung Y, Kim SJ. Development and characterization of various osteoarthritis models for tissue engineering. *PloS one*. 2018;13(3):e0194288.

Kirk B, Feehan J, Lombardi G, Duque G. Muscle, Bone, and Fat Crosstalk: the Biological Role of Myokines, Osteokines, and Adipokines. *Current osteoporosis reports*. 2020;18(4):388-400.

Kolasinski SL, Neogi T, Hochberg MC, Oatis C, Guyatt G, Block J, et al. 2019 American College of Rheumatology/Arthritis Foundation Guideline for the Management of Osteoarthritis of the Hand, Hip, and Knee. *Arthritis care & research*. 2020;72(2):149-62.

Kuyinu EL, Narayanan G, Nair LS, Laurencin CT. Animal models of osteoarthritis: classification, update, and measurement of outcomes. *Journal of orthopaedic surgery and research*. 2016;11:19.

Lammert E, Zeeb M. *Metabolism of Human Diseases: Organ Physiology and Pathophysiology*: Springer Vienna; 2014.

Lancaster GI, Khan Q, Drysdale P, Wallace F, Jeukendrup AE, Drayson MT, et al. The physiological regulation of toll-like receptor expression and function in humans. *The Journal of physiology*. 2005;563(Pt 3):945-55.

Leandro CG, Levada AC, Hirabara SM, Manhães-de-Castro R, De-Castro CB, Curi R, et al. A program of moderate physical training for Wistar rats based on maximal oxygen consumption. *Journal of strength and conditioning research*. 2007;21(3):751-6.

Levine RL, Garland D, Oliver CN, Amici A, Climent I, Lenz AG, et al. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol*. 1990(0076-6879 (Print)).

Liu SS, Zhou P, Zhang Y. Abnormal expression of key genes and proteins in the canonical Wnt/ β -catenin pathway of articular cartilage in a rat model of exercise-induced osteoarthritis. *Molecular medicine reports*. 2016;13(3):1999-2006.

Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem*. 1951(0021-9258 (Print)).

Ma N, Wang T, Bie L, Zhao Y, Zhao L, Zhang S, et al. Comparison of the effects of exercise with chondroitin sulfate on knee osteoarthritis in rabbits. *Journal of orthopaedic surgery and research*. 2018;13(1):16.

Magliulo L, Bondi D, Pini N, Marramiero L, Di Filippo ES. The wonder exerkines—novel insights: a critical state-of-the-art review. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 2022;477(1):105-13.

Mao X, Fu P, Wang L, Xiang C. Mitochondria: Potential Targets for Osteoarthritis. *Frontiers in medicine*. 2020;7:581402.

Mazor M, Best TM, Cesaro A, Lespessailles E, Toumi H. Osteoarthritis biomarker responses and cartilage adaptation to exercise: A review of animal and human models. *Scandinavian journal of medicine & science in sports*. 2019;29(8):1072-82.

McCoy AM. Animal Models of Osteoarthritis: Comparisons and Key Considerations. *Veterinary pathology*. 2015;52(5):803-18.

Metsios GS, Moe RH, Kitas GD. Exercise and inflammation. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*. 2020;34(2):101504.

Milares LP, Assis L, Siqueira A, Claudino V, Domingos H, Almeida T, et al. Effectiveness of an aquatic exercise program and low-level laser therapy on articular cartilage in an experimental model of osteoarthritis in rats. *Connective tissue research*. 2016;57(5):398-407.

Miyatake K, Muneta T, Ojima M, Yamada J, Matsukura Y, Abula K, et al. Coordinate and synergistic effects of extensive treadmill exercise and ovariectomy on articular cartilage degeneration. *BMC musculoskeletal disorders*. 2016;17:238.

Molnar V, Matišić V, Kodvanj I, Bjelica R, Jeleč Ž, Hudetz D, et al. Cytokines and Chemokines Involved in Osteoarthritis Pathogenesis. 2021;22(17):9208.

Moriyama H, Kanemura N, Brouns I, Pintelon I, Adriaensen D, Timmermans JP, et al. Effects of aging and exercise training on the histological and mechanical properties of articular structures in knee joints of male rat. *Biogerontology*. 2012;13(4):369-81.

Moscardi L, Espíndola T, Ferreira A, Alves N, Amaral M, Aro A, et al. Lasertherapy as A Strategy for Treatment Healing under Caloric Restriction – Study in Rats. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2018;6.

National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine. GENE [Internet]. 2022 [cited 14 jan 2022]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene>.

Ni GX, Lei L, Zhou YZ. Intensity-dependent effect of treadmill running on lubricin metabolism of rat articular cartilage. *Arthritis research & therapy*. 2012;14(6).

Ouchi N, Parker JL, Lugus JJ, Walsh K. Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nature Reviews Immunology*. 2011;11(2):85-97.

Peng KT, Liu JF, Chiang YC, Chen PC, Chiang MH, Shih HN, et al. Particulate matter exposure aggravates osteoarthritis severity. *Clinical science (London, England : 1979)*. 2019;133(21):2171-87.

Percie du Sert N, Hurst V, Ahluwalia A, Alam S, Avey MT, Baker M, et al. The ARRIVE guidelines 2.0: Updated guidelines for reporting animal research. *PLoS biology*. 2020;18(7):e3000410.

Pereira B, Curi R, Kokubun E, Bechara EJ. 5-aminolevulinic acid-induced alterations of oxidative metabolism in sedentary and exercise-trained rats. *Journal of applied physiology (Bethesda, Md : 1985)*. 1992;72(1):226-30.

Pritzker KP, Gay S, Jimenez SA, Ostergaard K, Pelletier JP, Revell PA, et al. Osteoarthritis cartilage histopathology: grading and staging. *Osteoarthritis Cartilage*. 2006(1063-4584 (Print)).

Robins PB, Vinay K, Abul KA, Jon CA. Robins, *Patologia Básica*. 9º ed. Rio de Janeiro 2013. 928 p.

Roughley PJ, Mort JS. The role of aggrecan in normal and osteoarthritic cartilage. *Journal of experimental orthopaedics*. 2014;1(1):8.

Ryan DG, Murphy MP, Frezza C, Prag HA, Chouchani ET, O'Neill LA, et al. Coupling Krebs cycle metabolites to signalling in immunity and cancer. *Nature metabolism*. 2019;1:16-33.

Scheffer DdL, Latini A. Exercise-induced immune system response: Anti-inflammatory status on peripheral and central organs. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*. 2020;1866(10):165823.

Scher JU, Pillinger MH. The anti-inflammatory effects of prostaglandins. *Journal of Investigative Medicine*. 2009;57(6):703-8.

Serra CI, Soler C. Animal Models of Osteoarthritis in Small Mammals. *The veterinary clinics of North America Exotic animal practice*. 2019;22(2):211-21.

Setti T, Arab MGL, Santos GS, Alkass N, Andrade MAP, Lana J. The protective role of glutathione in osteoarthritis. *Journal of clinical orthopaedics and trauma*. 2021;15:145-51.

Siebelt M, Groen HC, Koelewijn SJ, de Blois E, Sandker M, Waarsing JH, et al. Increased physical activity severely induces osteoarthritic changes in knee joints with papain induced sulfate-glycosaminoglycan depleted cartilage. *Arthritis research & therapy*. 2014;16(1):R32.

Siebelt M, Jahr H, Groen HC, Sandker M, Waarsing JH, Kops N, et al. Hsp90 inhibition protects against biomechanically induced osteoarthritis in rats. *Arthritis and rheumatism*. 2013;65(8):2102-12.

Son KM, Jung HA, Hong JI, Park IY, Kim HA. Development of a Mouse Model of Knee Osteoarthritis Based on Obesity and Bipedal Walking. *Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society*. 2019;37(11):2411-9.

Srere PA. Citrate synthase: [EC 4.1.3.7. Citrate oxaloacetate-lyase (CoA-acetylating)]. *Methods in Enzymology*. 13: Academic Press; 1969. p. 3-11.

Szychlinska MA, Castrogiovanni P, Trovato FM, Nsir H, Zarrouk M, Lo Furno D, et al. Physical activity and Mediterranean diet based on olive tree phenolic compounds from two different geographical areas have protective effects on early osteoarthritis, muscle atrophy and hepatic steatosis. *European journal of nutrition*. 2019;58(2):565-81.

Takada S, Nakamura E, Sabanai K, Tsukamoto M, Otomo H, Kanoh S, et al. Attenuation of Post-Traumatic Osteoarthritis After Anterior Cruciate Ligament Injury Via Inhibition of Hedgehog Signaling. *Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society*. 2020;38(3):609-19.

Thielen NGM, van der Kraan PM, van Caam APM. TGF β /BMP Signaling Pathway in Cartilage Homeostasis. *Cells*. 2019;8(9).

Thote T, Lin AS, Raji Y, Moran S, Stevens HY, Hart M, et al. Localized 3D analysis of cartilage composition and morphology in small animal models of joint degeneration. *Osteoarthritis and cartilage*. 2013;21(8):1132-41.

Tian Y, Gou J, Zhang H, Lu J, Jin Z, Jia S, et al. The anti-inflammatory effects of 15-HETE on osteoarthritis during treadmill exercise. *Life sciences*. 2021;273:119260.

Tirosh O, Reznick AZ. Part III • Chapter 4 - Chemical bases and biological relevance of protein oxidation. In: Sen CK, Packer L, Hänninen OOP, editors. *Handbook of Oxidants and Antioxidants in Exercise*. Amsterdam: Elsevier Science B.V.; 2000. p. 89-114.

Tomazoni SS, Leal-Junior EC, Frigo L, Pallotta RC, Teixeira S, de Almeida P, et al. Isolated and combined effects of photobiomodulation therapy, topical nonsteroidal anti-inflammatory drugs, and physical activity in the treatment of osteoarthritis induced by papain. *Journal of biomedical optics*. 2016;21(10):108001.

Tomazoni SS, Leal-Junior EC, Pallotta RC, Teixeira S, de Almeida P, Lopes-Martins R. Effects of photobiomodulation therapy, pharmacological therapy, and physical exercise as single and/or combined treatment on the inflammatory response induced by experimental osteoarthritis. *Lasers in medical science*. 2017;32(1):101-8.

Tromm CB, Rosa GLd, Bom K, Mariano I, Pozzi B, Tuon T, et al. Effect of different frequencies weekly training on parameters of oxidative stress. *Revista brasileira de cineantropometria & desempenho humano*. 2011;14(1):52-60.

Tsai LC, Cooper ES, Hetzendorfer KM, Warren GL, Chang YH, Willett NJ. Effects of treadmill running and limb immobilization on knee cartilage degeneration and locomotor joint kinematics in rats following knee meniscal transection. *Osteoarthritis and cartilage*. 2019;27(12):1851-9.

Wang H, Joseph JAJFRB, Medicine. Quantifying cellular oxidative stress by dichlorofluorescein assay using microplate reader. 1999;27(5-6):612-6.

Wittenauer R, Smith L, Aden K. Background Paper 6.12 Osteoarthritis. Priority Medicines for Europe and the World "A Public Health Approach to Innovation" Update on the 2004 Background Paper 2013.

Wojdasiewicz P, Poniatowski ŁA, Szukiewicz D. The Role of Inflammatory and Anti-Inflammatory Cytokines in the Pathogenesis of Osteoarthritis. *Mediators of Inflammation*. 2014;2014:561459.

Woodell-May JE, Sommerfeld SD. Role of Inflammation and the Immune System in the Progression of Osteoarthritis. *Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society*. 2020;38(2):253-7.

Wu CL, Harasymowicz NS, Klimak MA, Collins KH, Guilak F. The role of macrophages in osteoarthritis and cartilage repair. *Osteoarthritis and cartilage*. 2020;28(5):544-54.

Yamada EF, Salgueiro AF, Goulart ADS, Mendes VP, Anjos BL, Folmer V, et al. Evaluation of monosodium iodoacetate dosage to induce knee osteoarthritis: Relation with oxidative stress and pain. *International journal of rheumatic diseases*. 2019;22(3):399-410.

Yamaguchi S, Aoyama T, Ito A, Nagai M, Iijima H, Zhang X, et al. Effects of exercise level on biomarkers in a rat knee model of osteoarthritis. *Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society*. 2013;31(7):1026-31.

Yang Y, Wang Y, Kong Y, Zhang X, Bai L. The effects of different frequency treadmill exercise on lipoxin A4 and articular cartilage degeneration in an experimental model of monosodium iodoacetate-induced osteoarthritis in rats. *PloS one*. 2017;12(6):e0179162.

Zahan OM, Serban O, Gherman C, Fodor D. The evaluation of oxidative stress in osteoarthritis. *Medicine and pharmacy reports*. 2020;93(1):12-22.

Zhang W, Chen L, Xiong Y, Panayi AC, Abududilibaier A, Hu Y, et al. Antioxidant Therapy and Antioxidant-Related Bionanomaterials in Diabetic Wound Healing. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2021;9.

Zhang X, Yang Y, Li X, Zhang H, Gang Y, Bai L. Alterations of autophagy in knee cartilage by treatment with treadmill exercise in a rat osteoarthritis model. *International journal of molecular medicine*. 2019;43(1):336-44.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Tabela de artigos relacionando OA e protocolos de exercícios

Autor	Amostra	Modelo OA	Exercício Físico (EF)						Desfecho de frequência do EF?
			Início do tratamento	Desenho do estudo	Intensidade	Duração	Frequência (/semana)	Período	
(Beckett <i>et al.</i>, 2012)	12 ratos Wistar machos (16-18 semanas)	Sobrecarga de Exercício	Após 16-18ª semana de vida	6 - EF Esteira 6 - Sedentários	18,2 m/min	55min 2x ao dia (6 horas de intervalo)	5x	3 e 6 semanas	Sem análise da frequência do EF
(Moriyama <i>et al.</i>, 2012)	14 ratos Wistar machos (4 com dez semanas e ~170g, além de 10 com dois anos e ~450g)	Natural	Após 10 semanas e após 2 anos	3 - EF Esteira 3 - Plataforma vibratória 4 ratos maduros s/ EF 4 ratos jovens s/ EF	Esteira 11,8m/min Plataforma 25rpm (7º inclinação)	1h	5x	n/a	Sem análise da frequência do EF
(Kim <i>et al.</i>, 2013)	Camundongos C57BL (9 semanas, ~23g)	DMM ¹	n/a - após a cirurgia	15 - 1200m/dia 15 - 800m/dia 15 - 400m/dia 15 - S/EF (EF em esteira)	15m/min (10min de aquecimento a 10m/min)	73 min 47 min 20 min	6x	2, 4 e 8 semanas	Sem análise da frequência do EF
(Siebelt <i>et al.</i>, 2013)	38 ratos Wistar machos (16 semanas)	Sobrecarga de Exercício	Após 16 semana de vida	6 - S/ intervenção 12 - OA 12 - Tratados (EF em esteira)	33,3cm/seg (10min de aquecimento a 20cm/seg)	1h (10+50min)	5x	6 e 12 semanas	Sem análise da frequência do EF

¹ DMM: Desestabilização do Menisco Medial

(Yamaguchi <i>et al.</i>, 2013)	47 ratos wistar machos (8 semanas, ~228g)	TLCA	n/a - após a cirurgia	12 - EF intenso 11 - EF moderado 12 - TLCA s/ EF 12 - S/ intervenção (EF em esteira)	18m/min 18m/min	60min 30min	3x	2 e 4 semanas	Sem análise da frequência do EF
(Boudenot <i>et al.</i>, 2014)	48 ratos wistar machos (8 semanas)	MIA ²	Tratamento foi anterior a indução do modelo.	12 – Controle 12 - OA 12 - EF 12 - EF e OA (EF intervalado em esteira)	7 ciclos, cada um com: - 5min de 8 a 15m/min - 2 min a 14 a 24m/min - 1 min. recuperação passiva. (o 7º ciclo termina com recuperação ativa de 4min)	1h	5x	10 semanas de EF	Sem análise da frequência do EF
(Siebelt <i>et al.</i>, 2014)	40 ratos Wistar machos (16 semanas)	Injeção de papaína	3 aplicações concomitante ao tratamento: dias 8, 15 e 22	20 - Sedentários 20 - Corredores (EF em esteira)	35cm/seg (5min de aquecimento a 20cm/seg)	30min	5x	6 semanas	Sem análise da frequência do EF
(Assis <i>et al.</i>, 2015)	50 ratos Wistar machos (6 semanas, ~150g)	TLCA	4 semanas após a cirurgia	10 - Controle 10 - OA 10 - OA c/ EF 10 - OA c/ laser 10 - OA c/ EF + laser (EF em esteira)	16m/min	50min	3x	8 semanas	Sem análise da frequência do EF

² MIA: Monoiodoacetato de Sódio

(Cruz <i>et al.</i>, 2015)	20 porcos Vietnamitas, 11 machos e 9 fêmeas (9 semanas, ~9kg)	TMM ³	8 dias após a cirurgia	11 - EF + OA 9 - EF s/ OA (caminhada sobre plataforma de madeira)	n/a	20min	7x	20 dias	Sem análise da frequência do EF
(Iijima <i>et al.</i>, 2015)	84 Ratos Wistar (12 semanas, ~272g)	DMM	2 dias após a cirurgia	42 - EF esteira 42 - Sedentários	12m/min	30min	5x	1, 2 e 4 semanas	Sem análise da frequência do EF
(Assis <i>et al.</i>, 2016)	50 ratos Wistar machos (8 semanas, ~150g)	TCLA	4 semanas após a cirurgia	10 - Controle 10 - OA 10 - OA + EF 10 - OA + laser 10 - OA + EF + laser (EF em esteira)	16m/min	50min	3x	8 semanas	Sem análise da frequência do EF
(Iijima <i>et al.</i>, 2016a)	37 Ratos Wistar machos (12 semanas, ~272g)	DMM	2 dias ou 4 semanas após a cirurgia.	10 - Controle 8 - Dia 2 até 4ª sem. 8 - 4ª sem. até 8ª sem. 8 - Dia 2 até 8ª sem. (EF em esteira)	12m/min	30min	5x	4 e 8 semanas	Sem análise da frequência do EF
(Iijima <i>et al.</i>, 2016b)	38 Ratos Wistar machos (12 semanas, ~274g)	DMM	n/a	19 - 2 semanas 19 - 4 semanas (EF em esteira)	12m/min	n/a	n/a	2 e 4 semanas	Sem análise da frequência do EF

³ TMM: Transecção do Menisco Medial

(Liu <i>et al.</i>, 2016)	30 ratos Sprague Dawley machos (6 semanas, ~195g)	TLCAP ⁴	7 dias após a cirurgia.	10 - Controle 10 - EF 10 - EF + OA (EF em esteira)	16m/min	30min	6x	2 semanas	Sem análise da frequência do EF
(Milares <i>et al.</i>, 2016)	40 ratos Wistar machos (8 semanas, ~150g)	TCLA	4 semanas após a cirurgia.	10 - OA s/ tratamento 10 - OA + EF 10 - OA + laser 10 - OA + EF + laser (EF na água)	Carga progressiva de 20, 30, 40, 50, 60, 70, e 80% do peso do animal	4 séries de 10 mergulhos cada	3x	8 semanas	Sem análise da frequência do EF
(Miyatake <i>et al.</i>, 2016)	Camundongos Balb / cCrSlc fêmeas (8 semanas)	Sobrecarga de Exercício + Ovariectomia (OVX)	2 semanas após cirurgia	6 - Controle 10 - OVX 9 - Controle + corrida 10 - OVX + corrida (EF em esteira)	20m/min (10 min de aquecimento a 12m/min)	110min	5x	6 semanas	Sem análise da frequência do EF
(Tomazoni <i>et al.</i>, 2016)	54 ratos Wistar (~225g)	Injeção de papaína	21 dias após a última injeção. (indução em 3 aplicações, dias 1, 4 e 7)	6 - Controle 6 - OA 6 - OA + laser 6 - OA + EF 6 - OA + diclofenaco 6 - OA + EF + laser 6 - OA + diclofenaco + laser 6 - OA + EF + diclofenaco 6 - OA + EF + laser + diclofenaco (EF na água)	1ª semana 3% - 5% do peso 2ª sem. 7% - 10% 3ª sem. 10% 4ª sem. 10% 5ª sem. 10% 6ª sem. 10% 7ª sem. 10% 8ª sem. 10%	1ª semana 10 a 20 min. 2ª sem. 20min. 3ª sem. 22min. 4ª sem. 24min. 5ª sem. 26min. 6ª sem. 28min. 7ª sem. 30min. 8ª sem. 30min. (1min ativo: 1min descanso)	3x	8 semanas (destas 8 semanas, 2 primeiras foram adaptação).	Sem análise da frequência do EF

⁴ TLCAP: Transecção do Ligamento Cruzado Anterior e Posterior

(Al-Hashem <i>et al.</i>, 2017)	18 ratos Sprague-Dawley machos (10 semanas, ~175g)	Injeção de streptozotocin	48 horas após injeção	6 - Controle 6 - OA induzida por diabetes 6 - OA induzida por diabetes + EF (EF na água)	--	30min	3x	8 semanas	Sem análise da frequência do EF
(Allen <i>et al.</i>, 2017)	33 Sprague-Dawley machos (~175g)	MIA	10 dias após injeção	16 - OA + sedentário 17 - OA + EF (EF em esteira)	16m/min (1ª sem a 12m/min)	30min	4x	4 semanas	Sem análise da frequência do EF
(Cormier <i>et al.</i>, 2017)	44 Sprague-Dawley machos (~225)	MIA	7 dias e 21 dias após a injeção	7 - Sedentário 7 - EF (7 dias + 3 sem) 7 - EF (21 dias + 3 sem) 7 - OA + sedentário 8 - OA + EF (7 dias + 3 sem) 8 - OA + EF (21 dias + 3 sem) (EF em Roda)	Gaiolas individuais monitoradas com roda de atividade	Livre acesso	7x	3 semanas	Sem análise da frequência do EF
(Gronau <i>et al.</i>, 2017)	C57BL/6 (n/a)	Geneticamente modificados + Sobrecarga de exercício	n/a	- Camundongo selvagem - Camundongo deficiente em Decorina (proteoglicano) (EF em esteira com 20% inclinação)	0,28m/s	40 min	5x	6 semanas	Sem análise da frequência do EF

(Iijima <i>et al.</i>, 2017)	106 Ratos Wistar machos (12 semanas, ~262g)	DMM	4 semanas após cirurgia	20 - EF moderado 20 - EF intenso 20 - Sedentário 16 - Avaliar modelo (baseline) 6 - Monitoramento diário 18 - Inibidor de BMP Obs.: joelho direito lesão e esquerdo como controle (EF em esteira)	12m/min 21m/min	30min	5x	4 semanas	Sem análise da frequência do EF
(Tomazoni <i>et al.</i>, 2017)	54 Ratos wistar machos (~225g)	Injeção de papaína	21 dias após a última injeção. (indução em 3 aplicações, dias 1, 4 e 7)	6 - Controle 6 - OA 6 - OA + EF 6 - OA + NSAID 6 - OA + laser 6 - OA + EF + NSAID 6 - OA + EF + laser 6 - OA + NSAID + laser 6 - OA + EF + laser + NSAID (EF na água)	1 semana 3% - 5% do peso 2 sem. 7% - 10% 3 sem. 10% 4 sem. 10% 5 sem. 10% 6 sem. 10% 7 sem. 10% 8 sem. 10%	1 semana 10 a 20min 2 sem. 20min 3 sem. 22min 4 sem. 24min 5 sem. 26min 6 sem. 28min 7 sem. 30min 8 sem. 30min (1min ativo: 1min descanso)	3x	8 semanas (destas 8 semanas, 2 primeiras foram adaptação)	Sem análise da frequência do EF
(Yang <i>et al.</i>, 2017)	50 ratos Sprague-Dawley machos (8 semanas, ~230)	MIA	24h após a injeção (indução feita após semana de adaptação)	10 - Controle 10 - OA 10 - OA + 3x 20min/dia 10 - OA + 2x 30min/dia 10 - OA + 1x 60min/dia (EF em esteira)	18m/min (1ª semana de adaptação a 10m/min)	- 3x 20min/dia - 2x 30min/dia - 1x 60min/dia	5x	1 semana de adaptação + 8 de tratamento	Possui análise de frequência do exercício diário (não semanal)

CONTINUA:

(Almonte-Becerril <i>et al.</i>, 2018)	49 Camundongos Fn1RGE	Geneticamente modificado + TMM + sobrecarga de exercício	Com 5 meses de vida foi realizado cirurgia e após 1 dia, sobrecarga de exercício	- Controle (FN1 ^{wt/wt}) - Modificado (FN1 ^{RGE}) (EF em circuito)	900cm caminhada sobre barra + 10 saltos de 10 cm de altura	n/a	Diário (7X)	15 dias	Sem análise da frequência do EF
(Assis <i>et al.</i>, 2018)	50 ratos Wistar machos (6 semanas, ~150g)	TLCA	4 semanas após cirurgia	10 - Controle OA 10 - OA + EF esteira 10 - OA + EF água 10 - OA + EF esteira + laser 10 - OA + EF água + laser	Solo: 16m/min Água: 50 a 80% do peso corporal	Solo: 50min Água: 4 séries de 10 saltos	3x	1 semana de adaptação + 8 de tratamento	Sem análise da frequência do EF
(Ma <i>et al.</i>, 2018)	21 coelhos	Modelo Hulth-telhag ⁵	4 semanas após cirurgia	3 - S/ intervenção 6 - OA 6 - OA + condroitina 6 - OA + EF (EF em esteira)	n/a	30min	4x	34 dias	Sem análise da frequência do EF
(Castrogiovanni <i>et al.</i>, 2019)	32 ratos Wistar machos (~250g)	TLCA	2 semanas após a cirurgia	8 - Controle 8 - EF moderado 8 - OA 8 - OA + EF moderado (EF em esteira)	1ª semana: 5m/min 2ª sem.: 10m/min 3ª a 6ª sem.: 15m/min 7ª a 12ª sem.: 20m/min	1ª sem.: 5min 2ª sem.: 10min 3ª a 6ª sem.: 15min 7ª a 12ª sem.: 25min	3x	12 semanas	Sem análise da frequência do EF

⁵ Modelo Hulth-telhag: Transecção do Ligamento Anterior e Posterior e Remoção do Menisco

(Peng <i>et al.</i>, 2019)	Ratos LEW/SsNNarl (10 semanas, ~450g)	MIA + instilação intratraqueal de material particulado (MP)	5 semanas após MIA (após 1 semana da aplicação de MIA foi realizado modelo cirúrgico nas vias respiratórias)	- Controle - 5mg MP - MIA - MIA + 1mg MP - MIA + 2mg MP - MIA + 5mg MP (EF em esteira)	n/a	300m/dia	3x	3 meses	Sem análise da frequência do EF
(Son <i>et al.</i>, 2019)	Camundongos C57BL/6 machos (24 semanas,	Sobrecarga de exercício	8 semanas de indução da obesidade, logo após iniciou os EF	- Controle - Caminhada Bípede - Obeso - Obeso + caminhada bípede (EF em esteira)	5m/min	1h até 4h (aumento progressivo por semana até 4h)	5x	8, 10 e 12 semanas com 1ª semana de adaptação	Sem análise da frequência do EF
(Szychlińska <i>et al.</i>, 2019)	48 ratos Wistar machos (3 meses, ~300g)	TLCA	Após 1 semana da cirurgia	8 - Sedentário 8 - TLCA + Sedentário 8 - TLCA + EF 8 - TLCA + EF + óleo oliva Siciliano 8 - TLCA + EF + óleo oliva Tunisiano 8 - TLCA + EF + óleo oliva Tunisiano enriquecido (EF em esteira intervalado entre leve e moderado)	10m/min a 20m/min	20min. a 30min.	5x	12 semanas (1 semana de adaptação do EF foi realizada antes da cirurgia)	Sem análise da frequência do EF

(Tsai <i>et al.</i>, 2019)	21 ratos Lewis machos (~324g)	TMM	1 semana após a cirurgia	4 - Controle 7 - TMM 6 - TMM + EF 8 - TMM + imobilização (EF em esteira)	12m/min	30min	4x	7 semanas (1 semana de adaptação do EF foi realizada antes da cirurgia)	Sem análise da frequência do EF
(Zhang <i>et al.</i>, 2019)	30 ratos Sprague-Dawley machos (8 semanas, 230g)	MIA	24h após a injeção	10 - Controle 10 - OA 10 - OA + EF (EF em esteira)	18m/min (adaptação: 10m/min)	30min (adaptação: 10min)	5x	4 semanas (1 semana de adaptação do EF foi realizada antes da MIA)	Sem análise da frequência do EF
(Chen <i>et al.</i>, 2020)	60 ratos Sprague-Dawley machos (6 semanas, ~230g)	MIA	Grupos EF em esteira: 1 sem. antes da MIA Grupos EF em roda: 1 sem. depois da MIA	10 - Controle 10 - EF esteira 10 - EF roda 10 - OA 10 - OA + EF esteira 10 - OA + EF roda	18m/min	30min	n/a	n/a	Sem análise da frequência do EF
(Griffin <i>et al.</i>, 2020)	40 Camundongos C57BL/6 (6 semanas)	Obesidade	Após 6 semanas de idade iniciou a dieta e na 25ª semana os EF	10 - Controle s/ EF 10 - Controle EF 10 - Dieta calórica + S/ EF 10 - Dieta calórica + EF (EF em roda)	Gaiolas individuais monitoradas com roda de atividade	Livre acesso	7x	12 semanas	Sem análise da frequência do EF

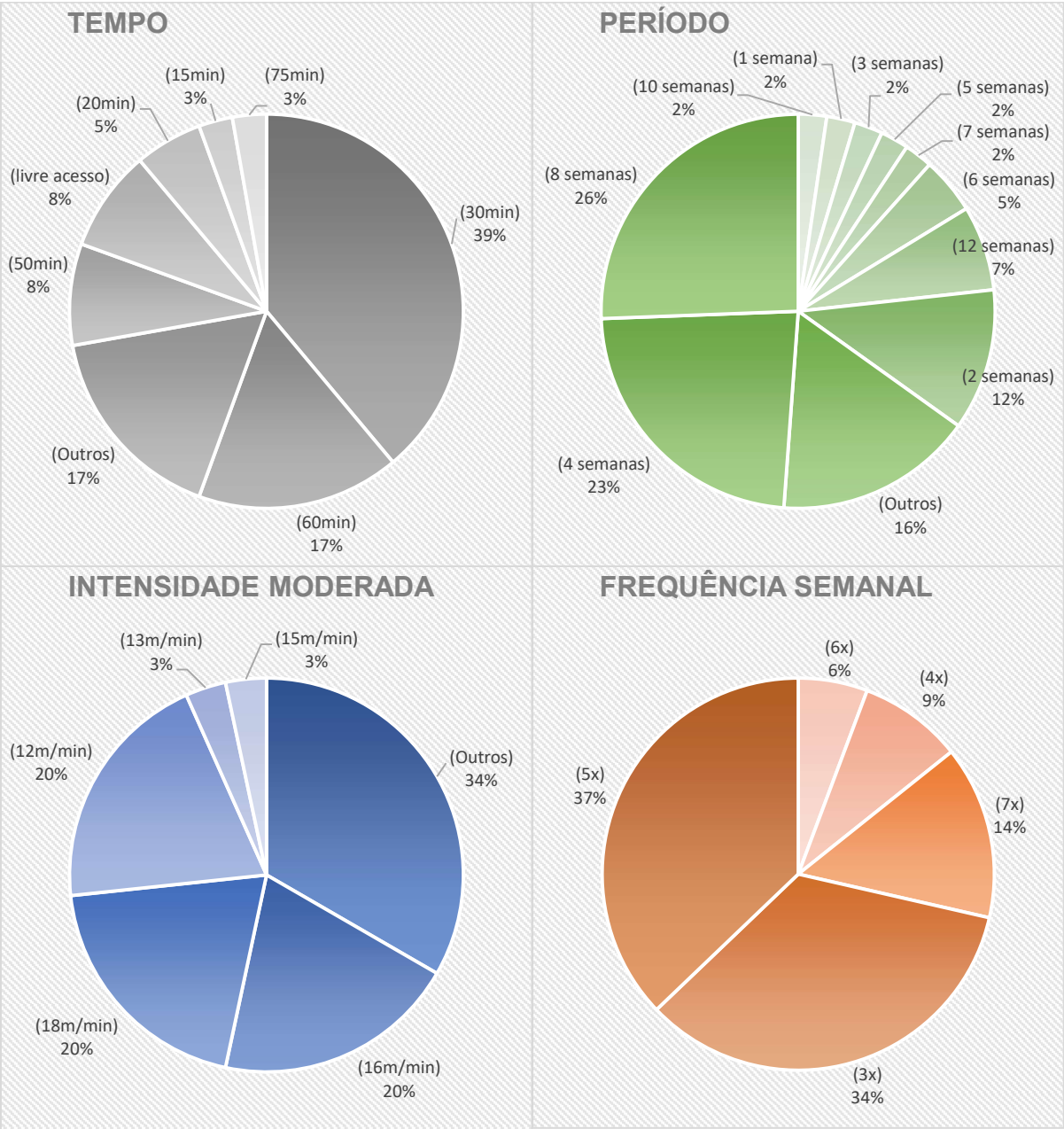
CONTINUA:

(Takada <i>et al.</i>, 2020)	Camundongos knockout	TLCA	1 semana após cirurgia	- Controle 5 - TLCA 5 - TLCA + EF (EF de escalada)	Gaiolas com torre de escalada	Livre acesso	7x	4, 6 e 8 semanas	Sem análise da frequência do EF
(Fang <i>et al.</i>, 2021)	55 Coelhos (6 meses, ~2kg)	Injeção de papaína	1ª fase: 7 dias após a primeira injeção. 2ª fase: logo após início do experimento (indução em 2 aplicações, dias 1 e 4)	1ª fase 5 - Controle 5 - OA 5 - OA + EF leve (IL) 5 - OA + EF moderado (IM) 5 - OA + EF vigoroso (IV) 2ª fase - Controle - OA - OA + Glucosamina - OA + EF-IM - OA + Glucosamina + EF-IM (EF em esteira)	IL: 0,5km/h IM: 1,5km/h IV: 2,0km/h	IL: 20min IM: 20min IV: 20min	IL: 3x IM: 5x IV: 6x	5 semanas (1 semana de adaptação do EF foi realizada antes da papaína)	Sem análise da frequência do EF

(Tian <i>et al.</i> , 2021)	126 Ratos Sprague- Dawley machos (4 semanas, ~220g)	MIA	7, 14, 21 e 28 dias após a injeção de MIA	1ª fase	1ª e 2ª fase:	1ª e 2ª fase:	1ª e 2ª	1ª e 2ª fase:	Sem análise da frequência do EF
				4 - 0h após EF leve	Leve:	60min	fase:	1 única	
				4 - 2h após EF leve	15,2m/min		1 única	sessão	
				4 - 4h após EF leve	Moderado:	4ª fase: n/a	sessão		
				4 - 0h após EF moderado	19,3m/min			4ª fase:	
				4 - 2h após EF moderado	Vigoroso:		4ª fase:	4 semanas	
				4 - 4h após EF moderado	26,8m/min		5x		
				3 - 0h após EF vigoroso					
				3 - 2h após EF vigoroso	4ª fase:				
				3 - 4h após EF vigoroso	Leve:				
				3 - Controle	12m/min				
					Moderado:				
				2ª fase	18m/min				
				4 - EF moderado 1 semana	Vigoroso:				
				4 - EF moderado 2 semanas	26m/min				
				4 - EF moderado 3 semanas					
				4 - EF moderado 4 semanas					
				4 - OA 1 semana					
				4 - OA 2 semanas					
				4 - OA 3 semanas					
				4 - OA 4 semanas					
				4 - Controle					
				3ª fase					
				6 - Controle					
				6 - OA					
				6 - 15-HETE					
				6 - OA + 15-HETE					
				4ª fase					
				6 - Controle					
				6 - OA					
				6 - OA + EF leve					
				6 - OA + EF moderado					
				6 - OA + EF vigoroso					

Fonte: Própria autoria

APÊNDICE B – Síntese da frequência relativa de características dos protocolos em esteira para tratamento de OA em modelos animais conforme computo de estudos do apêndice A



Fonte: Própria autoria

APÊNDICE C – Tabela com a síntese dos resultados entre os grupos com OA.

ANÁLISES		OA	OA + 3x	OA + 5x
Ganho de peso	Peso em gramas	-	-	↓#**
Marcadores de Atividade Metabólica	CS	-	↑*	↑*
	SDH	-	-	-
	Complexo I	-	↑*	↑***
	Complexo II	-	-	-
Marcadores de Produção de Oxidantes	DCF		↓**	↓****
	Nitrito	↑#	↑#	-
Marcadores de Dano Oxidativo	Carbonil	↑#	↑#	-
	Sulfidril	-	-	-
Marcadores de Atividade Antioxidante	SOD	↓#	↑**	↑**
	GSH	-	-	-
Marcadores de Citocinas Pró-Inflamatórias	TNF- α	↑#	↓**	↓***
	IL1- β	↑#	↓**	↓****
	IL6	↑#	-	-
Marcadores de Citocinas Anti-inflamatórias	IL4	-	-	-
	IL10	↓#	-	↑**
	TGF- β	↓#	↓#	↑*
Marcadores de Expressão Gênica	BMP2	↓#	↑**	↑**
	MMP13	↑#	-	↓*
Análises Histológicas	Score OARSI	↑#	↓*	↓*
	Número de condrócitos	-	-	-
	Espessura de cartilagem	↓#	-	-
	Medida de superfície de contato	-	-	↑**

Fonte: Própria autoria

↑ aumento; ↓ diminuição; #p<0.05 vs. grupo sham; *p<0.05 vs. grupo OA; **p<0.01 vs. grupo OA; ***p<0.001 vs. grupo OA; ****p<0.0001 vs. grupo OA.

ANEXOS

ANEXO A – Aprovação do projeto pelo Comitê de Ética no Uso de Animais – CEUA



Universidade do Extremo Sul Catarinense
Comissão de Ética no Uso de Animais



CERTIFICADO

Certificamos que o projeto abaixo especificado, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovado** pela Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA da Universidade do Extremo Sul Catarinense - UNESC, em reunião de **22/02/2022**.

Título do projeto	Eficácia de diferentes frequências de exercício moderado em esteira no tratamento de um modelo de osteoartrite induzido por MIA em ratos Wistar
Project title	Efficacy of different frequencies of moderate treadmill exercise in the treatment of an MIA-induced osteoarthritis model in Wistar rats.
Número do protocolo Protocol number	83/2021
Pesquisador principal Principal Investigator	Paulo Cesar Lock Silveira
Pesquisadores Researchers	Mateus Cardoso Colares, Leandro Almeida da Silva, Marcelo Emilio Beirão, Rubya Pereira Zacaron, Laura de Roch Casagrande, Igor Ramos Lima.

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	14/03/2022 a 13/03/2023
Espécie/linhagem/raça	Rato heterogênico / Wistar
Idade/Peso	60 dias / 200-300g 6
Número de animais	Masculino = 60
Procedência	Biotério UNESC

The Ethics Committee on Animal Use on Research, sanctioned by the resolution number 03/2017/Câmara Propex, in accordance with federal law number 11.794/08, has analyzed the Project that was Approved in its ethical and methodological aspects. Any alteration of the original version of this project must be previously submitted to the Committee for further analyzes. May you have further questions, please contact us by e-mail ceua@unesc.net.

Criciúma-SC, 22 de fevereiro de 2022.

Josiane Budni
Josiane Budni

Coordenadora da CEUA