



**EFEITOS DA ELETROACUPUNTURA, EXERCÍCIO FÍSICO E SUAS ASSOCIAÇÕES SOBRE PARÂMETROS HISTOLÓGICOS E HEMATOLÓGICOS EM MODELO DE MONOARTRITE EM RATOS**

Eduarda da Silva Bicca<sup>1</sup>

Gustavo Martins Andrade<sup>2</sup>

Alessandra Hubner de Souza<sup>3</sup>

**Resumo**

A Osteoartrite (AO), tipo mais comum de artrite, é uma doença progressiva incapacitante iniciada por lesões que ativam reparos inadequados, incluindo vias pró-inflamatórias da imunidade inata. Cerca de 40% dos idosos acima de 70 anos sofrem de AO, com um de principais sintomas a dor intensa. A baixa na qualidade de vida leva os indivíduos com OA a realizarem tratamentos, e em última instância uma substituição da articulação através da prótese. O objetivo do estudo foi analisar os parâmetros histológicos e hematológicos após a aplicação dos protocolos de cinco e dez sessões de exercícios físicos, eletroacupuntura e suas associações em ratos induzidos à monoartrite de tornozelo por Adjuvante Completo de Freund (ACF). Para a análise histológicas, ao final dos tratamentos e após a eutanásia, foi coletado o material da pata traseira do animal, processado em parafina e emblocado. Os parâmetros histológicos avaliados foram a densidade do infiltrado inflamatório e congestão vascular. As análises hematológicas foram realizadas para análise das séries branca e vermelha após 10 sessões de intervenção.

**INTRODUÇÃO**

Osteoartrite (AO) é definida como uma desordem envolvendo articulações caracterizadas por estresse celular e degradação da matriz extracelular iniciada por micro e macro lesões que ativam reparos mal adaptados incluindo vias pró-inflamatórias de imunidade inata. Uma das

---

1 Aluna do Colégio ULBRA São João – Bolsista PIBIC-EM/CNPq – dbicca.bicca@hotmail.com

2 Programa de Pós-Graduação em Genética e Toxicologia Aplicada, ULBRA – Canoas – gugamart@ulbra.edu.br

3 Programa de Pós-Graduação em Genética e Toxicologia Aplicada, ULBRA – Canoas – alessandrahubnersouza@gmail.com

principais características da doença é a dor crônica que pode levar a declínios psíquicos e baixa qualidade de vida.

Os custos financeiros do tratamento e manejo da OA são um grande problema, requerendo a descoberta de novas estratégias terapêuticas e diferentes combinações de tratamentos, incluindo tratamentos complementares e alternativos como exercícios físicos, acupuntura e electroacupuntura, entre outros. Os efeitos terapêuticos da eletroacupuntura (EA) estão bem documentados, como o controle da dor por opioides endógenos e seus  $\mu$  e  $\delta$  receptores e atenuações dos níveis de substância P e citocinas pró-inflamatórias, mas os mecanismos de ação não estão bem elucidados. O exercício físico (EX) tem efeitos positivos no tratamento da OA, pois demonstram formas importantes de modular a dor.

## **METODOLOGIA**

Foram utilizados cinquenta e quatro ratos Wistar machos, pesando entre 250-330 gramas, com 11 semanas, provenientes do biotério central da Universidade Federal de Pelotas. Os animais foram mantidos com alimentação sólida (ração) própria para animais de laboratório e água ad libitum, em ambiente restrito, com temperatura controlada (25°C) e ciclo de 12 horas de claro e escuro. O projeto de pesquisa foi aprovado sob nº 2017/252.

Tabela 1 – Grupos do estudo submetido a análises histológicas e hematológicas

<b>Grupos</b>
1. Grupo Controle (GC), n = 8
2. Grupo Controle/Salina (GS), n = 8
3. Grupo Controle CFA /Eletroacupuntura, (EA), n = 12
4. Grupo Controle CFA/Exercícios Físicos, (EX), n = 13
5. Grupo Controle CFA/Eletroacupuntura + Exercícios Físicos, (EX+EA), n = 13

Ao final dos experimentos e após a realização da eutanásia por isoflurano, no décimo terceiro e vigésimo dias de aplicação dos protocolos, os ratos foram fixados à mesa para as análises histológicas. O material coletado da pata traseira do animal foi fixado em formol a 10% por 3 dias e submetidos à descalcificação em ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) a 40% durante aproximadamente trinta dias. Esse material foi processado em parafina e

emblocado, obtendo-se um bloco para o osso. Posteriormente cada bloco foi cortado no planosagital em Micrótomo (LEICA®, Alemanha). Os 30 primeiros cortes de 6µm foram descartados, e a partir daí cortes de 6µm foram selecionados para a confecção das lâminas (GERWIN et al., 2010, apud VASILCEAC, 2014).

Os parâmetros histopatológicos avaliados foram a densidade do infiltrado inflamatório e congestão vascular através do score 0= ausente, 1= discreto, 2= moderado, 3= abundante (MOTOHIRO et al., 1986; LOSSOS et al., 2000; VIEIRA et al., 2010 e BOETTGER et al., 2008).

Para as análises hematológicas, a coleta foi realizada utilizando o acesso pela veia aorta após a eutanásia dos animais, utilizadas seringas de 3mL e agulhas de 25 x 0,7mm. O sangue foi transferido para tubos de EDTA onde posteriormente foram processados no aparelho de uso veterinário Pooch-100iV Diff para análise das séries branca e vermelha após 10 sessões de intervenção.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Nos resultados histológicos dos grupos Controle e Salina, não foi constatada a presença de infiltrados inflamatórios e/ou congestão vascular, apresentando score 0.

Após dez sessões de intervenções, o grupo EA apresentou score 1 tanto para os infiltrados inflamatórios como para congestão, se mostrando eficaz em sua redução. Gao et al. (2018) sugerem que a EA diminui a dor inflamatória através do modelo de CFA em ratos por inibição da ativação do inflamassoma NLRP3 que favorecem a maturação da IL-1 $\beta$  e IL-8 por clivagem da CASPASE1 através dos receptores CB2 (canabinóides). Já o grupo EX apresentou score 0 para os infiltrados inflamatórios e 1 para a congestão vascular, mostrando-se válido no médio prazo provavelmente por upregulation de proteínas de desacoplamento na mitocôndria e aceleração do transporte de elétrons pelo aumento do fornecimento de ADP (ZSOLT, 2000).. O grupo EX+EA apresentou score 3 tanto para os infiltrados inflamatórios como para congestão, não apresentando benefícios ao reparo cicatricial.

As análises hematológicas das séries branca e vermelha, após 10 sessões de intervenção, estão expressas nas tabelas 2 e 3, respectivamente.

Tabela 2 - Série Branca (10 sessões de intervenções). Valores representados em média e erro padrão.

	<b>Controle</b>	<b>Salina</b>	<b>EA</b>	<b>EX</b>	<b>EX+EA</b>
<b>Leucócitos</b>	7.5±1.3	7.6±0.7	7.5±1.1	7.9±1.6	8.7±0.3
<b>Neutrófilos</b>	9±1.0	11.5±1.5	6±1.0	10±4.0	7.5±2.5
<b>Eosinófilos</b>	0.5±0.5	-	-	0.5±0.5	-
<b>Basófilos</b>	-	-	-	-	-
<b>Monócitos</b>	6±0.0	10±2.0	10.5±1.5	2.5±1.5	8.5±0.5
<b>Linfócitos</b>	84.5±0.5	78.5±0.5	83.5±0.5	87±2.0	82.5±0.5

Na Tabela 2, foi verificada a menor quantidade de leucócitos e neutrófilos no grupo EA. O número de monócitos foi menor para o grupo EX, enquanto que o número de linfócitos foi menor para o grupo EX+EA.

Tabela 3 - Série Vermelha (10 sessões de intervenções). Valores representados em média e erro padrão.

	<b>Controle</b>	<b>Salina</b>	<b>EA</b>	<b>EX</b>	<b>EX+EA</b>
<b>Eritrócitos (mi)</b>	8.9±0.06	8.8±0.06	7.2±1.3	9.5±0.6	9.3±0.3
<b>Hemoglobina (g/dL)</b>	2±0.0	1.9±0.05	1.9±0.0	1.9±0.1	1.9±0.1
<b>Hematócrito (%)</b>	24±0.1	23.8±0.3	22.3±0.1	22.6±1.9	22.5±0.8
<b>VCM (fL)</b>	26.8±0.05	27±0.2	24.5±0.2	23.7±0.3	24.3±0.1
<b>HCM (pg)</b>	22±0.0	22±0.05	2.1±0.0	2.0±0.05	2.0±0.05
<b>CHCM (g/dL)</b>	8.3±0.05	8.2±0.1	8.5±0.05	8.6±0.05	8.4±0.1
<b>PLT (1000)</b>	1403±342.5	1069±92.5	1732±56.5	2055±229	1811±171.5

Na Tabela 3, o maior número de plaquetas foi o do grupo EX e menor para o grupo EA.

## CONCLUSÃO

Diante dos resultados *in vitro*, após 10 sessões, o grupo EX e EA obtiveram os menores achados inflamatórios nos parâmetros histológicos. Já nos parâmetros hematológicos, para a série branca, o mesmo em relação a série vermelha foi visto, com o grupo EA apresentando os menores valores.

Portanto, os grupos EX e EA demonstraram ser um importante regulador do controle inflamatório em modelo de AO em ratos, frente aos demais grupos de intervenção.

## REFERÊNCIAS

GOULD TD, DAO DT, KOVACSIC CE. The Open Field Test. In: Mood and Anxiety Related Phenotypes in Mice. **Neuromethods**, v. 42, p. 1-2, 2009.

PORSOLT, R. D.; BERTIN, A.; JALFRE, M. Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants. **Arch Int Pharmacodyn Ther**, v.229, n.2, p.327-336. 1977.

VASILCEAC, F.A., **Fortalecimento muscular na osteoartrite de joelho de ratos: implicações locais e sistêmicas**. São Carlos, 2014. 99p. Tese (Doutorado em Fisioterapia) – Universidade Federal de São Carlos.