

### IMUNODULAÇÃO EM MODELO EXPERIMENTAL DE ARTRITE REUMATÓIDE SUBMETIDO AO TRATAMENTO DE COMPLEXO DE PALÁDIO E NATAÇÃO

Maysa Cristina Prado de Souza<sup>1</sup>  
Jeferson Roberto Fagliari Lourenço<sup>2</sup>  
Renata Dellalibera-Joviliano<sup>3</sup>

#### RESUMO

A artrite reumatoide (AR) é uma patologia autoimune que gera inflamação nas articulações comprometendo tecidos ósseos e cartilagem. Complexos metálicos, incluindo o paládio, vêm sendo utilizados na medicina como alternativa para tratamento de diversas patologias. Avaliar atividade do paládio e resposta do sistema imune nos modelos experimentais. Foram analisadas e quantificadas citocinas do sistema imune quanto à ação do complexo metálico paládio associado à natação em modelos experimentais artríticos durante 30 dias após a indução da AR. 56 ratos machos da linhagem Wistar, divididos em 14 grupos: i. *artríticos*, que receberam a indução da AR pelo antígeno *Mycobacterium sp* junto ao CFA; e ii. *controle*, submetidos ou não à natação três vezes por semana durante 30 minutos. Observa-se que os grupos artríticos tratados com o paládio (G1 e G4) tiveram um aumento dos níveis da citocina anti-inflamatória TGF- $\beta$ . G1 obteve uma redução da citocina pró-inflamatória IL-4 em comparação ao seu grupo controle (G7) devido à natação. As outras citocinas (TNF- $\alpha$  e IL1- $\beta$ ), nos grupos G1 e G4, quando comparadas aos grupos artríticos não tratados com o paládio (G2, G3, G5 e G6), não reduziram seus níveis abaixo de seus grupos controle (G7 e G10); porém, tiveram boa reação quanto à redução da TNF- $\alpha$  e IL1- $\beta$  quando comparados os grupos artríticos e controle, ambos não tratados com paládio. Portanto, o complexo de paládio, associado à prática da natação, é uma proposta de intervenção terapêutica para a reabilitação de modelos experimentais de artrite reumatoide.

**Palavras-chave:** Artrite Reumatóide. Paládio. Natação. Experimental.

1-Universidade Federal de São Carlos, Brasil.  
2-Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto, Brasil.  
3-Universidade de Ribeirão Preto, Brasil.

#### ABSTRACT

Immunodulation in experimental model of rheumatoid arthritis submitted to the treatment of palladium complex and swimming

Rheumatoid arthritis (RA) is an autoimmune disorder that leads to joint inflammation affecting bone and cartilage tissues. Metal complexes, including the palladium, have been used in medicine as an alternative for treatment of various diseases. Assess activity of palladium and immune response in experimental models. Cytokines from the immunological system were analyzed and quantified regarding the action of the metal complex palladium associated with swimming practice in arthritic experimental models after 30 days from the induction of RA. 56 male Wistar rats were divided into 14 groups: i. arthritic, that received the RA induction by antigen *Mycobacterium sp* together with the CFA; and ii. control, submitted or not to swimming three times a week in 30-minute sessions. It is observed that the arthritic groups treated with palladium (G1 and G4) had increased levels of anti-inflammatory cytokine TGF- $\beta$ . G1 obtained a reduction of pro-inflammatory cytokine IL-4 compared to their control group (G7) due to swimming. Other cytokines (TNF- $\alpha$  and IL1- $\beta$ ), on groups G1 and G4, when compared to the arthritic groups not treated with palladium (G2, G3, G5 and G6), didn't have their levels reduced below their control groups (G7 and G10); however, they responded well to the reduction of TNF- $\alpha$  and IL-1- $\beta$  comparing arthritic and control groups both not treated with palladium. Therefore, the palladium complex, associated with swimming practice, is a proposition for therapeutic intervention for the rehabilitation of rheumatoid arthritis experimental models.

**Key words:** Rheumatoid Arthritis. Palladium. Swimming. Experimental.

**INTRODUÇÃO**

A artrite reumatoide (AR) é caracterizada por ser uma doença autoimune, (Louzada-Junior e colaboradores, 2007). Com etiologia idiopática, tem sido associada a infecções, sejam elas virais (*Epstein barr*) ou bacterianas (*Staphylococcus sp*), fatores hormonais e até mesmo pelo estilo de vida do indivíduo (Ambrose e colaboradores, 2007).

Pode ser de origem hereditária, acometendo parentes de primeiro grau e também gêmeos monozigóticos (Rubin e colaboradores, 2002).

Acomete, em simetria, articulações da periferia do corpo e, em estado avançado, articulações mais mediais e centrais, da mesma forma tecidos moles, músculos, tendões, ligamentos e até mesmo vasos sanguíneos circunvizinhos. As estruturas acometidas tornam-se avermelhadas e edemaciadas, podendo conter nódulos reumatóides e ocorrência de temperatura elevada das articulações ao toque.

O quadro algico, principalmente pela manhã, é comumente encontrado nesses pacientes, que podem também apresentar deformidades articulares e até mesmo contraturas. A AR, quando agravada, pode gerar atrito pericárdico, com dor à inspiração e dispneia. Outros sintomas, incluindo mal-estar, perda de peso e febre baixa podem ser encontrados (Ambrose e colaboradores, 2007).

É uma patologia complexa por gerar uma deficiência no indivíduo, que é causada por danos estruturais e inflamação articular podendo gerar também deficiência socioeconômica comprometendo a atividade e produtividade no trabalho do indivíduo (Corbacho, Daputo, 2010).

A AR é predominante no sexo feminino (3:1). Acomete de 0,5 a 1% da população adulta. Em indivíduos com faixa etária de 55 a 75 anos, acomete 4,5% da população (Chiarello e colaboradores, 2005).

Pode ocorrer em qualquer idade, predominando entre os 35 e 50 anos (Ambrose e colaboradores, 2007).

Em mulheres, ocorre antes mesmo da menopausa. Caso não ocorra antes da menopausa, a incidência para homens e mulheres aumenta uniformemente de acordo com a idade (Rubin e colaboradores, 2002).

Para o desenvolvimento de AR em modelos experimentais é necessário o uso de Adjuvantes contendo substâncias que ativem o sistema imune: compostos que podem ser associados a antígenos para modificar ou aumentar a reação destes no organismo humano. Assim, a resposta imunológica das células é mais estimulada do que se houvesse somente a atuação de algum determinado antígeno (Nunes e colaboradores, 2009).

Os adjuvantes, em geral, aumentam o recrutamento de anticorpos para o local da indução, melhorando o contato antígeno com as células do sistema imunológico e induzindo a inflamação local. Além do mais, podem aumentar a duração e velocidade da resposta imunológica no sistema (Resende e colaboradores, 2004).

Dentre os diferentes tipos de adjuvantes, o Adjuvante Completo de *Freund* (CFA), é um adjuvante do tipo imunoestimulador (Mota, Lima, Melo, 2006), constituído por 85% de óleo mineral, 15% de emulsificante com 500 µg de uma micobactéria (*Mycobacterium sp*), sendo esta inativada por mililitro de emulsão (Nunes e colaboradores, 2009).

O CFA é um dos adjuvantes mais potentes e utilizados em laboratórios para experimentos com modelos experimentais, pois estes mostraram uma resposta imunológica aceitável nos animais, diferente da utilização do CFA em humanos, que mostrou-se inaceitável (Mota, Lima, Melo, 2006).

O tratamento intervencionista de patologias que acometem tecidos articulares dá-se de diversas maneiras, incluindo a farmacológica e a atividade física. Dados na literatura descrevem que a natação como atividade física para modelos experimentais é bastante empregada.

Zanbom e colaboradores (2009) utilizaram a natação como atividade física para treinar ratos obesos, assim como Medeiros e colaboradores (2000) a utilizaram para reabilitação cardiovascular em ratos normotensos e Volpato e colaboradores (2006) empregaram a natação como forma de exercício físico em ratas diabéticas prenhes.

A natação é um modelo de atividade física bastante encontrado em diferentes tipos de treinamentos com modelos experimentais, pois é um meio fácil de treinamento que não necessita de altos custo com equipamentos. A

realização do exercício físico no meio aquático é empregada como modalidade de tratamento de afecções que acometem o aparelho musculoesquelético há muitos séculos (Coromano, 2003).

Os benefícios gerados pela imersão ocorrem por meio das alterações fisiológicas ocasionadas pela água, sendo as principais, fluutuabilidade, hidrodinâmica que é composta pelo arrasto e a viscosidade, pressão hidrostática, aumento da temperatura e a gravidade específica (Duarte, 2004).

Assim como a atividade física, o tratamento farmacológico, como o uso de complexos metálicos, vem sendo utilizado para o tratamento de diversas patologias, como o paládio (II). O complexo de ouro, para o tratamento de processos inflamatórios, complexos de prata para o tratamento de infecções por agentes bacterianos e complexos de platina para o tratamento do câncer (Bakhtiar, Ochiai, 1999).

O paládio (II) apresenta-se como um potente ativador de macrófagos, células essas responsáveis por participar de uma resposta imunológica e também capazes de secretar diferentes produtos biologicamente ativos, incluindo citocinas, que atuam no contexto da resposta imunológica e inflamatória, mostrando-se um potente agente antitumoral e/ou anti-inflamatório. Desta maneira, o composto metálico se mostra um eficaz agente de tratamento de AR.

O conhecimento e a compreensão desses mecanismos de ação farmacológica são de importante valor para a realização de novas pesquisas de tratamento, sendo menos tóxicas ao organismo, apresentando-se, assim, como uma escolha promissora e uma segura forma de tratamento.

O objetivo deste estudo foi a avaliação da atividade de um composto metálico, à base de paládio (II), em modelos experimentais de ratos Wistar, submetidos à indução da artrite reumatoide e natação.

Analisar resposta imune, com parâmetros quantitativos das citocinas anti-inflamatória TGF- $\beta$  e pró-inflamatórias TNF- $\alpha$ , IL1- $\beta$  e IL-4.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados nas dependências do biotério, laboratório de microbiologia e imunologia e sala de

procedimentos das instituições vinculadas pelos pesquisadores e em parceria com FMRP-USP.

Foram utilizados, para o desenvolvimento do estudo, 56 ratos da linhagem Wistar, com peso médio de 230 gramas, mantidos em gaiolas, com água e ração disponível *ad libitum*, divididos em 14 grupos, com quatro animais por gaiola.

A indução da artrite foi aplicada com injeção intra-articular no joelho direito do animal, solução de 0,5 ml com volume de 50 $\mu$ L de albumina bovina metilada (Met-BSA, 40 mg/mL) diluída em 1mL de glicose 5% emulsificada com 1mL de CFA/adjuvante completo de Freund (Mycobacterium sp).

O metal utilizado neste estudo é o paládio (II), que apresenta forma molecular [Pd(sac) 2], e foi fornecido pelo Prof Dr. Pedro Paulo Corbi (UNICAMP), pesquisador participante deste estudo.

O critério para a avaliação da eficácia da indução da AR nos grupos selecionados foi verificar os sinais de inflamação (dor, edema e rubor) nas primeiras 72h. Foram constatados, nas primeiras 24h, a presença de edema, rubor e sinais de dor ao toque no joelho do animal, demonstrando assim, o sucesso da indução da AR.

O tratamento com complexo de paládio 0,5ml foi realizado uma vez por semana. A natação foi realizada nos grupos selecionados no protocolo. Foram realizadas três vezes por semana, sendo a primeira semana uma fase de adaptação com o tempo de natação de quinze minutos; segunda semana vinte minutos; e, da terceira semana até o momento do sacrifício, trinta minutos. Após a natação, os animais eram secos com toalhas e secador elétrico.

Ao atingir 30 dias para a coleta de sangue, os animais eram pesados para que pudesse ser quantificada a dose de anestésico e analgésico para aplicação e, então, realizada a punção cardíaca para a retirada do sangue. Respeitando a ética na pesquisa animal, foram utilizados 0,5ml de anestésico e 0,5ml de analgésico, para cada 100 gramas do peso do animal, para sedá-lo e realizar a punção cardíaca.

Foi feita a punção cardíaca e retirado em média 5ml de sangue do animal, colocado em tubos de ensaio com anticoagulantes, e centrifugado. O plasma foi separado e congelado para análise. O sacrifício foi

realizado colocando os animais sedados em uma câmara de gás carbônico. Após o sacrifício, eram armazenados em freezers e, depois, retirados para incineração.

O Quadro 1 caracteriza a divisão dos grupos para realização do protocolo experimental.

**Quadro 1 - Caracterização dos grupos (G) incluídos no estudo.**

| Grupos | Descrição dos protocolos                                   |
|--------|--|
| G1     | Artríticos submetidos à natação e tratamento com paládio   |
| G2     | Artríticos submetidos à natação e tratamento com CFA       |
| G3     | Artríticos submetidos à natação e tratamento com salina    |
| G4     | Artríticos não submetidos à natação e tratados com paládio |
| G5     | Artríticos não submetidos à natação e tratados com CFA     |
| G6     | Artríticos não submetidos à natação e tratados com salina  |
| G7     | Controle submetidos à natação e tratamento com paládio     |
| G8     | Controle submetidos à natação e tratamento com CFA         |
| G9     | Controle submetidos à natação e tratamento com salina      |
| G10    | Controle não submetidos à natação e tratados com paládio   |
| G11    | Controle não submetidos à natação e tratados com CFA       |
| G12    | Controle não submetidos à natação e tratados com salina    |
| G13    | Artríticos submetidos à natação, sem tratamento            |
| G14    | Controle submetidos à natação, sem tratamento              |

### Coleta de dados

A concentração das citocinas TGB- $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL1- $\beta$  e IL-4 no plasma dos animais foi determinada pelo método ELISA. Basicamente, as placas de microtitulação foram revestidas com 100 $\mu$ g/ml de um anticorpo específico para citocinas e revestidas e incubadas durante a noite a 4°C.

As placas foram lavadas com tampão apropriado e incubadas a 37°C por 120 minutos. As curvas padrão foram realizadas utilizando citocinas humanas recombinantes e, novamente, as placas foram lavadas minuciosamente conforme as padronizações realizadas por Dellalibera-Joviliano e colaboradores, (2003) as citocinas foram quantificadas e expressas em  $\mu$ g/mL.

#### Análise estatística

Foi utilizado o teste de Wilcoxon para procedimento não paramétrico, nos postos dos valores obtidos combinando-se duas amostras. Nos experimentos do tipo "artrítico" VS "controle" há interesse em verificar o efeito desse primeiro.

Para o teste de Wilcoxon (W) foi considerado a soma dos postos associados aos valores amostrados do grupo artrítico. A análise estatística foi obtida nos dados na forma de duas amostras, extraídas independentemente de cada população. Adotou-se o nível de significância  $p < 0,05$ .

### RESULTADOS

Para os fins de análise, a coleta de dados dos grupos, previamente divididos entre grupos artríticos e grupos controle, teve uma média de seus resultados laboratoriais expressos em  $\mu$ g/ml, como mostra a tabela 1.

E, como ilustrado na tabela 2, obteve-se os resultados do teste de Wilcoxon, realizado a fim de se comparar as médias obtidas pelos dois grupos, artrítico e controle.

Ao serem comparadas as médias obtidas entre o grupo artrítico e o grupo controle, observa-se que não houve diferenças significativas para as variáveis que determinam os níveis de citocinas anti-inflamatória TGF- $\beta$  e pró inflamatórias TNF- $\alpha$ , IL1- $\beta$  e IL-4, em que o valor da significância foi fixado em  $p < 0,05$ .

O gráfico 1 mostra a relação da citocina anti-inflamatória TGF- $\beta$  e pró inflamatórias TNF- $\alpha$ , IL1- $\beta$  e IL-4 em todos os grupos.

O G1 obteve aumento da citocina anti-inflamatória TGF- $\beta$  se comparado ao grupo controle tratado com paládio e natação (G7). Há discreta diminuição (em G7) nas citocinas TNF- $\alpha$  e IL1- $\beta$  e decréscimo de IL-4 no G1 se comparada ao G7; É observado um discreto aumento da citocina anti-inflamatória TGF- $\beta$  e grande aumento nos níveis das citocinas pró-

inflamatórias TNF- $\alpha$ , IL1- $\beta$  e IL-4 quando comparados G2 e G8; Comparando G3 e G9, observa-se que TGF- $\beta$  foi reduzida e as citocinas pró-inflamatórias tiveram os seus níveis aumentados; G4 teve aumento da citocina anti-inflamatória TGF- $\beta$  se comparado ao G10, e as citocinas pró-inflamatórias não foram reduzidas em G4 se comparada ao G10; A citocina anti-inflamatória TGF- $\beta$  não aumentou no grupo artrítico G5 se comparada ao G11, e as citocinas TNF- $\alpha$ , IL1- $\beta$  e IL-4

aumentaram no grupo artrítico. Não se obteve mudança nos níveis de citocina TGF- $\beta$  nos grupos G6 e G12.

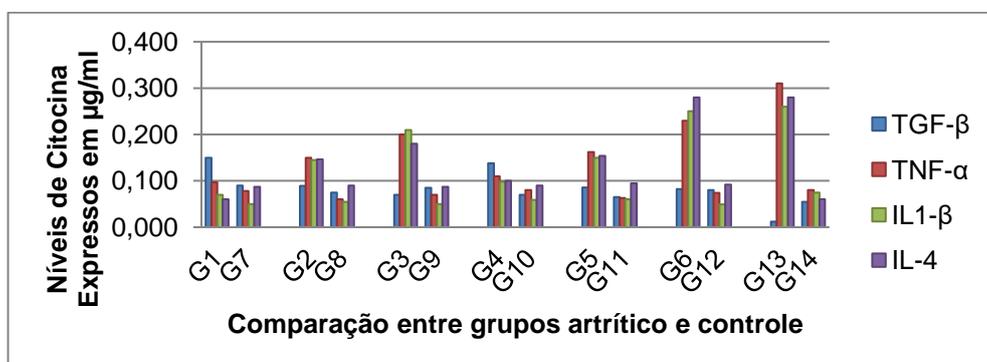
As citocinas pró-inflamatórias, no grupo artrítico G6, aumentaram quando comparadas ao grupo controle G12; citocinas pró-inflamatórias no G13 apresentaram-se elevadas se comparadas ao G14. A citocina anti-inflamatória TGF- $\beta$  apresentou redução em G13.

**Tabela 1** - Média dos níveis das citocinas obtidas por grupo (G) com valores expressos em  $\mu\text{g/mL}$ .

| Grupos | TGF- $\beta$ | TNF- $\alpha$ | IL1- $\beta$ | IL-4  |
|--------|--------------|---------------|--------------|-------|
| G1     | 0,150        | 0,097         | 0,070        | 0,060 |
| G2     | 0,089        | 0,150         | 0,145        | 0,146 |
| G3     | 0,070        | 0,200         | 0,210        | 0,180 |
| G4     | 0,138        | 0,110         | 0,098        | 0,100 |
| G5     | 0,086        | 0,162         | 0,150        | 0,154 |
| G6     | 0,082        | 0,230         | 0,250        | 0,280 |
| G7     | 0,090        | 0,078         | 0,050        | 0,087 |
| G8     | 0,075        | 0,060         | 0,055        | 0,090 |
| G9     | 0,085        | 0,070         | 0,050        | 0,087 |
| G10    | 0,070        | 0,080         | 0,059        | 0,090 |
| G11    | 0,065        | 0,063         | 0,060        | 0,095 |
| G12    | 0,080        | 0,074         | 0,049        | 0,092 |
| G13    | 0,0120       | 0,310         | 0,260        | 0,280 |
| G14    | 0,055        | 0,080         | 0,075        | 0,060 |

**Tabela 2** - Níveis de significância obtidos no teste Wilcoxon na comparação das médias das citocinas entre os grupos artrítico e controle.

| Grupos    | p valor |
|-----------|---------|
| G1 e G7   | 0,2181  |
| G2 e G8   | 0,4783  |
| G3 e G9   | 0,4438  |
| G4 e G10  | 0,4895  |
| G5 e G11  | 0,4783  |
| G6 e G12  | 0,4783  |
| G13 e G14 | 0,3759  |



**Gráfico 1** - Determinação dos níveis de citocinas anti-inflamatórias e pró-inflamatórias, expressas em  $\mu\text{g/ml}$ , nos grupos artríticos comparados aos grupos controles.

### DISCUSSÃO

Com a evolução da medicina, complexos metálicos estão sendo amplamente utilizados no tratamento e no diagnóstico de vários tipos de doenças.

Dentre esses complexos metálicos está o paládio (II). As variedades de compostos inorgânicos abrangem, como por exemplo, o tratamento de patologias como a AR.

A atividade física também é de grande eficácia na diminuição da sintomatologia da artrite, bem como prevenção do agravamento da doença. A união do tratamento farmacológico com atividade física (natação) pode ser uma proposta de tratamento para a artrite reumatoide.

Diferentes tipos de metais vêm sendo testados em diversas patologias. O complexo paládio, dentro dos estudos realizados com outros tipos de metais, demonstrou-se com melhor atividade antifúngica do que seus outros ligados.

Complexos de paládio e platina testados com metronidazol, que é uma droga altamente eficaz contra a distúrbios agudos causada pela *Entamoeba histolytic*, mostraram-se mais ativos do que este fármaco livre contra a mesma doença (Garoufs, Hadjidakou, Hadjiyiads, 2009).

Assim, o paládio reage diretamente com o sistema imunológico e fisiológico, modulando respostas do organismo perante antígenos e patologias instaladas agindo nas citocinas, como é o foco do estudo.

A citocina TGF- $\beta$  é inibidora da ativação e proliferação de linfócitos e leucócitos, ou seja, é uma citocina que reduz a resposta inflamatória. Esta citocina inibe a produção efetora das células T e macrófagos, contrapondo os efeitos de citocinas pró-inflamatórias, inibindo respostas imunes e inflamatórias (Abbas, Litchman, Pillai, 2015).

Podemos observar que o grupo artrítico tratado com paládio e natação (G1) obteve aumento da citocina anti-inflamatória TGF- $\beta$  se comparado ao grupo não artrítico tratado com paládio e natação (G7).

A citocina TGF- $\beta$  é uma citocina anti-inflamatória, responsável por impedir que a inflamação ocorra. Podemos perceber o aumento desta citocina, determinando que a natação, associada ao tratamento com paládio, é um fator importante para aumentar a

TGF- $\beta$  e impedir que um dos principais sintomas da AR, a inflamação, ocorra.

As citocinas pró-inflamatórias têm por função promover a inflamação. Ainda comparando G1 e G7, observa-se que em TNF- $\alpha$  e IL1- $\beta$  há discreta diferença, porém, se comparado aos grupos restantes, subentende-se que a inflamação estará diminuída em modelos experimentais de artrite tratados com o paládio e natação mesmo que não haja nível de significância entre estes grupos ( $p = 0,2181$ ).

A citocina IL-4 no G1 teve um decréscimo se comparada ao G7, mostrando também que a natação, agregada ao tratamento com paládio, pode reduzir os níveis de citocinas pró-inflamatórias, diminuindo os sintomas de inflamação em ratos com a AR, pois a realização desta atividade física no meio aquático gera no sistema musculoesquelético alterações fisiológicas que podem levar a diminuição das forças compressivas articulares geradas pelo empuxo, remoção de catabólitos, melhora da nutrição tecidual, relaxamento muscular, aumento no reparo tecidual, diminuição e absorção de edema pelo efeito da pressão hidrostática e a redução da sensação dolorosa ao bombardear o sistema sensorial com impulsos térmicos, diminuindo os impulsos nociceptivos que percorrem as mesmas vias (Houglum, 2015).

Abbas, Litchman e Pillai (2015) relatam que numerosas citocinas têm sido encontradas presentes no líquido sinovial das articulações. A citocina pró-inflamatória TNF- $\alpha$ , especialmente, é produtora de enzimas proteolíticas, por exemplo, a colagenase, que medeiam a destruição de tecidos das articulações, como ligamentos, tendões e a cartilagem.

A comparação dos grupos G2 e G8 demonstra que o CFA não tem ação isolada modeladora do sistema imune para diminuir a ação inflamatória sem o paládio.

Portanto, o CFA, ainda que associado à natação, não pode ser considerado uma proposta de reabilitação para modelos experimentais artríticos.

A citocina pró-inflamatória IL-4 é a principal citocina para estímulo e produção de anticorpos e ativação de macrófagos, responsáveis por fagocitar antígenos. Esta citocina estimula a troca de classe da célula B para o isótopo IgE, que é um mediador

importante na hipersensibilidade imediata (Abbas, Litchman, Pillai, 2015).

Os níveis de citocina analisados do grupo artrítico tratado com solução salina e natação (G3) e seu grupo controle tratado com solução salina e natação (G9) demonstram que o tratamento placebo com a solução salina não foi eficaz nos ratos artríticos, pois os níveis de citocinas nestes grupos, ainda que com a natação, não tiveram melhora do quadro inflamatório dos modelos experimentais.

Com o uso do complexo paládio no protocolo de tratamento de 30 dias em ratos artríticos, associado à prática de natação dos modelos experimentais, houve a diminuição desta citocina, como mostrado no gráfico 1.

Neste caso, os macrófagos e anticorpos que seriam recrutados para o local da articulação acometida, aumentando ainda mais a inflamação, foram modulados pela ação do paládio, associado com a natação, reduzindo o nível desta citocina e, conseqüentemente, diminuindo o processo inflamatório.

Saijo e colaboradores, (2002) afirma que a citocina IL1- $\beta$  ativa a célula T e, no estudo com camundongos transgênicos, é de grande importância que ocorra esta ativação para que se desenvolva a autoimunidade e artrite nestes camundongos.

É observado no G4 um aumento da citocina anti-inflamatória TGF- $\beta$  em comparação ao seu grupo controle (G10). Isto demonstra que o tratamento com o paládio foi eficaz para aumentar o nível desta citocina no grupo artrítico, que tem por função impedir a cascata da inflamação.

Em contrapartida, não foi eficaz em reduzir os níveis de nenhuma citocina pró-inflamatória nos animais artríticos se comparados aos animais saudáveis, demonstrando que o paládio utilizado sem a natação não possui o mesmo efeito imunológico no processo inflamatório do que quando associado à natação.

Os níveis de citocinas no grupo artrítico tratado com CFA e não submetidos à natação (G5) e seu grupo controle tratado com CFA e não submetido à natação (G11) demonstram que a citocina anti-inflamatória TGF- $\beta$  não teve um aumento considerável, indicando que o CFA sem natação não é uma proposta eficaz para inibir a resposta inflamatória em modelos experimentais

artríticos e houve um aumento significativo nas citocinas pró-inflamatórias, indicando também que a cascata inflamatória neste animais ocorreu em grande escala se comparada à do grupo controle, o que indica aumento do processo inflamatório neste grupo de AR.

Comparando os grupos G6 e G12, é possível observar que não se obteve mudança na citocina TGF- $\beta$  e os níveis das citocinas pró-inflamatórias do grupo artrítico estão consideravelmente aumentadas em comparação ao grupo controle. Isso se deve à ineficácia do tratamento placebo realizado com solução salina nos animais artríticos que não gera alterações no sistema imunológico dos animais em experimento.

As citocinas pró-inflamatórias (TNF- $\alpha$ , IL1- $\beta$  e IL-4) no grupo artrítico submetido à natação e sem tratamento (G13), tiveram seus níveis consideravelmente elevados quando comparada ao grupo controle submetido à natação e sem tratamento (G14). Com esta análise, é possível identificar aumento exacerbado do processo inflamatório destes animais artríticos pelas citocinas que auxiliam no processo inflamatório. Já os níveis da citocina TGF- $\beta$  no G13 demonstraram redução, mostrando assim que a resposta anti-inflamatória destes animais, se comparadas às do G14, não obteve resultados consideráveis.

## CONCLUSÃO

Os grupos de modelo experimental artrítico que foram tratados com complexo de paládio e submetidos ao tratamento com natação (G1) sacrificados em 30 dias de tratamento, obtiveram melhor resposta imunológica nos níveis de citocinas anti-inflamatórias e pró-inflamatórias se comparados ao restante dos grupos, mostrando que mesmo com resultado estatístico não significativo, esta conduta pode ser uma proposta eficaz para a reabilitação de modelos experimentais de artrite reumatoide.

## REFERÊNCIAS

- 1-Abbas, A. K.; Lichtman, A. H.; Pillai, S. P. Cellular and Molecular Immunology. Elsevier Science. 8ª edição 2015.
- 2-Ambrose, M.; e colaboradores. Doenças: da sintomatologia ao plano de alta. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. Vol. 1. 2007.

# Revista Brasileira de Prescrição e Fisiologia do Exercício

ISSN 1981-9900 *versão eletrônica*

Periódico do Instituto Brasileiro de Pesquisa e Ensino em Fisiologia do Exercício

[www.ibpex.com.br](http://www.ibpex.com.br) / [www.rbpfex.com.br](http://www.rbpfex.com.br)

3-Bakhtiar, R.; Ochiai, E. Pharmacological applications of inorganic complexes. *General Pharmacology*. Huntington. p.525-540. 1999.

4-Caromano, F.; Ide, M. Movimento na Água. *Fisioterapia Brasil*. Vol. 4. Núm. 2. 2003.

5-Chiarelo, B.; e colaboradores. Fisioterapia reumatológica. Barueri. Manole. 2005.

6-Corbacho, M. I.; Dapuetto, J. J. Avaliação da capacidade funcional e da qualidade de vida em paciente com artrite reumatoide. *Revista Brasileira de Reumatologia*. Vol. 50. Núm.1. p.31-43. 2010.

7-Dellalibera-Joviliano, R.; Reis, M. L.; Cunha, F. Q.; Donadi, E. A. Kinins and cytokines in plasma and cerebrospinalfluid of patients with neuropsychiatric lupus. *The Journal of Rheumatology*. Vol. 30. Núm. 3. 2003.

8-Duarte, M. Princípios físicos da interação entre ser humano e ambiente aquático. São Paulo. 2004.

9-Garoufis, A.; Hadjikakou, S. K.; Hadjiliadis, N. Palladium Coordination Compounds as Anti-Viral, Anti-fungal, Anti-microbial and Anti-tumor Agents. *Coord. Chem. Rev.* Vol. 253. p.138-1397. 2009.

10-Houglum, P. A. Exercícios terapêuticos para lesões musculoesqueléticas 3ª edição. Manole. 2015.

11-Louzada-Junior, P.; Souza, B. D. B.; Toledo, R. A.; Ciconelli, R. M. Análise descritiva das características demográficas e clínicas de pacientes com artrite reumatoide do estado de São Paulo, Brasil. *Revista Brasileira de Reumatologia*. Vol. 47. Núm. 2. p.84-90. 2007.

12-Medeiros, A.; Gianolla, R. M.; Kalil, L. M. P.; Bacurau, R. F. P.; Rosa, L. F. B. C.; Negrão, C. E.; Brum, P. C. Efeito do treinamento físico com natação sobre o sistema cardiovascular de ratos normotensos. *Rev. paul. Educ. Fís.* Vol.14. Núm.1. p.7-15. 2000.

13-Mota, E. F.; Lima, M. G. S.; Melo, D. F. Adjuvantes imunológicos: avanços e

perspectivas. *Ciência Animal*. Vol. 16. Núm. 2. p.79-88. 2006.

14-Nunes, M. V. O.; Câmara, C. P.; Crespo, A. M. C.; Carvalhaes, M.; Oliveira, C. R.; Silveira, L. A. Comparação do perfil de anticorpos antiimunoglobulina G em murinos imunizados com igg humana associada a diferentes adjuvantes. *Revista Eletrônica de Farmácia*. Vol. 6. Núm.1. p.44-50. 2009.

15-Resende, F. C. B.; Passold, J.; Ferreira, S. I. A. C.; Zanetti, C. R.; Lima, H. C. Adjuvantes de vacinas: possibilidades de uso em seres humanos ou animais. *Rev. bras. alerg. Imunopatol.* Vol. 27. Núm. 3. p.116-124. 2004.

16-Rubin, E. *Patologia*. 3ª edição. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan. 2002.

17-Saijo, S.; Asano, M.; Horai, R.; Yamamoto, H.; Iwakura, Y. Supression of autoimmune arthritis in impaired due to low levels of CD40 ligand and OX40 expression on T cells. *Arthritis & Rheumatism*. Vol. 46. p.533-544. 2002.

18-Volpato, G. T.; Damasceno, D. C.; Campos, K. E.; Rocha, R.; Rudge, M. V. C.; Calderon, I. M. P. Avaliação do efeito do exercício físico no metabolismo de ratas diabéticas prenhes. *Rev Bras Med Esporte*. Vol. 12. Núm. 5. p.229-233. 2006.

19-Zambon, L.; Duarte, F. O.; Freitas, L. F.; Scarmagnani, F. R. R.; Dâmaso, A.; Duarte, A. C. G. O; Sene-Fiorese, M. Efeitos de dois tipos de treinamento de natação sobre a adiposidade e o perfil lipídico de ratos obesos exógenos. *Rev. Nutr.* Vol. 22. Núm. 5. p.707-715. 2009.

E-mail dos autores:

[maysa.pr@gmail.com](mailto:maysa.pr@gmail.com)

[jefersonfagliari@gmail.com](mailto:jefersonfagliari@gmail.com)

[redellajov@gmail.com](mailto:redellajov@gmail.com)

Endereço para correspondência:

Renata Dellalibera-Joviliano

Universidade de Ribeirão Preto, Curso de Medicina.

Av. Costábile Romano, 2201, Ribeirânia, SP.

CEP: 14096-000.

Recebido para publicação 03/10/2016

Aceito em 02/02/2017