ANDREA BOGOSLAVSKY

**Alterações da cartilagem hialina da cabeça do fêmur de ratos Wistar
corredores, em função do envelhecimento**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Departamento:

Cirurgia

Área de Concentração:

Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres

Orientador:

Prof. Dr. Romeu Rodrigues de Souza

São Paulo

2006

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

BIBLIOTECA VIRGINIE BUFF D'ÁPICE
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
E ZOOTECNIA DA USP
1/12/06

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virgínie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T.1809
FMVZ

Bogoslavsky, Andréa

Alterações da cartilagem hialina da cabeça do fêmur de ratos Wistar
corredores, em função do envelhecimento / Andréa Bogoslavsky. – São
Paulo: A. Bogoslavsky, 2006.
96 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de
Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Cirurgia, 2006.

Programa de Pós-graduação: Anatomia dos Animais Domésticos e
Silvestres.

Área de concentração: Anatomia dos Animais Domésticos e
Silvestres.

Orientador: Prof. Dr. Romeu Rodrigues de Souza.

1. Atividade física. 2. Envelhecimento. 3. Cartilagem articular.
4. Cabeça femural. I. Título.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Comissão de Bioética

PARECER

Interessado: Andréa Bogoslavsky

Assunto: Protocolo de experimentação adotado em experimento animal.

A Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, após analisar o projeto protocolado sob o número 934/2006, intitulado: "Alterações da cartilagem hialina da cabeça do fêmur de ratos Wistar corredores em função do envelhecimento", no qual foram utilizados 24 (vinte e quatro) ratos, sob responsabilidade do Prof. Dr. Romeu Rodrigues de Souza, constatou que o mesmo foi realizado de acordo com os princípios de bioética, adotados por esta Comissão.

São Paulo, 23 de novembro de 2006

Prof. Dr. José Luis Bernardino Merusse
Presidente da Comissão de Bioética
FMVZ/USP

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: Bogoslavsky, Andréa

Título: Alterações da cartilagem hialina da cabeça do fêmur de ratos Wistar
corredores, em função do envelhecimento

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Anatomia dos Animais
Domésticos e Silvestres da Faculdade de
Medicina Veterinária e Zootecnia da
Universidade de São Paulo para obtenção do
título de Mestre em Ciências

Data: _____ / _____ / _____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____	Instituição: _____
Assinatura: _____	Julgamento: _____

Prof. Dr. _____	Instituição: _____
Assinatura: _____	Julgamento: _____

Prof. Dr. _____	Instituição: _____
Assinatura: _____	Julgamento: _____

*“Para ver o mundo em um grão de areia e
o firmamento em uma flor silvestre,
Mantenha o infinito na palma de sua mão,
e a eternidade em uma hora”*

(William Blake - 1757/1827)

"Tudo que hoje preciso saber, sobre como viver, o que fazer e como ser, eu aprendi no Jardim da Infância.

A sabedoria não se encontrava no topo de um curso de pós-graduação, mas no montinho de areia da escola de todo dia.

Estas são as coisa que aprendi lá:

Compartilhe tudo;

Jogue dentro das regras;

Não bata nos outros;

Coloque as coisas de volta onde pegou;

Arrume sua bagunça; Não pegue as coisas dos outros;

Peça desculpas quando machucar alguém;

Respeite o outro;

Biscoitos quentinhos e leite frio fazem bem pra você;

Leve uma vida equilibrada: aprenda um pouco, pense um pouco,

desenhe,cante,dance,brinque e trabalhe um pouco todos os dias;

Tire uma soneca à tarde. Quando sair,cuidado com os carros,dê a mão e fique junto;

Repare nas maravilhas da vida;

O peixinho, o hamster, os camundongos brancos e até mesmo a sementinha no copinho plástico, todos morrem;

Nós também!!!

Pegue qualquer um desses itens, coloque-o em termos mais adultos e sofisticados e aplique-os à sua vida familiar, ao seu trabalho, ao seu governo ou ao seu mundo e verá como ele é verdadeiro, claro e firme.

Pense como o mundo seria melhor se todos nós, no mundo todo, tivéssemos biscoitos com leite todos os dias e, por volta das três, pudéssemos nos deitar, com um cobertorzinho para uma soneca.

Ou se todos os governantes tivessem com regra básica, devolver todas as coisas ao lugar em que elas se encontravam e arrumassem a bagunça ao sair.

E é sempre verdade, não importando a idade: ao sair para o mundo, é sempre melhor dar as mãos e ficar junto"!

(Adaptação: Robert Fulghum)

*“Nos erros, tens para nós os ombros,
sempre confortáveis,
e outras poucas palavras
para o reconforto; nos acertos,
o riso indisfarçável
do orgulho que engrandece,
da humildade quase beatificante.”*

(Luiz de Aquino)

Dedico este trabalho a minha mãe, **Rachel Simhon Bogoslavsky** e ao meu pai, **Jorge Ignácio Bogoslavsky**.

Obrigado pela compreensão nos momentos de angústia, de euforia e felicidade. Obrigado pelos ensinamentos.

Nada do que foi realizado até agora poderia ser sem vocês ao meu lado. Devo tudo isso ao amor, respeito e confiança que vocês dedicaram a mim em toda esta jornada.

Amo vocês da mesma maneira que vocês a mim: **INCONDICIONALMENTE!**

“Aqui estamos nós dizendo adeus novamente; nós ainda dormimos de baixo do mesmo céu; você é tudo que eu sabia que se tornaria. Irmã eu te vejo, dançando nas fases da memória, Irmã eu sinto sua falta. Abraçadas, você e eu, nossas almas falam através da milhas; entrelaçadas, você e eu, nosso sangue flui pelo mesmo interior; metade de mim respira em você; pensamentos de amor continuam verdadeiros. Eu te vejo, eu te sinto; quando fecho meus olhos; eu vejo você andando por lá...Eu vejo você dançando na minha memória.”

(Adaptado de Nixos – Sister)

Dedico a minha irmã **Fabiana Bogoslavsky**, mesmo longe, sempre tão perto.

AGRADECIMENTOS

À **Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo**, por proporcionar a oportunidade de cursar um curso de pós-graduação.

À **Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP**, processo nº.05/51086-6, pelo apoio financeiro concedido para a realização desta pesquisa.

Ao meu orientador **Prof. Dr. Romeu Rodrigues** de Souza, por mais esta conquista. Meu “pai-orientador”, obrigada por tudo!

Ao **Prof. Dr. Antonio Augusto Coppi Maciel Ribeiro**, pela paciência e confiança despendida a mim. Obrigada por me “adotar” também!

À **Prof. Dra. Maria Angélica Miglino**, pela amizade, ensinamentos e apoio para trilhar este difícil caminho da pós-graduação.

Aos **Profs. José Roberto Kfoury e Tatiana Carlesso dos Santos**, pela amizade, paciência e ensinamentos. Muito obrigada!

Aos **Profs. Pedro Primo Bombonato, Francisco Javier H. Blasquez, Carlos Eduardo Ambrósio e Paula Papa**, pelos ensinamentos.

Aos técnicos **Edinaldo Ribas Farias (“Índio”), Diogo Palermo e Ronaldo Agostinho da Silva**, por serem mais do que técnicos e amigos, serem pessoas maravilhosas!

Aos funcionários do Departamento de Anatomia da FMVZ-USP **Jaqueline Martins de Santana, Maicon Barbosa da Silva e Kauê Procopio**, pela ajuda durante o curso de pós-graduação.

Às funcionárias da comissão de pós-graduação da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de São Paulo **Claudia Lima, Dayse Maria Alves Flexa e Joana Ferreira Dias de Vasconcelos**, pela colaboração desde o início de meu processo até a defesa da dissertação.

Aos **funcionários da biblioteca** da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de São Paulo, pelos serviços do COMUT e pela correção desta dissertação.

A **Leandro Spett** pela confecção das ilustrações desta dissertação.

À minha melhor “aquisição de mestrado”, minha irmãzinha postiça, **Gabriela Correia de Almeida e Silva**. Sei que você levou esta por minha culpa, mas se eu não estivesse lá, ainda assim você seria “a conturbada”! Nunca se esqueça que o melhor de todos os desenhos, seriados, e filmes são as DUPLAS. A final, o que seria de Damião sem Cosme? De Pink sem Cérebro? Ou de Batman sem Robin? Te adoro! Obrigado!

Aos meus grandes amigos **Silvio Pires Gomes** e **Fernando Ladd Lobo**, pelo apoio e incentivo dentro do laboratório LSSCA. Obrigado pelos ensinamentos e risadas! Obrigado por fazer parte desta conquista! Adoro vocês!

Aos meus colegas do laboratório LSSCA, **Silvio Pires Gomes, Fernando Ladd Lobo, Tais Sasahara, Regina Bolina, Lynda Tamayo, Luciana Abraão, Aliny Ladd, Valquiria Mariott, Felipe Oliveira, Renato Cavalcanti, Kauê Toscano, Bruno Mesquita** e **Samanta Melo** pela amizade. Obrigado!

Aos minhas amigas **Marcela Kauffman, Débora Hochberg, Andrea Terni, Ilana Setton** pelo apoio e amizade. Obrigado!

A todos meus **amigos** que estiveram ao meu lado durante este processo. Obrigado!

Aos meus **colegas de pós graduação** pela amizade.

RESUMO

BOGOSLAVSKY, A. **Alterações da cartilagem hialina da cabeça do fêmur de ratos Wistar corredores, em função do envelhecimento.** [Alterations in the articular cartilage of the femoral head of Wistar runner rats as a function of age]. 2006. 96 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

Vários estudos demonstram que a atividade física é capaz de trazer benefícios para as cartilagens articulares. Estes manifestam-se reduzindo os riscos de lesão articular, prevenindo aderências na articulação, aumentando e mantendo sua mobilidade e combatendo a obesidade, grande fator de risco para o desenvolvimento de lesões articulares. Por outro lado, sabe-se que o envelhecimento provoca alterações deletérias em vários tecidos, inclusive nas cartilagens articulares. O objetivo deste trabalho foi verificar se a atividade física regular promove alterações no processo de envelhecimento da cartilagem articular da cabeça do fêmur de ratos Wistar corredores. Para este estudo foram utilizados 24 ratos Wistar corredores, os quais foram divididos em três grupos de oito animais cada: Sedentários (S) – ratos adultos sedentários; Treinados (T) – ratos adultos treinados; e Controle (C) – ratos adultos jovens. As cartilagens articulares das cabeças femorais foram analisadas por dois métodos: microscopia de luz (três de cada grupo) e microscopia eletrônica de varredura (cinco de cada grupo). Os resultados em microscopia de luz foram obtidos a partir do método esteriológico. Os valores não foram estatisticamente diferentes em relação à idade e ao treinamento para os parâmetros: volume total da cartilagem, número total de condrócitos, densidade de volume de matriz e volume total de matriz ($P>0,05$). Os dados foram significantes em “border line” para idade nos parâmetros densidade do volume celular e volume celular indireto ($P=0,058$) e para treinamento no parâmetro densidade celular ($P=0,058$). À microscopia eletrônica de varredura foi possível observar que no grupo S a superfície articular da cabeça femoral apresentava-se lisa e com áreas de erosões bem evidentes, enquanto que, no grupo T e C, haviam nítidas ondulações, sem presença de erosões. Estes dados nos levam a concluir que um programa de atividade física constante durante o envelhecimento é benéfico para a cartilagem articular da cabeça do fêmur, pois sugere que a cartilagem dos animais do grupo S foi mais susceptível a lesões do que as do grupo

T e C, e que a atividade física promoveu a estimulação dos condrócitos, aumentando, assim, a resistência da cartilagem às modificações deletérias do envelhecimento.

Palavras-Chave: Atividade física. Envelhecimento. Cartilagem articular. Cabeça femoral.

ABSTRACT

BOGOSLAVSKY, A. **Alterations in the articular cartilage of the femoral head of Wistar runner rats as a function of age.** [Alterações da cartilagem hialina da cabeça do fêmur de ratos Wistar corredores, em função do envelhecimento]. 2006. 96 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

Several studies has demonstrate that the physical activity can bring benefits for the articular cartilage. These show a reduction in articular lesion risks, preventing the adherences in the articulation, increasing and maintaining its mobility and combating the obesity, which is a great risk factor for the development of articulate lesions. On the other hand, it is known that the aging provokes harmful alterations in several tissues, including articular cartilage. The objective of this work was to verify if the regular physical activity promotes alterations in the process of aging of the articular cartilage of the femoral head of Wistar runner rats. For this research were used 24 Wistar runner rats. The animals were divided in three groups containing eight animals each one: Sedentary (S) - adult sedentary rats; (T) – adult trained rats; and Control (C) – young adult rats. The articular cartilages of the femoral heads were analyzed by two methods: light microscopy (three each group) and scanning electron microscopy (five each group). The results in light microscopy were obtained using stereological method and there were not statistically significant differences in relation to age and training for the parameters: total volume of the cartilage, total number of chondrocytes, volume density of extra cellular matrix and total volume of extra cellular matrix ($P < 0,05$). The data were statistically significant in "border line" for age in the parameters chondrocyte volume density and mean chondrocyte volume ($P = 0,058$) and for training in the parameter cellular density ($P = 0,058$). By scanning electron microscopy was possible to observe that in S group, the surface of articular cartilage of the femoral head came flat and with areas of evident erosions, while, in T group, there were clear undulations, without the presence of erosions. These data take us to conclude that a program of constant physical activity during the

aging promotes benefits for the articular cartilage of the femoral head by suggests that the cartilage of the animals of the S group was more susceptible to lesions than the ones of the T and C group and that the physical activity promoted the stimulation of the chondrocytes, increasing the resistance of the cartilage to the harmful modifications of the aging.

Key Words: Physical activity. Aging. Articular cartilage. Femoral head.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Media das pesagens, seguidos pelo desvio padrão, e significância estatística	57
Tabela 2– Valores das velocidades médias por teste de esforço máximo, seguidos pelo desvio padrão, e significância estatística	59
Tabela 3 – Resultados das variáveis quantidade de disectors (Q^+), densidade de condrócitos (N_V), volume total da cartilagem (V_{ref}), coeficiente de erro para Cavalieri ($CE_{(V_{ref})}$), número total de condrócitos (N), coeficiente de erro celular ($CE_{(N)}$), densidade de volume de condrócito ($V_{V_{(cond.)}}$) e densidade de volume da matriz extracelular ($V_{V_{(mat.)}}$), volume médio de condrócitos ($\bar{V}_N$) e volume de matriz extracelular ($V_{mat.}$), nas cartilagens da cabeça femoral de ratos nos diferentes grupos.	63

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Cabeça femoral com eixo vertical central virtual	43
Figura 2 (A-B) –	Densidade numérica (Q^-)	46
Figura 3 –	Fotomicrografias de referência e “look up”	47
Figura 4 (A-B) –	Estimativa do volume pelo principio de Cavalieri.....	49
Figura 5 –	Estimativa do volume total da cartilagem.....	50
Figura 6 –	Médias obtidas nas diferentes pesagens antes de cada teste de esforço máximo nos grupos S (ratos adultos sedentários) e T (ratos adultos submetidos à atividade física) e na pesagem do grupo C (ratos adultos jovens).....	56
Figura 7 –	Velocidade máxima média obtida nos diferentes tem nos grupos S (ratos adultos sedentários) e T (ratos adultos submetidos à atividade física).....	58
Figura 8 (A-C) –	Densidade numérica (N_V); volume total da cartilagem (V_{ref}) e número total de condrócitos (N) da cartilagem da cabeça femoral de ratos Wistar (ratos adultos jovens e ratos adultos sedentários e treinados).....	65
Figura 9 (A-C) –	Densidade de volume de condrócitos ($V_{V (cond)}$); densidade de volume de matriz extracelular ($V_{V(mat)}$) e volume médio de condrócitos ($\bar{V}_N$) da cartilagem da cabeça femoral de ratos Wistar (ratos adultos jovens e ratos adultos sedentários e treinados).....	66
Figura 10 –	Volume total da matriz extracelular (V_{mat}) da cartilagem da cabeça femoral de ratos wistar (ratos adultos jovens e ratos adultos sedentários e treinados).....	67
Figura 11 (A-F) –	Electronmicrografias da superfície articular da cabeça femoral de ratos Wistar adultos sedentários (grupo S), em microscopia eletrônica de varredura	68
Figura 12 (A-F) –	Electronmicrografias da superfície articular da cabeça femoral de ratos Wistar adultos treinados (grupo T), em microscopia eletrônica de varredura	69
Figura 13 (A-F) –	Electronmicrografias da superfície articular da cabeça femoral de ratos wistar adultos jovens (grupo C), em microscopia eletrônica de varredura.....	70

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	20
2	OBJETIVOS	26
3	REVISÃO DA LITERATURA.....	28
3.1	CARTILAGEM ARTICULAR.....	28
3.2	PROCESSO DE ENVELHECIMENTO ARTICULAR.....	32
3.3	ATIVIDADE FÍSICA.....	35
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	40
4.1	PROTOCOLO EXPERIMENTAL.....	40
4.2	PREPARAÇÃO DO MATERIAL	42
4.3	MICROSCOPIA DE LUZ	42
4.3.1	Preparação do Material para Análise em Microscopia de Luz.....	43
4.3.2	Estudo Estereológico.....	44
4.3.2.1	Densidade Numérica (N_v)	45
4.3.2.2	Volume Total da Cartilagem (V_{ref})	48
4.3.2.3	Número Total de Condrócitos (N)	51
4.3.2.4	Densidade de Volume dos Condrócitos ($V_v (cond)$) e Densidade de Volume da Matriz Extracelular ($V_v (mat)$).....	52
4.3.2.5	Volume Médio dos Condrócitos ($\bar{v}_N$)	52
4.3.2.6	Volume Total de Matriz Extracelular ($V_{mat.}$).....	53
4.4	MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA.....	53
4.4.1	Preparação do Material para Análise em Microscopia Eletrônica de Varredura.....	53
4.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA	54
5	RESULTADOS	56
5.1	PESAGEM DOS ANIMAIS	56
5.2	DESEMPENHO FÍSICO.....	58
5.3	ESTUDO ESTERIOLOGICO.....	59
5.3.1	Densidade Numérica (N_v).....	60
5.3.2	Volume Total da Cartilagem (V_{ref}).....	60
5.3.3	Número Total de Condrócitos (N)	60
5.3.4	Densidade de Volume dos Condrócitos ($V_v (cond)$) e Densidade de Volume da Matriz Extracelular ($V_v (mat)$).....	61
5.3.5	Volume Médio dos Condrócitos ($\bar{v}_N$).....	61
5.3.6	Volume Total de Matriz Extracelular ($V_{mat.}$).....	62

5.4	MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA.....	67
6	DISCUSSÃO.....	72
6.1	PESAGEM DOS ANIMAIS	72
6.2	DESEMPENHO FÍSICO	73
6.3	ESTUDO ESTERIOLOGICO.....	74
6.3.1	Densidade Numérica (N_v).....	74
6.3.2	Volume Total da Cartilagem (V_{ref}).....	75
6.3.3	Número Total de Condrócitos(N)	76
6.3.4	Densidade de Volume dos Condrócitos (V_v (cond)) e Densidade de Volume da Matriz Extracelular (V_v (mat)).....	77
6.3.5	Volume Médio dos Condrócitos ($\bar{v}_N$).....	78
6.3.6	Volume Total de Matriz Extracelular ($V_{(mat)}$).....	78
6.4	MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA.....	80
7	CONCLUSÃO.....	82
	REFERÊNCIAS	85

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

Dados do último censo, realizado pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2000), indicam que a população brasileira praticamente dobrou em 30 anos, sendo que o período de maior acentuação deste fato se deu entre 2000 e 2004, com aumento de 10 milhões de pessoas. Ainda segundo o IBGE, em 2050, seremos 259,8 milhões de brasileiros e nossa expectativa de vida ao nascer, será de 81,3 anos, assemelhando-se a situação atual dos japoneses. As projeções realizadas pelo instituto indicam também que neste mesmo período, a quantidade de crianças de 0 a 14 anos e a de idosos maiores de 65 anos, se igualarão em 18%, e indo mais além, estipulam que em 2062, a população vai parar de aumentar.

Em termos proporcionais, a faixa etária a partir de 60 anos de idade é a que mais cresce. No período de 1950 a 2025, segundo as projeções estatísticas da Organização Mundial de Saúde – OMS – (1998), o grupo de idosos no Brasil deverá ter aumentado em 15 vezes, enquanto a população total em cinco. O País ocupará, assim, o sexto lugar quanto ao contingente de idosos, alcançando, em 2025, cerca de 32 milhões de pessoas com 60 anos ou mais de idade.

A média mundial para a esperança de vida ao nascer era de 65 anos, em 2000, e deverá atingir os 74,3 anos entre 2045 e 2050 (IBGE, 2000).

À semelhança de outros países latino-americanos, o envelhecimento no Brasil é um fenômeno predominantemente urbano, iniciado na década de 60, motivado pela industrialização desencadeada pelas políticas desenvolvimentistas. Esse processo de urbanização propiciou um maior acesso da população a serviços de saúde e saneamento, o que colaborou para a queda verificada na mortalidade. Possibilitou, também, um maior acesso a programas de planejamento familiar e a métodos anticoncepcionais, levando a uma significativa redução da fecundidade (PORTARIA 1395/GM, 1999).

Somado a isso, as regiões mais urbanizadas, como a Sudeste e o Sul, ainda oferecem melhores possibilidades de emprego, disponibilidade de serviços públicos e oportunidades de melhor alimentação, moradia e assistência médica e social, e embora grande parte das populações ainda viva na pobreza, nos países menos desenvolvidos, certas conquistas tecnológicas da medicina moderna, verificadas nos últimos 60 anos – assepsia, vacinas, antibióticos, quimioterápicos e exames complementares de diagnóstico, entre outros –, favoreceram a adoção de meios capazes de prevenir ou curar muitas doenças que eram fatais até então. O conjunto dessas medidas provocou uma queda da mortalidade infantil e, conseqüentemente, um aumento da expectativa de vida ao nascer (PORTARIA 1395/GM, 1999).

Além das transformações demográficas descritas, o Brasil tem experimentado uma transição epidemiológica, com alterações relevantes no quadro de morbimortalidade. As doenças infecto contagiosas que, em 1950, representavam 40% das mortes registradas no País, hoje são responsáveis por menos de 10% (BAYER; PAULA, 1984).

Estes dados nos levam a analisar que diversificados esforços para a melhoria das condições de vida, nas sociedades contemporâneas, têm como conseqüência o aumento da expectativa de vida, verificando-se o crescimento da população idosa em vários países.

A melhora da expectativa de vida nos Estados Unidos e Europa é um fato. No Brasil, o crescimento da população de idosos segue o mesmo modelo, porém de maneira mais rápida, desordenada, e infelizmente sem recursos, uma vez que o setor de saúde está totalmente despreparado para esta realidade, pois ainda está voltado para crianças e jovens. Por outro lado, as diferentes áreas de conhecimento têm dado ênfase, em suas pautas de investigação e intervenção, a velhice e ao processo de envelhecimento, de modo a compreender melhor os múltiplos fatores intrínsecos a esta fase da vida do ser humano. Tem buscado também, disponibilizar aparatos técnico-científicos para a melhoria das condições de vida na senescência.

Essa mudança no perfil epidemiológico acarreta grandes despesas com

tratamentos médicos e hospitalares, ao mesmo tempo em que se configura num desafio para as autoridades sanitárias, em especial no que tange à implantação de novos modelos e métodos para o enfrentamento do problema. O idoso consome mais serviços de saúde, as internações hospitalares são mais frequentes e o tempo de ocupação do leito é maior do que o de outras faixas etárias. Em geral, as doenças dos idosos são crônicas e múltiplas, perduram por vários anos e exigem acompanhamento médico e de equipes multidisciplinares permanentes e intervenções contínuas (PORTARIA 1395/GM, 1999).

O aumento da participação de idosos na população sem dúvida muda o perfil de nosso país, com necessidade de revisão de suas prioridades. Como será a qualidade de vida desta parte da população da sociedade? Quais foram as atividades desenvolvidas para este grupo? Quais programas devem ser realizados a fim de evitar problemas advindos desta faixa etária? Qual o nível de independência que este indivíduo poderá ter, e de que maneira é possível maximizá-la?

Parte da Política Nacional de Saúde do Idoso fundamenta a ação do setor saúde na atenção integral à população idosa e àquela em processo de envelhecimento, na conformidade do que determinam a Lei Orgânica da Saúde – N.º 8.080/90 – e a Lei 8.842/94, que assegura os direitos deste segmento populacional. No conjunto dos princípios definidos pela Lei Orgânica, destaca-se o relativo à "preservação da autonomia das pessoas na defesa de sua integridade física e moral" (Art. 7º, incisos III, II e VII, respectivamente).

Por sua vez, a Lei N.º 8.842 – regulamentada pelo Decreto N.º 1.948, de 3 de julho de 1996 –, ao definir a atuação do Governo, indicando as ações específicas das áreas envolvidas, busca criar condições para que sejam promovidas a autonomia, a integração e a participação dos idosos na sociedade, assim consideradas as pessoas com 60 anos de idade ou mais.

De acordo com a Portaria 1395/GM (1999), foram definidas diretrizes para nortear o trabalho da equipe de saúde, a propósito da Política Nacional do Idoso:

“a promoção do envelhecimento saudável; a manutenção da capacidade funcional; a assistência às necessidades de saúde do idoso; a reabilitação da capacidade funcional comprometida; a capacitação de recursos humanos especializados; o apoio ao desenvolvimento de cuidados informais ; e o apoio a estudos e pesquisas.”

Dentre estas diretrizes, o objetivo maior é a promoção da saúde do idoso através de práticas saudáveis tais como a melhora na alimentação, programas de atividade física, turismo e lazer, que beneficiarão este grupo não apenas em âmbito de cura, mas na prevenção de possíveis efeitos deletérios provenientes desta fase da vida, diminuindo assim o número e período de internações (Portaria 1395/GM, 1999).

A conscientização da importância de assegurar-se a qualidade de vida vem provocado mudanças no estilo de vida das pessoas, o qual tende a ser mais ativo, por meio da adesão às várias modalidades de atividades físicas (MARINHO; GUGLIELMO, 1997).

De acordo com McArdle (1998), a atividade física corresponde a qualquer movimento corporal produzido por músculos que resulte em um maior dispêndio de energia.

A atividade física promove benefícios imediatos (regularização dos níveis de glicose sanguínea, de adrenalina e noradrenalina, assim como da quantidade e qualidade do sono) e de longo prazo (melhora do condicionamento cardiovascular, flexibilidade, resistência, potência e força muscular, equilíbrio, coordenação e velocidade de movimento) (CARVALHO et al., 1995; GOBBI, 1997).

O envelhecimento, além das características exteriores, é acompanhado de outras alterações como perda de força muscular, osteoporose, redução da flexibilidade articular, coordenação motora, equilíbrio, o que repercute inclusive no

desempenho social do idoso, expondo-o a risco de quedas, entorses, fraturas com grande facilidade, proporcionando até mesmo risco de vida. Por tanto, o exercício físico no idoso é fundamental, como preventivo de doenças, traumas, fraturas, como integração social.

Assim sendo, a realização de trabalhos que demonstrem os efeitos do exercício físico em idosos é importante para compreender as respostas dos tecidos orgânicos a este tipo de estímulo. A utilização de modelos animais para estudos deste tipo esta consagrada na literatura. No presente estudo foram utilizados ratos Wistar, que foram submetidos a corrida em esteira, por serem um modelo experimental semelhante ao humano. Os animais realizaram atividade física durante seu processo de envelhecimento, ou seja, dos 6 meses (180 dias) aos 12 meses (360 dias).

Um dos tipos de tecido pouco estudado quanto a este aspecto são as cartilagens articulares, especialmente das cabeça do fêmur. Assim, as alterações na cartilagem hialina da cabeça do fêmur foram analisadas durante o envelhecimento com e sem atividade física, proporcionando uma amostra dos possíveis efeitos da corrida sobre esta articulação no envelhecimento.

OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

O presente estudo visou estudar os seguintes aspectos da cartilagem hialina da cabeça do fêmur de ratos Wistar corredores.

❖ Efeitos da idade sobre a densidade de condrócitos (N_v), volume total da cartilagem (V_{ref}), número total de condrócitos (N), densidade de volume celular ($V_{v\ cond.}$) e densidade de volume da matriz ($V_{v\ mat.}$), volume celular indireto dos condrócitos ($\bar{v}_N$), volume de matriz ($V_{mat.}$) da cartilagem articular da cabeça do fêmur e superfície articular da cabeça do fêmur.

❖ Comparar os possíveis efeitos do exercício físico de corrida sobre a densidade celular (N_v), volume total da cartilagem (V_{ref}), número total de condrócitos (N), densidade de volume celular ($V_{v\ cond.}$) e densidade de volume da matriz ($V_{v\ mat.}$), volume celular indireto dos condrócitos ($\bar{v}_N$), volume de matriz ($V_{mat.}$) da cartilagem da cabeça femoral e superfície articular da cabeça do fêmur nos animais sedentários e em envelhecimento.

REVISÃO DA LITERATURA

3 REVISÃO DA LITERATURA

Neste capítulo será realizada uma breve revisão da literatura, a fim de mencionar aspectos de relevância para a compreensão deste estudo. Desta maneira foram abordados os seguintes temas: cartilagem articular, processo de envelhecimento articular e atividade física.

3.1 CARTILAGEM ARTICULAR

A cartilagem articular, que é hialina, é um tipo de tecido conjuntivo altamente especializado que reveste as superfícies das articulações e tem funções biomecânicas de absorção de choques e distribuição de peso, proporcionando um baixo coeficiente de atrito (ALBERTS et al., 1999; HARDINGHAM et al., 1992; HEISE; TOLEDO, 1993; HUBER et al., 2000; LEVANON; STEIN, 1991; RASCH, 1991; TRATTNIG, 1997). É constituída por células (condroblastos e condrócitos) e matriz extracelular (BURSTEIN et al., 2000).

Os condrócitos têm um papel importante na adaptação e regulação do tecido cartilágneo (WU; HERZOG, 2002). São células responsáveis pelo controle do equilíbrio da síntese e degradação induzidas pelo estresse de PGs e fibrilas colágenas na matriz extracelular, controladas pelas citocinas e fatores de crescimento (HANDA et al., 1997; KARVONEN et al., 1994; MATYAS et al., 2002; MAROUDAS, 1976; MC DEVITT; MUIR, 1976; SMITH et al., 2000; WALDSCHMIDT et al., 1997). Também podem alterar a organização do tecido pela mudança de forma e alinhamento das moléculas da matriz (LANE; BUCKWALTER, 1993; SMITH et al., 2000). A resposta celular varia com a duração e a intensidade do estímulo (SMITH et al., 2000).

Os condrócitos respondem às mudanças na composição da matriz extracelular através de sinais mecânicos, elétricos e físico-químicos, regulando o equilíbrio entre anabolismo e catabolismo e a remodelação interna da matriz (HARDINGHAM et al., 1992; HUBER et al., 2000; KARVONEN et al., 1994; MOW et al., 1992; POOLE et al., 2001; TRATTNIG, 1997). É um material poroelástico, como uma esponja com líquido de preenchimento, que representa aproximadamente 75% do seu peso, e uma matriz sólida (de cerca de 25% de seu peso) como uma rede que promove a resistência à saída do fluxo do fluído (BURSTEIN et al., 2000; WU; HERZOG, 2002). Age como coxim elástico devido às características de gel fibro-reforçado (LANE; BUCKWALTER, 1993; MUIR, 1983; RASCH, 1991). Essas características levam a crer que é uma estrutura designada a suportar grandes estresses (WU; HERZOG, 2002).

A matriz extracelular cartilaginosa por sua vez é formada por rede de fibrilas de colágeno tipo II, VI, IX, X e XI, e substância fundamental amorfa (composta de água, solutos orgânicos e inorgânicos, e PGs) (HARDINGHAM et al., 1992; HUBER et al., 2000; TRATTNIG, 1997; VOGEL, 1994). É um meio de transporte para moléculas hidrossolúveis e íons, funcionando como barreira para microorganismos, além de ser altamente hidrofílica (GRECA, 1996; GRODZINSKY, 1983; HARDINGHAM et al., 1992; HUBER et al., 2000; KJELLÉN; LINDAHL, 1991; MCDEVITT; MUIR, 1976; MUIR, 1983; STEVENS; LOWE, 1997).

A proporção entre os principais componentes da matriz determina as propriedades biológicas e mecânicas de resistência, compressão, extensibilidade e torção do tecido (ALBERTS et al., 1999; CULAV et al., 1999; HUBER et al., 2000). De maneira que para que a cartilagem articular exerça tais propriedades efetivamente é necessária a integridade dos seus componentes extracelulares (HARDINGHAM et al., 1992; LEVANON; STEIN, 1991) e da interação célula-matriz extracelular (HUBER et al., 2000).

Os PGs são macromoléculas complexas constituídas por um esqueleto

protéico, ligado covalentemente a uma ou mais cadeias de glicosaminoglicanos (GAGs) (BRANDAN, 1994; GOMES, 2001; HASCALL; HASCALL, 1981; HASCALL; KIMURA, 1982; HUBER et al., 2000; MICHELLACCI, 1996; NISHIMURA et al., 1996; RUOSLAHTI; YAMAGUCHI, 1991; VAN KUPPEVELT et al., 1984; WIGHT et al., 1991; YANAGISHITA, 1993). Estas macromoléculas são importantes na hidratação da matriz, estabilização da rede colágena, que por sua vez influenciam na resistência a forças compressivas e atuam como filtro regulando a passagem de moléculas através do meio extracelular (ALBERTS et al., 1999; CULAV et al., 1999; HARDINGHAM et al., 1992; HUBER et al., 2000; MAROUDAS 1976; O'CONNOR, 1988; PALMOSKI; BRANDT 1981; MUIR 1983; SÄÄMÄMEN et al., 1994; WIGHT et al., 1991).

Esta grande densidade de cargas negativas é gerada pelos grupamentos sulfatados e carboxilados presentes nos GAGs. Isso faz dos PGs e, conseqüentemente, do agregado de agregans um enorme poliônion responsável pela grande retenção de água no tecido (CARNEY; MUIR, 1988).

O tipo principal de PG da cartilagem hialina localiza-se retido entre as fibras de colágeno da cartilagem formando a estrutura supramolecular da matriz extracelular responsável pela resistência, com mínima deformação, em articulações de descarga de peso (CHAMBERS et al., 2001; MALEMUD, 1991; YANAGISHITA, 1993).

A combinação dos PGs da matriz, a orientação das fibrilas colágenas e a forma dos condrócitos estão intimamente relacionados e adaptados para otimizar a estabilidade mecânica e a capacidade de suportar cargas (WU; HERZOG, 2002).

Devido ao arranjo macromolecular das fibrilas colágenas entremeadas por moléculas de PGs, a matriz é altamente hidrofílica (GRODZINSKY 1983; HARDINGHAM et al., 1992; HUBER et al., 2000; KJELLÉN; LINDAHL 1991; MCDEVITT; MUIR 1976; MUIR 1983; STEVENS; LOWE 1997).

Variações na concentração de PGs e tipos de colágeno têm uma influência direta no comportamento mecânico da cartilagem articular (O'CONNOR et al., 1998) e a alteração e/ou remoção de qualquer um destes componentes pode levar à lesão da cartilagem (VASAN, 1983).

Desse modo, a cartilagem depende totalmente da integridade da rede macromolecular que forma a matriz extracelular, sendo o colágeno responsável pela resistência à deformação e os PGs atuando frente as forças de compressão (ROUGHLEY; WHITE, 1980; SCHMIDT et al., 1990).

A estrutura da matriz extracelular da cartilagem articular varia com a idade (ROUGHLEY, 2001). Mudanças relacionadas com o envelhecimento na composição geral da matriz cartilagínea também resultam em um tecido com menor capacidade para lidar com o estresse mecânico (HULDELMAIER et al., 2001; LOESER, 2000).

Dependendo da pressão mecânica à qual a cartilagem está submetida, no seu meio ambiente ocorrerão mudanças no comportamento e deformação com a idade, como resposta adaptativa ao estresse mecânico (HUDELMAIER et al., 2001; ROUGHLEY, 2001).

As variações de síntese são programadas e são benéficas por natureza. Estas ocorrem para adaptar o tecido desde o período fetal até adulto para suportar mais carga, e para o caso de agressões mecânicas e químicas às quais o tecido estará exposto durante a vida (ROUGHLEY, 2001).

3.2 PROCESSO DE ENVELHECIMENTO ARTICULAR

Varias alterações decorrentes do processo de envelhecimento afetam o sistema músculo-esquelético e devem ser diferenciadas dos processos patológicos (VENN, 1978).

A composição da cartilagem articular adulta altera-se com o envelhecimento, mas as modificações observadas são pequenas quando comparadas com as que ocorrem durante o processo de maturação esquelética, que nos humanos se estende até a terceira década (MADSEN et al., 1983; MEACHIM; COLLINS, 1962; STOCKWELL, 1967).

A compreensão do envelhecimento da cartilagem articular não é apenas básica, mas de interesse prático. Um dos problemas centrais sobre a questão do envelhecimento da cartilagem é de natureza primária e como ele é precedido por mudanças regressivas na matriz. A idade da cartilagem articular se manifesta em crescimento assim como mudanças regressivas (SILBERBERG et al., 1961).

A doença degenerativa articular, também conhecida como artrose e osteoartrite, está entre as causas mais comuns de dor, incapacidade e diminuição da qualidade de vida em indivíduos de meia idade e idosos (ATRA, 1995; NEWTON et al., 1997). A incidência desta doença aumenta com a idade, mas não é causada pelo envelhecimento (NEWTON et al., 1997). Pode ocorrer devido a alterações do movimento normal, excesso de carga articular, anormalidades anatômicas, lesões articulares inflamatórias prévias, uso repetitivo da articulação e diminuição da descarga de peso na articulação (AROKOSKI et al., 1993; JORTIKKA et al., 1997; KIVIRANTA et al., 1987; NEWTON et al., 1997; WALKER, 1996).

Na prática fisioterápica é muito importante dirigir a atenção a estes problemas,

procurando meios de melhorar o bem estar geral dos indivíduos acometidos, bem como prevenir as alterações acima citadas, pois a prevalência das doenças degenerativas articulares crescerá com o aumento progressivo da idade média da população nas próximas décadas (WALKER, 1996; WARD, TIDSWELL, 1987).

Segundo Loeser (2000), indivíduos em processo de envelhecimento podem se beneficiar de exercícios aeróbios, como programas de caminhada por exemplo, com finalidade de proteção articular contra a degeneração da cartilagem.

Existem muitos relatos na literatura sobre as alterações morfológicas na cartilagem articular de animais jovens e em envelhecimento após exercícios moderados (DE GROOT et al., 1999; JONES et al., 2000; HULDELMEIER et al., 2001; KIVIRANTA et al., 1988; LAMMI et al., 1993; PALMOSKI; BRANDT, 1981; SÄÄMÄNEN et al., 1988; VAN DEN HOOGEN et al., 1998; VISSER et al., 1994), excessivos (ARAKOSKI 1993; BUCKWALTER 1995; PAP et al., 1998; SAH et al., 1992) ou ainda após imobilização (HÄÄPALA et al., 1999). Porém, não foram encontradas estas descrições após exercícios de corrida realizados regularmente. A maioria dos trabalhos trata de parâmetros fisiológicos e não das alterações morfológicas articulares decorrentes deste tipo de exercício. Deste modo, este trabalho visa observar possíveis alterações morfológicas microscópicas na cartilagem articular da cabeça do fêmur de ratos em envelhecimento, quando submetidos ou não à atividade física de corrida.

Estudos mostram que articulações sem alterações patológicas em indivíduos de diferentes idades apresentam boa tolerância a exercícios prolongados sem conseqüências adversas e sem acelerar o desenvolvimento de doença degenerativa (BUCKWALTER, 1995; LANE; BUCKWALTER, 1993).

A estrutura da matriz extracelular da cartilagem articular varia com a idade (PLAAS et al., 1997; ROUGHLEY, 2001). Estas variações podem ocorrer na quantidade e na estrutura molecular e podem afetar todos os componentes da

matriz, principalmente os PGs. Algumas destas variações podem ser atribuídas a alterações na síntese, ou a alterações na degradação. Ao longo da vida algumas das mudanças são benéficas para a função da cartilagem enquanto outras podem ser lesivas (ROUGHLEY, 2001).

Em contraste com as mudanças de síntese, a maioria das mudanças de degradação ocorre na matriz extracelular causadas por ação de proteinases levando à diminuição da quantidade pela perda das interações intermoleculares, precedendo as lesões histopatológicas degenerativas (CHAMBERS et al., 2001; PLAAS et al., 1997; ROUGHLEY, 2001)

A primeira mudança observada na cartilagem é a aspereza da superfície da cartilagem nas áreas que a articulação recebe o maior estresse. Esta alteração torna-se mais comum e mais extensa com o avanço da idade (LOESER, 2000).

Uma das mudanças mais pronunciadas na cartilagem articular com o envelhecimento é a diminuição do conteúdo de PGs (DE GROOT et al., 1999; ROUGHLEY; WHITE, 1980). Também foram demonstradas mudanças bioquímicas da cartilagem com a idade como diminuição da síntese e conteúdo de PGs na matriz, e do conteúdo de água. A diminuição da estimulação mecânica das células na cartilagem em envelhecimento quando submetida a carga leva a diminuição da síntese de PGs (DE GROOT et al., 1999).

Uma vez que a atividade dos condrócitos é essencial para a manutenção da estrutura da matriz extracelular, a diminuição do número ou da atividade celular pode ter um impacto na capacidade do organismo em manter a integridade estrutural e funcional desta com o envelhecimento, resultando na diminuição gradual da espessura da cartilagem (HULDELMAIER et al., 2001; KARVONEN et al., 1994).

Outra alteração importante é a diminuição da atividade celular em todas as

camadas da cartilagem com o avanço da idade (KARVONEN et al., 1994).

Com estas mudanças na composição geral da matriz cartilagínea com o envelhecimento o tecido vai apresentar menor capacidade para lidar com o estresse mecânico e ocorrerá menor deformação quando submetido à cargas (HULDELMAIER et al., 2001; LOESER, 2000).

A cartilagem pode tornar-se mais frágil, porém, rígida, com o envelhecimento (BANK et al., 1998). Este aumento da rigidez pode estar associado ao aumento das ligações entre as fibrilas da rede de colágeno (LOESER, 2000).

Em idosos, a redução na capacidade de reparar a matriz lesada também pode ser devido à diminuição dos fatores de crescimento (LOESER, 2000; ROUGHLEY, 2001).

3.3 ATIVIDADE FÍSICA

Estudos demonstram que a atividade física é capaz de trazer benefícios para a saúde da cartilagem articular. A atividade física alonga a musculatura que envolve e suporta a articulação e assim reduz muito os riscos de lesão articular. Também previne a aderência da articulação, aumentando e mantendo a sua mobilidade; e ainda, a atividade física freqüente combate a obesidade, que é um fator de risco para o desenvolvimento de lesões articulares. Por fim, como as cartilagens não são irrigadas ou inervadas, as células da cartilagem são nutridas apenas pela difusão de substâncias através da matriz cartilagínea do líquido sinovial. A atividade física promove este processo (HALL et al., 1991).

A manutenção das propriedades biológicas, da estrutura e função da cartilagem articular dependem do movimento e da descarga de peso sobre ela (AROKOSKI et al., 1993; BEAUPRÉ et al., 2000; KIVIRANTA et al., 1987; PALMOSKI et al., 1980; VAN DEN HOOGEN et al., 1998). Alguns estudos mostram que em animais jovens a carga contribui para o desenvolvimento e em adultos para a conservação da matriz extracelular (SÄÄMÄNEN et al., 1994).

Em geral, a redução do estresse e da tensão diminui a função de síntese celular e a organização da matriz cartilágnea, enquanto que o aumento destas forças leva ao aumento das suas funções. Se estas forças estiverem acima de níveis críticos podem levar a ruptura e degeneração do tecido. Tecidos jovens respondem melhor às forças do que tecidos mais envelhecidos (JORTIKKA et al., 1997; LANE; BUKWALTER, 1993; MATYAS et al., 2002).

Segundo Kirivanta et al (1988), a realização de exercícios moderados melhora as propriedades biomecânicas e biológicas da cartilagem articular.

Vários experimentos descrevem que o exercício de carga moderada na cartilagem hialina de articulações de joelhos de cães, ratos e coelhos causa aumento da síntese e concentração de PGs e GAGs (PALMOSKI; BRANDT, 1981; KIVIRANTA et al., 1987; KIVIRANTA et al., 1988; LAMMI et al., 1993; SÄÄMÄNEN et al., 1988; VAN DEN HOOGEN et al., 1998), aumento do volume da cartilagem (JONES et al., 2000) e adaptação da mesma ao esforço (LAMMI et al., 1993), além de estimular o condrócitos a produzir os elementos que compõem a matriz extracelular (BIHARI-VARGA et al., 1984; EGRI; BATTISTELLA; YOSHINARI, 1999a; VISSER et al., 1994).

Segundo Otterness et al. (1998), o exercício moderado age como um condroprotetor, mantendo o conteúdo de PGs da matriz extracelular em animais jovens, e a falta do exercício pode levar a diminuição destes elementos. Cargas

constantes são importantes para manutenção da saúde da cartilagem (BUCKWALTER, 1995; KIM et al., 1994; SAH et al., 1991; SAH et al., 1992).

Em experimentos realizados com animais adultos jovens com sobrecarga progressiva observou-se adaptação da cartilagem articular a esta carga pelo aumento da concentração de PGs e da espessura da cartilagem sem alterações na sua integridade (AROKOSKI et al., 1993; LANE; BUCKWALTER, 1993; KIVIRANTA et al., 1987; KIVIRANTA et al., 1992; SÄÄMÄNEN et al., 1994; VISSER et al., 1998).

Experimento realizado por Espanha et al (2001), com ratos adultos, demonstrou que o exercício moderado modifica levemente a cartilagem de ratos adultos. Uma reparação da matriz extracelular ocorreu nos estágios iniciais no grupo exercitado. Após longa duração (8 semanas) não houve uma diferença significativa entre este e o grupo controle.

Os exercícios forçados causam desagregação da cartilagem em animais adultos jovens e diminuição dos PGs (ARAKOSKI et al., 1993). Ocorre um aumento do fluxo de água levando à ruptura da matriz, diminuindo a integridade da cartilagem e aumentando a susceptibilidade às alterações degenerativas (BUCKWALTER, 1995; EGRI; BATTISTELLA; YOSHINARI, 1999a; SAH et al., 1992). Estudos de Pap et al. (1998) demonstraram que o esforço excessivo leva ao aumento da produção e da atividade das enzimas que degradam os PGs ocorrendo degradação da matriz com diminuição dos componentes extracelulares (PGs e condroitina-4 e 6 sulfato).

A corrida causa estresse repetitivo nos membros inferiores, pois os pés sofrem um impacto de 600 a 1200 vezes o peso corporal, com uma força de reação ao solo de 2 a 4 vezes o peso do corpo humano. O impacto pode ser atenuado pelo calçado ou ser transmitido diretamente para os membros inferiores (DOWZER et al., 1998).

A ação de correr é diferente da de caminhar, pelo fato de que possui um período de não contacto (ou fase de vôo) e uma fase de suporte onde apenas um dos pés está em contacto com o solo (LESS, 2001).

MATERIAIS E MÉTODOS

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Para a realização deste estudo foram utilizados 24 ratos adultos machos (*Rattus norvegicus*), da linhagem Wistar provenientes do Biotério Central da Faculdade Federal de São Paulo (UNIFESP).

Os animais foram divididos em três grupos com 8 animais cada, controle (C), sedentário (S) e treinado (T). Cada grupo foi analisado pelas técnicas de microscopia de luz e microscopia eletrônica de varredura (três e cinco de cada grupo, respectivamente).

Os animais do grupo C não fizeram atividade física e foram sacrificados aos 6 meses de idade (ratos adultos).

Os animais do grupo S e T permaneceram alojados em caixas de polipropileno providas de bebedouro e comedouro, e mantidas em condições ambientais controladas de temperatura (22°C) e de iluminação (ciclo de 12 horas claro/12 horas escuro). Para todos os grupos foi fornecida ração comercial referência para ratos (Nuvital®) e água *ad libitum*.

Os animais foram pesados no início do experimento e a cada 4 semanas, antes do teste de esforço até o final do experimento.

4.1 PROTOCOLO EXPERIMENTAL

O programa de atividade física teve duração de 6 meses, e foi dividido em períodos de 4 semanas.

Um teste de esforço máximo (TEM) foi realizado no início do experimento em uma esteira elétrica a velocidade de 5 m/min. A cada 4 minutos a velocidade da esteira foi aumentada na mesma proporção (5 m/min) (SILVA et al., 1997).

Os TEMs foram realizados a cada 4 semanas tanto no grupo T quanto no grupo S. Após o TEM, os animais do grupo T foram submetidos a 6 meses de treinamento em esteira, 5 dias por semana, com carga progressiva até 60% daquela conseguida no teste de esforço. Na primeira semana após o teste, os animais correram por 30 minutos, aumentando este tempo em 10 minutos por semana até chegar a 60 minutos na quarta semana, onde ao final da mesma, outro TEM foi realizado para ajustar a intensidade do exercício pelas próximas 4 semanas.

Os animais do grupo S foram submetidos à atividade física apenas uma vez por semana durante 10 minutos, com velocidade de 0,3 Km/h. Esta é a menor velocidade capaz de proporcionar o mínimo de atividade física, apenas para não perderem sua capacidade de realizá-la.

Ao final do experimento, os animais do grupo C tinham 6 meses de idade (adulto jovem) e os dos grupos S e T 12 meses de idade (adulto).

Após este período os animais foram eutanasiados e a cabeça do fêmur evidenciada e retirada. O protocolo de sacrifício dos animais foi submetido à Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

Os animais foram pesados, anestesiados e eutanasiados com dose excessiva de anestésico (Tiopental - Sigma[®], USA, 40mg/Kg de peso corpóreo), via intraperitoneal.

4.2 PREPARAÇÃO DO MATERIAL

Após a última sessão de corrida, os animais controles, sedentários e treinados foram anestesiados, imobilizados e manipulados em prancha de cortiça, e fixados de acordo com protocolo específico para cada tipo de análise. Foram retiradas as articulações dos quadris esquerdos de todos os animais. Foram utilizadas as patas traseiras, pois, são as que mantêm a propulsão durante a marcha. Foi utilizada a cartilagem da região da cabeça do fêmur por ser um local comum de degeneração devido à relação com a descarga do peso corporal em várias espécies (ADAMS, 1989; KÄÄB et al., 1998). Foram dissecados os músculos das regiões anterior e posterior do quadril, expondo a articulação. A cápsula foi então aberta, o ligamento redondo da cabeça do fêmur foi seccionado e esta separada e isolada por meio de uma secção ao nível da parte distal do colo do fêmur.

4.3 MICROSCOPIA DE LUZ

Após a anestesia em nove animais (três de cada grupo), os corações, evidenciados por meio de toracotomia, foram perfundidos através do ventrículo esquerdo com solução salina tamponada fosfatada (PBS, Sigma[®], USA) a 0,1M e pH 7,4 e heparina a 2% (Roche[®], BRA) para a lavagem do sistema arterial e venoso. Posteriormente, foi realizada perfusão com solução fixadora (formalina a 10% - Sigma[®]).

4.3.1 Preparação do Material para Análise em Microscopia de Luz

As cabeças femorais foram fixadas em solução de formaldeído a 10% durante 24 horas a 4°C. Após lavagem, foi realizada a descalcificação das peças em solução de EDTA (ácido etileno diamino tetracético) a 10% dissolvidos no mesmo fixador, durante 33 dias, ou até que as peças não apresentem mais cálcio (verificação a partir de uma reação química de 5 ml da solução em que os fragmentos estavam mergulhados, 1 ml de oxalato de amônio e 1 ml de hidróxido de amônia).

Após a descalcificação, as peças foram lavadas em água destilada por 24 horas, desidratadas em etanol 70%, 95% e 100%, e processadas em Resina Araldite®.

Destes blocos foram obtidos cortes seqüenciais e paralelos ao eixo longo da cabeça femoral (BADDELEY; GUNDERSEN; CRUZ OLIRIVE, 1986) (Figura 1), obtendo secções semi-finas que variavam de 1,4-1,7µm. Os cortes foram obtidos com a utilização de ultra micrótomo Leica Ultracut UCT, com navalha de vidro.

Figura 1 – Cabeça femoral com eixo vertical central virtual. As seções “verticais” são seções planas longitudinais a um sentido axial fixo (mas arbitrário)

Os cortes foram coletados em lâminas histológicas e corados com azul de toluidina, a fim de evidenciar a matriz extracelular e os condrócitos presentes na cartilagem hialina da cabeça do fêmur. Posteriormente, foram cobertas com uma gota de araldite (502 Polyscience Inc[®]), montados sob lamínula e observadas ao microscópio Leica[®] DMR com câmera Leica[®] DC 300F, e software de análise Leica Qwin[®] (Leica Microsystem Imaging Solution Ltd, Cambridge, UK).

As imagens obtidas foram delimitadas por uma área teste (At) de aproximadamente $13.189 \mu\text{m}^2$, constituída por linhas de inclusão e exclusão, sendo considerados apenas os perfis que estavam dentro da área teste e que não tocavam nas linhas de exclusão (GUNDERSEN, 1977; HOWARD; REED, 2005). (Figura 2A).

Desta forma, o eixo maior do núcleo dos condrócitos amostrados foi mensurado com o auxílio do programa para processamento de imagens Leica Qwin[®] (Leica Microsystem Imaging Solution Ltd, Cambridge, UK), devidamente calibrado. Foram mensurados em média 45 núcleos celulares, distribuídos em quatro quadrantes diferentes de cada secção, escolhidos sistemática, uniforme e aleatoriamente, por grupo.

4.3.2 Estudo Estereológico

O estudo estereológico foi realizado no Laboratório de Estereologia Estocástica e Anatomia Química da FMVZ. O sistema consiste de Microscópio Leica, ao qual está acoplada uma micro câmera de vídeo Leica[®] DC300F.

O estudo estereológico foi realizado em imagens digitalizadas, de maneira semi-automática, com programa de imagem. Neste estudo foram estimados

densidade numérica de condrócitos (N_v), volume total da cartilagem (V_{ref}), número total de condrócitos (N), densidade de volume de condrócitos ($V_{v\ cond.}$) e densidade de volume da matriz ($V_{Mat.}$), volume médio dos condrócitos ($\bar{V}_N$) e volume total de matriz ($V_{Mat.}$)

4.3.2.1 Densidade Numérica (N_v)

Para a estimativa da densidade numérica, o método do disector físico foi empregado. O método consiste em amostrar dois cortes seqüenciais, chamados de referencia e “look-up”, e verificar os perfis presentes no primeiro e não no segundo, utilizando-se do mesmo sistema com linhas de inclusão e exclusão “unbiased counting frame” descrito por Gundersen (1977) (Figura 2 e 3). Neste estudo, foi realizado também o método “two way” disector, em que a “look up” vira referência e vice versa. Este método permite estimar a densidade numérica (N_v) de condrócitos dentro de um volume conhecido (GUNDERSEN, 1988; HOWARD; REED, 2005; MAYHEW; GUNDERSEN, 1996; PAKKENBERG; POVER; COGGESHALL, 1991; STERIO, 1984).

O calculo de N_v é feito pela soma de perfis celulares (ΣQ^-), em dividido pela somatória dos volumes do disector ($V_{(dis)}$). Para o grupo S foram quantificados 37, 31 e 38 disectors; para o grupo T 32, 34 e 34 disectors, e para o grupo C 34, 37 e 50 disectors. O volume de cada disector representa a área teste ($A_t = 13188,9 \mu m^2$) pela altura do disector (t), $1,4 \mu m$, $1,7 \mu m$ e $1,5 \mu m$ para os grupos S, T e C respectivamente. (Equações 1 e 2).

$$N_v = \Sigma Q / \Sigma V_{(dis)}$$

Equação 1

$$V_{(dis)} = t \times A_t$$

Equação 2

Figura 2 (A-B) – Densidade numérica (Q^-). Esquemas mostrando células, e aplicação de um sistema teste, com o método de disector físico. Em A: secção referência, de células contidas dentro de um sistema teste, com linhas de inclusão (pontilhadas) e exclusão (contínuas), B: Secção “look up”, células contidas na mesma área da A. Na comparação de A e B (disector), é possível observar células q desaparecem (representadas em A em preto), em número de cinco

Figura 3 (A-F) - (A-B) Fotomicrografia da secção referência e secção "look up" da cartilagem articular da cabeça do fêmur de ratos Wistar (grupo S – ratos adultos sedentários); (C-D) Fotomicrografia da secção referência e secção "look up" da cartilagem articular da cabeça do fêmur de ratos Wistar (grupo T – ratos adultos treinados). (E-F) Fotomicrografia da secção referência e secção "look up" da cartilagem articular da cabeça do fêmur de ratos Wistar (grupo C – ratos adultos jovens). Setas (→) indicam núcleos de condrócitos presentes na secção referencia e ausentes na secção "look up". Scale bar: 10 μ m

4.3.2.2 Volume Total da Cartilagem (V_{ref})

Para a quantificação do volume total da cartilagem, foi utilizado o princípio de Cavalieri.

O princípio de Cavalieri foi proposto por Cavalieri (1598-1647). Cavalieri mostrou que o volume de qualquer objeto $V_{(obj)}$ pode ser estimado a partir de secções paralelas separadas por uma distancia conhecida (T), pela soma das áreas de todas as secções obtidas do objeto (Σa) multiplicada por T (Equação 3). Existe apenas uma condição que deve ser seguida, a de que a posição da primeira fatia deve ser aleatória no objeto (Figura 4 A).

$$V(obj) = T \times \Sigma a$$

Equação 3

T= distancia entre as secções

Σa = Somatória das áreas de todas as secções obtidas do objeto

Os eixos longos das cabeças femorais de todos os grupos foram mensuradas com paquímetro digital Digimess[®]. A primeira fatia foi obtida aleatoriamente, a partir de uma tabela de números aleatórios, dentro do intervalo 1-k (Figuras 4 A,B).

Figura 4 (A-B) – Estimativa do volume pelo princípio de Cavalieri. Em A a cabeça do fêmur foi cortada sistemática, uniforme e aleatoriamente, ao longo do seu eixo longitudinal, originando, neste exemplo, 4 fatias paralelas e da mesma espessura, t . Em B a área de secção transversal das fatias a ser calculada

As secções obtidas foram montadas sobre lâminas, coradas com solução de azul de toluidina, cobertas com uma gota de araldite (502 Polyscience Inc.®) e montadas sob lamínulas, como descrito anteriormente.

As secções observadas ao microscópio óptico foram fotografadas.

Com um sistema teste específico colocado sobre a fotomicrografia, foi contado o número de pontos que tocavam apenas a área desejada (Figura 5), e em seguida estimado o volume pelo princípio de Cavalieri, que leva em conta a área por pontos ($a/p = 142.618 \mu\text{m}^2$) utilizada para a estimativa de cada slab e a distancia T dos cortes, obtida pelo produto de t por k (Equação 4).

$$V_{(\text{ref})} = \sum a_{(\text{prof})} \times (a/p) \times t \times k$$

Equação 4

Figura 5 – Estimativa do volume total da cartilagem. Fotomicrografia do fêmur, com sobreposição de um sistema teste composto por pontos equidistantes entre si. Em A: cartilagem; B: osso. Neste exemplo, apenas 5 pontos que tocam a cartilagem. Scale bar: 100μm

O coeficiente de erro ($CE_{(V_{ref})}$) para Cavalieri foi estimado a partir do “noise effect”, “variance SURS”, e “total variance of ΣP ” (Equação 5, 6, 7 e 8) (Gundersen, 1999; Nyengaard, 1999).

$$\text{Noise} = (0,0724 \times (b/\sqrt{a}) \times \sqrt{n \times \Sigma P})$$

Equação 5

$(b/\sqrt{a})$ = estimativa do formato da estrutura

n = número de secções

ΣP = somatória de pontos

$$\text{Var}_{\text{surs}}(\Sigma a) = (3 \times (A - \text{Noise}) - 4B + C) / 240$$

Equação 6

A = Somatória de pontos de $A \times A$

B = Somatória de pontos de $A \times (A + 1)$

C = Somatória de pontos de $A \times (A + 2)$

$$\text{Total Variance } \Sigma P = \text{Noise} + \text{Var}_{\text{surs}} (\Sigma a)$$

Equação 7

$$\text{CE}_{(V \text{ ref})} = \sqrt{\text{Total Variance} / \Sigma P}$$

Equação 8

4.3.2.3 Número Total de Condrócitos (N)

A estimativa do número total de condrócitos foi feita a partir do produto da densidade numérica (N_v) – estimado pelo disector físico, pelo volume total da cartilagem (V_{ref}) – estimado pelo principio de Cavalieri (GUNDERSEN, 1986) (Equação 10), e o coeficiente de erro ($\text{CE}_{(N)}$) (Equação 11) deve ser entre 5-10% (BRAENDGAARD et al., 1990; GAGLIARDO et al., 2005; MAYHEW; OLSEN, 1991; PAKKENBERG; GUNDERSEN, 1989; RIBEIRO, DAVIS; GABELLA, 2004; STERIO, 1894).

$$N = N_v \times V_{(\text{ref})}$$

Equação 10

$$\text{CE}_{(N)} = 1 / \sqrt{\Sigma Q}$$

Equação 11

4.3.2.4 Densidade de Volume dos Condrócitos ($V_{V(\text{cond})}$) e Densidade de Volume da Matriz Extracelular ($V_{V(\text{mat})}$).

Densidade de volume é a fração do volume total ocupado pelos condrócitos e/ou pela matriz extracelular e do volume total da referência (Ribeiro, 2006). A fim de estimar V_v , um sistema teste de pontos eqüidistantes, foi colocado aleatoriamente sobre a fotomicrografia das secções de referência utilizadas para a estimativa da densidade numérica, e em seguida, o número total dos pontos que tocaram o espaço referência – cartilagem ($P_{(rs)}$), foi contado, assim como o número total dos pontos que tocaram os condrócitos ($P_{(cond)}$) e a matriz extracelular ($P_{(mat)}$) (Equações 11 e 12). A estimativa da densidade de volume vai de 0 a 1, porém é expressa geralmente em porcentagem (RIBEIRO; 2006, HOWARD; REED, 2005).

$$V_{v(\text{cond}, rs)} = \Sigma P_{(cond)} / \Sigma P_{(rs)}$$

Equação 11

$$V_{v(\text{mat}, rs)} = \Sigma P_{(mat)} / \Sigma P_{(rs)}$$

Equação 12

4.3.2.5 Volume Médio dos Condrócitos ($\bar{v}_N$)

O volume médio dos condrócitos foi estimado indiretamente através da relação entre densidade de volume e da densidade numérica (Equação 13)(BROWNE; HOWARD; JOLLEYS, 1995; HOWARD; REED, 2005).

$$\bar{v}_N = V_{v(\text{cond})} / N_v$$

Equação 13

4.3.2.6 Volume Total de Matriz Extracelular ($V_{mat.}$)

Uma vez conhecida a densidade de volume da matriz extracelular e o volume referência, e sabendo-se que a cartilagem é composta de condrócitos e matriz, foi possível estimar o volume total da matriz extracelular (Equação 14).

$$V_{mat} = V_v(mat) \times V_{(ref)}$$

Equação 14

4.4 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

Outros quinze animais (cinco de cada grupo), após eutanásia, tiveram seu sistema arterial e venoso lavados da mesma maneira citada anteriormente e depois, foram perfundidos com solução fixadora de glutaraldeído à 5% (Merck®), e formaldeído a 1% (Sigma®) em tampão cacodilato de sódio (EMS®) a 0,125M e ph 7,4 (solução fixadora de Karnovsky modificada).

4.4.1 Preparação do Material para Análise em Microscopia Eletrônica de Varredura

As cabeças femorais fixadas em solução de glutaraldeído a 5% (Merck®) e formaldeído a 1% (Sigma®) em tampão cacodilato de sódio (EMS®) a 0,125M e ph

7,4, foram alojadas em frascos escuros, contendo a mesma solução, durante 24 horas em ambiente refrigerado (aproximadamente 4°C). Após a fixação, as peças foram lavadas em água destilada, desidratadas e processadas para microscopia eletrônica de varredura. As cabeças do fêmur foram então desidratadas em ponto crítico, montadas em bases apropriadas, metalizadas com uma camada de ouro e examinadas em microscópio eletrônico de varredura.

4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As análises foram feitas por meio do programa Minitab® Release 14, Academic Version (MINITAB, 2006). Para a análise de peso corpóreo e desempenho físico, foi utilizado o procedimento ANOVA para a análise de variância e em caso de detecção de efeitos significativos ($P < 0,05$), utilizou-se o teste t de Student.

A distribuição de frequência dos parâmetros estereológicos investigados foram analisados pelo Mood's Median Test (teste de medianas, $P < 0,06$) devido a distribuição não simétrica destes dados, levando em conta os efeitos de treinamento (corrida e sedentarismo), idade (adultos jovens e adultos).

Os resultados são expressos como média (CV), sendo $CV = Sd/média$.

RESULTADOS

5 RESULTADOS

A fim de facilitar a compreensão, os resultados serão apresentados subdivididos em quatro itens: pesagem dos animais, desempenho físico, análise estereológica e análise da superfície da cabeça femoral à microscopia eletrônica de varredura.

5.1 PESAGEM DOS ANIMAIS

As médias dos pesos corpóreos dos animais foram calculadas para os grupos S (ratos adultos) e T (ratos adultos submetidos à atividade física), em um total de sete medições. Para o grupo C (ratos adultos jovens) o peso foi medido apenas uma vez, no dia em que foram sacrificados (Figura 5).

Figura 6 – Médias obtidas nas diferentes pesagens antes de cada teste de esforço máximo nos grupos S (ratos adultos sedentários) e T (ratos adultos submetidos à atividade física) e na pesagem do grupo C (ratos adultos jovens)

Resultados

No grupo S obteve se média de 431,33 g no peso corpóreo (0,11) na primeira pesagem, de 479,33g, (0,10) no segundo teste; 478,33g (0,085) no terceiro teste; 498,66 g, (0,09) no quarto teste; 514,33 g (0,10) no quinto teste; 519,66 g (0,10) no sexto teste; e 499,16 g (desvio padrão 0,12) no último teste.

Os valores de pesagem no grupo T, resultaram média 403 g (0,11), 416,66 g (0,11) no segundo teste; 436 g (0,09) no terceiro teste; 454 g (0,11) no quarto teste; 459,66 g (0,10) no quinto teste; 465,66 g (0,11) no sexto teste; 466,83 g (0,17) no último teste.

Os animais do grupo C obtiveram média de pesagem de 450,33 g (0,09) no único teste que realizaram.

Os resultados referentes ao desempenho físico entre os animais dos grupos S e T diferiram significativamente ($P < 0,05$) a partir do segundo teste (Tabela 1).

Tabela 1 – Media das pesagens, seguidos pelo desvio padrão, e significância estatística

GRUPO	PESAGENS						
	1	2	3	4	5	6	7
C	450,33 $\pm$ 44,95						
S	431,33 $\pm$ 50,52*	479,33 $\pm$ 51,82*	478,33 $\pm$ 40,89*	498,66 $\pm$ 47,01*	514,33 $\pm$ 55,59*	519,66 $\pm$ 54,30*	499,16 $\pm$ 62,92*
T	403 $\pm$ 45,10	416,66 $\pm$ 47,11	436 $\pm$ 39,83	454 $\pm$ 50,11	459,66 $\pm$ 50,11	465,66 $\pm$ 54,17	466,83 $\pm$ 79,94

Médias seguidas por (*) na mesma coluna diferem significativamente pelo teste t Student ($P < 0,05$)

5.2 DESEMPENHO FÍSICO

A partir dos TEM, puderam ser calculadas as médias das velocidades máximas alcançadas nos grupos S (ratos adultos sedentários) e T (ratos adultos submetidos a atividade física). Como já referido, os animais do grupo C (ratos adultos) não foram submetidos a nenhum programa de atividade física (Figura 6).

Figura 7 – Velocidade máxima média obtida nos diferentes TEM nos grupos S (ratos adultos sedentários) e T (ratos adultos submetidos à atividade física)

Os resultados a seguir demonstram a média das velocidades para cada grupo, em cada TEM realizado:

Animais do grupo S apresentaram velocidade média no primeiro teste de 0,85 Km/h (0,29), 0,85 Km/h (0,34) no segundo teste; 0,8 Km/h (0,3) no terceiro teste; 0,7 Km/h (0,42) no quarto teste; 0,6 Km/h (0,43) no quinto teste; 0,50 Km/h (0,48) no sexto teste; e 0,45 Km/h (0,35) no último teste.

Resultados

O grupo T apresentou no primeiro teste média de velocidade de 1,05 Km/h (0,15), 1,45 Km/h (0,20) no segundo teste; 1,50 Km/h (0,28) no terceiro teste; 1,45 Km/h (0,24) no quarto teste; 1,35 Km/h (0,25) no quinto teste; 1,35 Km/h (0,11) no sexto teste; e 1,30 Km/h (0,23) no último teste.

Os resultados referentes ao desempenho físico entre os animais dos grupos S e T diferiram significativamente ($P \leq 0,05$) a partir do segundo teste (Tabela 2).

Tabela 2 – Valores das velocidades médias por teste de esforço máximo, seguidos pelo desvio padrão, e significância estatística

GRUPOS	TEM						
	1º	2º	3º	4º	5º	6º	7º
S	0,85 $\pm$ 0,22	0,85 $\pm$ 0,25*	0,80 $\pm$ 0,24*	0,70 $\pm$ 0,30*	0,60 $\pm$ 0,26*	0,50 $\pm$ 0,24*	0,45 $\pm$ 0,16*
T	1,05 $\pm$ 0,16	1,45 $\pm$ 0,29*	1,50 $\pm$ 0,42*	1,45 $\pm$ 0,35*	1,35 $\pm$ 0,25*	1,35 $\pm$ 0,16*	1,30 $\pm$ 0,30*

Médias seguidas por (*) na mesma coluna diferem significativamente pelo método t Student ($P < 0,05$)

5.3 ESTUDO ESTERIOLÓGICO

Neste item foram considerados densidade celular (N_v), volume total da cartilagem (V_{ref}), número total de condrócitos (N), densidade de volume celular ($V_{cond.}$) e densidade de volume da matriz ($V_{v\ mat.}$), volume celular indireto dos condrócitos ($\bar{v}_N$) e volume de matriz ($V_{mat.}$), e foram apresentados em subitens, para melhor compreensão. Ao final, os resultados encontram-se apresentados sistematicamente na tabela 3.

5.3.1 Densidade Numérica (N_v)

A densidade numérica (N_v) obtida em mm^{-3} , no grupo sedentário foi de $117.507,3 \text{ mm}^{-3}$ (0,05), no grupo treinado de 92.288 mm^{-3} (0,08), e no grupo controle de $135.168,3 \text{ mm}^{-3}$ (0,36). Os valores para os animais que realizaram atividade física diferiram significativamente em “border line” ($P=0,058$), e não foram significativamente diferente em relação a idade ($P=0,63$) (Figura 8 – A).

5.3.2 Volume Total da Cartilagem (V_{ref})

O volume total da cartilagem no grupo sedentário foi $3,9 \text{ mm}^3$ (0,40), no grupo treinado de $4,1 \text{ mm}^3$ (0,33), e no grupo controle de $4,08 \text{ mm}^3$ (0,20). Os valores não foram significativamente diferentes para idade e treinamento ($P=0,34$, $P=0,63$) (Figura 8 – B).

O coeficiente de erro ($CE_{(V_{\text{ref}})}$) para a quantificação do volume total foi de 3,2%, 4,5% e 5,4% (grupo S), 3%, 4% e 5,2% (grupo T), 3,1%, 4,3% e 4,8% (grupo C).

5.3.3 Número Total de Condrócitos (N)

O número total de condrocitos do grupo sedentário foi de 455.893 (0,39), no grupo treinado de 373.909,7 (0,27), e no grupo controle de 451.570,3 (0,18). Os valores não foram significativamente diferentes para idade e treinamento ($P=0,34$, $P=0,63$) (Figura 8 – C).

O coeficiente de erro ($CE_{(N)}$) foi de 7,8%, 8,3% e 9,4% (grupo sedentário), 8%, 8,6% e 8,9% (grupo treinado) e 6,8%, 7,5% e 8,3% (grupo controle).

5.3.4 Densidade de Volume dos Condrócitos ($V_{V\ (cond)}$) e Densidade de Volume da Matriz Extracelular ($V_{V\ (mat)}$).

A densidade de volume celular ($V_{V\ (cond)}$) foi de 20% (0,29) no grupo sedentário, de 18% (0,28) no grupo treinado, e 15% (0,11) no grupo controle. Os valores foram significativos “border line” para idade ($P=0,058$), mas não foram estatisticamente significativos para treinamento ($P=0,34$) (Figura 9 – A).

A densidade de volume de matriz extracelular ($V_{V\ (mat)}$) foi de 79% (0,07) no grupo sedentário, de 81% (0,06) no grupo treinado, e 84% (0,02) no grupo controle. Os valores não foram estatisticamente significativos para idade e treinamento ($P=0,34$, $P=0,63$) (Figura 9 – B).

5.3.5 Volume Médio dos Condrócitos ($\bar{v}_N$)

O volume celular médio de condrócitos no grupo sedentário foi $1.729,53\ \mu\text{m}^3$ em média (0,28), no grupo treinado foi de $2.057,16\ \mu\text{m}^3$ (0,31), e no grupo controle de $1.405,6\ \mu\text{m}^3$ (0,13). Os valores foram significativos em “border line” para idade ($P=0,058$), mas não foram estatisticamente significativos para treinamento ($P=0,34$) (Figura 9 – C).

5.3.6 Volume Total de Matriz Extracelular ($V_{\text{mat.}}$)

O volume de matriz extracelular foi de $3,05 \text{ mm}^3$ (0,35) no grupo sedentário, de $3,35 \text{ mm}^3$ (0,37) no grupo treinado, e de $3,42 \text{ mm}^3$ (0,17) no grupo controle. Os dados não foram significantemente diferentes em relação à idade e ao treinamento ($P=0,34$, $P=0,63$) (Figura 10).

Tabela 3 – Resultados das variáveis: quantidade perfis celulares (Q^+), densidade de condrócitos (N_v), volume total da cartilagem (V_{ref}), coeficiente de erro para Cavalieri ($CE_{(V_{ref})}$), número total de condrócitos (N), coeficiente de erro celular ($CE_{(N)}$), densidade de volume de condrócitos ($V_{v (cond.)}$) e densidade de volume da matriz extracelular ($V_{v (mat.)}$), volume médio dos condrócitos ($\bar{v}_N$) e volume de matriz extracelular ($V_{mat.}$), nas cartilagens da cabeça femoral de ratos nos diferentes grupos. (*) representam significância estatística

Grupo	Q^+	$N_v (mm^{-3})$	$V_{ref} (mm^3)$	$CE_{(V_{ref})} (%)$	N	$CE_{(N)} (%)$	$V_{v cond} (%)$	$V_{v mat} (%)$	$\bar{v}_N (\mu m^3)$	$V_{mat} (mm^3)$
S (Sedentário)	112	112330	3,27	4,5	367995	9,4	14,1	85,9	1247,6	2,80
	163	116150	5,72	3,2	664770	7,8	25,8	74,2	2229,5	4,24
	142	124042	2,71	5,4	334914	8,3	21,2	78,8	1711,5	2,12
Média	139	117507,3	3,90	4,3	455993	8,5	20,3*	79,7	1729,53*	3,05
Desvio Padrão	25,63	5972,81	1,60	--	181647,4	--	0,05	0,05	491,19	1,07
Coeficiente de Variação	0,18	0,05	0,40	--	0,39	--	0,29	0,07	0,28	0,35
T (Treinado)	155	101668	2,79	5,2	284672	8	17,5	82,5	1726,6	2,30
	126	87808	3,99	4	350355	8,9	24,7	75,3	2813,2	3
	133	87238	5,57	3	486702	8,6	14,2	85,8	1631,7	4,765
Média	138	92238	4,12	4,3	373909,7*	8,5	18,8	81,2	2057,16	3,35
Desvio Padrão	15,13	8171,59	1,39	--	103054,1	--	0,05	0,05	656,46	1,26
Coeficiente de Variação	0,10	0,08	0,33	--	0,27	--	0,28	0,06	0,31	0,37

Tabela 3 – Resultados das variáveis: quantidade de perfis celulares (Q^-), densidade de condrócitos (N_v), volume total da cartilagem (V_{ref}), coeficiente de erro para Cavalieri ($CE_{(V_{ref})}$), número total de condrócitos (N), coeficiente de erro celular ($CE_{(N)}$), densidade de volume de condrócitos ($V_{v(cond.)}$) e densidade de volume da matriz extracelular ($V_{v(mat.)}$), volume médio dos condrócitos ($\bar{v}_N$) e volume de matriz extracelular ($V_{mat.}$), nas cartilagens da cabeça femoral de ratos nos diferentes grupos. (*) representam significância estatística

Grupo	Q^-	$N_v (mm^{-3})$	$V_{ref} (mm^3)$	$CE_{(V_{ref})} (%)$	N	$CE_{(N)} (%)$	$V_{v cond} (%)$	$V_{v mat} (%)$	$\bar{v}_N (\mu m^3)$	$V_{mat} (mm^3)$
C (Controle)	214	108173	3,29	4,8	356973	6,8	13,6	86,4	1260,6	2,849
	175	191540	4,01	3,1	479356	7,5	16,1	83,9	1339,4	3,36
	143	105792	4,94	4,3	518382	8,3	17,1	82,9	1616,8	4,06
Média	177,33	135168,3	4,08	4	451570,3	7,5	15,5	84,5	1405,6	3,42
Desvio Padrão	35,55	48833,81	0,82	--	842115,49	--	0,01	0,01	187,10	0,60
Coeficiente de Variação	0,20	0,36	0,20	--	0,18	--	0,11	0,02	0,13	0,17

Figura 8 (A - C) – (A) Densidade numérica (N_V) da cartilagem da cabeça femoral de três animais de 6 meses (grupo C), três de 12 meses do grupo Sedentário, e três de 12 meses do grupo Treinado. Significativo para treinamento em “border line” ($P=0,058$), não significativo para idade ($P=0,63$). (B) Volume total da cartilagem (V_{ref}) para os mesmos três animais de cada grupo. Não significativos para idade e treinamento ($P=0,34$, $P=0,63$). (C) Número total de condrócitos (N) para os mesmos três animais de cada grupo. Não significativos para idade e treinamento ($P=0,34$, $P=0,63$). As barras horizontais indicam as médias entre os grupos e os pontos indicam os valores individuais dentro de cada grupo

Figura 9 (A - C) – (A) Densidade de volume de condrócitos ($V_{V(\text{cond})}$) da cartilagem da cabeça femoral de três animais de 6 meses (grupo C), três de 12 meses do grupo Sedentário, e três de 12 meses do grupo Treinado. Significativo em “border line” para idade ($P=0,058$), não significativo para treinamento ($P=0,34$). (B) Densidade de volume de matriz extracelular ($V_{V(\text{mat})}$) Volume total da cartilagem para os mesmos três animais de cada grupo. Não significativos para idade e treinamento ($P=0,34$, $P=0,63$). (C) volume médio de condrócitos ($\bar{v}_N$) para os mesmos três animais de cada grupo. Significativo em “border line” para idade ($P=0,058$), não significativo para treinamento ($P=0,34$). As barras horizontais indicam as médias entre os grupos e os pontos indicam os valores individuais dentro de cada grupo

Figura 10 – Volume total da matriz extracelular (V_{mat}) da cartilagem da cabeça femoral de ratos Wistar (ratos adultos jovens e ratos adultos sedentários e treinados)

5.4 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

A análise da superfície da cartilagem articular foi realizada de forma qualitativa, empregando-se para isso a microscopia eletrônica de varredura.

Através das análises das electronmicrorgrafias verificamos que os cinco animais do grupo sedentário apresentavam lesões e rachaduras ao longo de sua superfície articular, e ainda foi possível observar que a estrutura da cartilagem articular era lisa e regular, sem presença de ondulações.

No grupo treinado, todos os cinco animais apresentavam em sua superfície articular irregularidades como elevações e depressões bem definidas, se mostrando como ondulações ao longo do tecido, porém sem nenhum indicio de lesões.

As observações feitas nas electronmicrografias dos animais do grupo C foram idênticas às do grupo treinado.

Figura 11 (A-F) – Electronmicrografias da superfície articular da cabeça femoral de ratos Wistar adultos sedentários (grupo S), em microscopia eletrônica de varredura. (A-B) Formação de lascas sobre a superfície (★). (C) Superfície da cartilagem articular lisa (↓) e parte do ligamento redondo da cabeça do fêmur (◇). (D) Superfície da cartilagem articular lisa (↓) e com presença de rachaduras (↘). (E) Superfície da cartilagem articular lisa (↓). (F) Presença de erosões sobre a superfície da cabeça femoral (✦)

Figura 12 (A-F) - Electronmicrografias da superfície articular da cabeça femoral de ratos Wistar adultos treinados (grupo T), em microscopia eletrônica de varredura. (A) Fotomicrografia panorâmica da cabeça femoral mostrando a superfície com ondulações (↓) e o ligamento redondo da cabeça femoral (◇). (B) Superfície da cartilagem articular com presença de ondulações (↓). (C) Superfície da cartilagem articular com presença de ondulações (↓) e parte do ligamento redondo da cabeça do fêmur (◇). (D-E) Superfície da cartilagem articular com presença de ondulações (↓). (F) Nervuras do tecido cartilaginoso da cabeça do fêmur (△). Pode-se observar que em toda a extensão da superfície articular da cabeça femoral a presença de ondulações e ausência de lascas, rachaduras e/ou erosões

Figura 13 (A-F) – Fotomicrografias da superfície articular da cabeça femoral de ratos Wistar adultos jovens (grupo C), em microscopia eletrônica de varredura. (A-B) Superfície da cartilagem articular com presença de ondulações (↓) Como verificados em animais do grupo T

DISCUSSÃO

6 DISCUSSÃO

Neste capítulo serão discutidos os seguintes temas: pesagem dos animais, desempenho físico, estudo esteriológico e microscopia eletrônica de varredura.

6.1 PESAGEM DOS ANIMAIS

Os dados obtidos ao longo do presente experimento, mostram que os ratos do grupo T (ratos adultos treinados) e do grupo S (ratos adultos sedentários) ganharam peso, exceto no último mês de observação, onde foi possível notar uma redução no peso corpóreo em ambos os grupos. O ganho de peso corpóreo no grupo de animais sedentários, do primeiro para o segundo mês, foi notoriamente maior do que nos animais submetidos à atividade física (ganho de 11% e 3% respectivamente). O inverso ocorreu da segunda para a terceira pesagem, onde animais do grupo T obtiveram ganho de 4% e os do grupo S menos que 1%. Da quarta a sexta pesagem o aumento de peso foi igual para os dois grupos (entre 1-4%), porém com decréscimo progressivo, até que na sétima pesagem, todos os animais perderam peso. A perda para os animais sedentários foi maior (-4%), do que nos treinados (-1%).

Os dados encontrados sugerem que os animais sedentários ganharam peso por ingerirem uma quantidade de calorias maior que aquela que o corpo utiliza (OLIVEIRA; FISBERG, 2003), os exercícios físicos tem a função de aumentar o gasto energético levando ao desequilíbrio calórico negativo ou a manutenção do metabolismo basal o que contribui para a perda de peso corporal (OMS, 2003). Entretanto, é mais provável que o aumento nos animais treinados seja devido ao efeito do exercício físico, onde as fontes de energia são mobilizadas e tendem a

liberar glucagon, cortisol, testosterona e hormônio de crescimento (BRACCO, 2002), que é benéfico para manutenção e construção da massa muscular. Tal efeito anabólico possibilita a diminuição da ação da insulina e tende a dificultar o armazenamento de lipídeos nas células adiposas (CAMPOS, 2001).

A diminuição crescente do aumento de peso a partir da quinta pesagem e a diminuição efetiva na sétima pesagem pode ser justificada de acordo com estudos de McArdle (1998), ao demonstrarem em humanos que após os sessenta anos de idade, o peso corporal vai sendo reduzido apesar de ganhar um maior nível de gordura corporal, e dependendo do grau de envelhecimento, ocorre perda de peso devido ao declínio geral na função neuromuscular e a deterioração na capacidade celular de realizar a síntese protéica.

Os resultados do presente trabalho ressaltam a importância da atividade física como fator de saúde, segundo Monteiro; Riether; Burini (2004), A obesidade é um dos principais problemas de saúde nos países em desenvolvimento e também nos industrializados, podendo ser caracterizada como uma doença na qual o excesso de gordura corporal se acumula a tal ponto que a saúde pode ser afetada.

De acordo com Sabia et al. (2004), Fernandez et al. (2004), Gentil (2005) e Ferreira et al. (2003), o exercício físico aliado a uma alimentação saudável tem sido indicado como um mecanismo para a redução da gordura corporal e do sobrepeso.

6.2 DESEMPENHO FÍSICO

O tipo de atividade física que utilizamos neste experimento corresponde a uma atividade física moderada. Este é justamente o tipo de atividade indicado para pessoas em envelhecimento. O excesso de peso corporal ou mesmo a velhice faz com que a prescrição de exercícios físicos sejam direcionadas para atividades leves

a moderadas, no sentido de minimizar certos riscos à saúde em consequência das debilidades ósteo-musculares comuns em tais pessoas (COLÉGIO AMERICANO DE MEDICINA DO ESPORTE, 2003).

Os dados obtidos neste estudo, demonstraram melhora significativa ($P < 0,05$) no desempenho físico dos animais do grupo T em relação aos do grupo S. O declínio no desempenho dos animais do grupo S, de acordo com Mcardle (1998), associa-se ao envelhecimento, onde há um natural declínio na performance física.

6.3 ESTUDO ESTERIOLOGICO

6.3.1 Densidade Numérica (N_v)

A densidade numérica de condrócitos nos animais do grupo C foi maior do que nos grupos S e T (13,06% e 31,7%). Porém, o grupo S, se manteve maior que o grupo T (21,2%). Talvez esse dado possa ser explicado pela menor diminuição de volume neste grupo (S), ao passo que o grupo T manteve seu volume como será visto mais adiante.

Os dados encontrados demonstram que o envelhecimento promoveu diminuição da densidade numérica de condrócitos. Os trabalhos realizados sobre o tema mostram que a densidade celular de condrócitos na cartilagem diminui durante o envelhecimento. Na cartilagem costal, ocorre diminuição significativa de 25% no decorrer da idade (STOCKWELL, 1967). Este relato está de acordo com trabalho de Quintero et al. (1984), em côndilos femorais de humanos, e de Tood Allen et al. (2004), realizado na cartilagem articular dos côndilos femorais e platô tibial de

coelhos maduros e em envelhecimento, onde afirmam que há uma diminuição de 50-70% na densidade celular durante o envelhecimento.

Foi sugerido que a diminuição da densidade de condrócitos da cartilagem com o envelhecimento pode ser causada por uma necrose fisiológica pela “exaustão” dos condrócitos (QUINTERO et al., 1984).

Nos animais que realizaram atividade física também houve a diminuição da densidade numérica de condrócitos. Uma hipótese é que o exercício realizado realmente não teve influencia no envelhecimento da cartilagem. Outra é que como o volume da cartilagem não se alterou (como será visto mais adiante), levando a uma aparente impressão que houve diminuição da densidade numérica em relação ao grupo S, onde a cartilagem diminuiu de volume. Uma terceira hipótese é que tenha ocorrido perda de células nos animais treinados, mas apesar disso, as restantes cumpriram o papel das que estavam ali anteriormente, no caso dos animais treinados (como será visto mais a diante em volume celular médio de condrócitos), gerando o equilíbrio entre a perda celular pela idade e atividade dos condrócitos já existentes.

6.3.2 Volume Total da Cartilagem (V_{ref})

Neste estudo, foram observados variações de volume total da cartilagem entre os grupos, havendo diminuição de 5,3% de sedentários em relação aos controles. Porém, entre o grupo T e o grupo C, ao contrário do grupo S, houve um aumento 1%, o que pode ser considerado como manutenção de volume total.

Em estudo realizado por Pfirrmann et al. (2006), em humanos, a idade contribuiu para a diminuição de volume da cartilagem articular no caso de discos intervertebrais.

Segundo Goebel et al. (2006), idade esta relacionada com mudanças no conteúdo de água da cartilagem patelar, o que poderia alterar seu volume. O mesmo processo poderia estar acontecendo na cartilagem da cabeça do fêmur, de acordo com dados encontrados neste estudo, onde se demonstrou uma redução de volume total da cartilagem presente na cabeça femoral, com a idade. Por outro lado, podemos notar que a atividade física durante o envelhecimento, parece ter sido benéfica aos ratos do grupo T, pois manteve praticamente o mesmo volume dos ratos adultos jovens.

6.3.3 Número Total de Condrócitos(N)

Trabalho realizado em outra cartilagem durante o envelhecimento (cartilagem costal de humanos) mostrou que o número total de células mostrou uma firme e constante diminuição durante o período de envelhecimento (STOCKWELL, 1967). Em investigação realizada sobre o número total de condrócitos na cartilagem articular da cabeça do fêmur de ratos jovens, maduros, e velhos (JALLALI et al., 2005), na qual o número de condrócitos foi estimado por método estereológico, houve uma significativa e progressiva diminuição deste número com a idade. Segundo os autores, pode ser resultado do aumento da vulnerabilidade dos elevados níveis de partículas reativas ao oxigênio, em consequência de um declínio dos mecanismos de defesa antioxidante.

Neste estudo não se observou tão claramente o decréscimo do número celular em relação ao envelhecimento (1% do grupo S em relação ao grupo C, e 17% do grupo T para o grupo C), o que sugere que a idade não é um fator determinante para este parâmetro. Por outro lado, em relação ao treinamento, a diferença celular foi grande (18% menos) em animais do grupo T em relação ao grupo S. Isto poderia estar sendo causado por perda de células devido ao estresse da corrida, mas com alterações no volume celular das células restantes, sem prejuízo para o metabolismo da cartilagem.

6.3.4 Densidade de Volume dos Condrócitos ($V_{V\text{ (cond)}}$) e Densidade de Volume da Matriz Extracelular ($V_{V\text{ (mat)}}$).

A densidade de volume dos condrócitos apresentou-se significativamente diferente em relação a idade. Pode-se observar um aumento de 23,6% do grupo S para o grupo C, e de 17,5% do grupo T em relação ao mesmo grupo (C).

Era esperado que houvesse um aumento da densidade de volume de condrócitos com a idade por causa da diminuição do volume referência verificado entre os animais do grupo S e C.

Em treinados, a densidade de volume de condrócitos foi 7,3% menor que em sedentários. A provável explicação para este fato é que o volume de matriz é maior em treinados (9,8%), implicando que a densidade de volume ocupada pelos condrócitos seja menor para este grupo.

Com densidade de volume de matriz, ocorre proporcionalmente o inverso, uma vez que a cartilagem é formada apenas por células e matriz (BURSTEIN et al., 2000). Foi constatado neste estudo uma diminuição de 5,68% e 3,9% dos grupos S e T respectivamente em relação ao grupo C. E 1,8% menor em sedentários em relação ao grupo treinado. Também observado no volume de matriz extracelular (9,8% e 2%). O que está de acordo com os dados de aumento da densidade de volume de condrócitos, salientados anteriormente, por serem inversamente proporcionais.

6.3.5 Volume Médio dos Condrócitos ($\bar{v}_N$)

Segundo Paulsen (1999), há uma significância estatística relacionada a idade e a hipertrofia de condrocitos presentes na cartilagem articular de côndilos femorais de humanos de 18-31 anos. Neste trabalho, foram encontrados aumentos de 18,7% e 31,6% (do grupo S e T em relação ao C), na cartilagem da cabeça femoral de ratos.

A hipertrofia celular pode ser explicada, por um aumento da atividade celular de condrocitos, causado pela diminuição do número total dos mesmos com a idade, como um fator compensatório para a morte celular (CABELLO et al., 2002).

Em relação ao treinamento, houve um aumento de 15,9% no volume médio comparado ao grupo sedentário, sugerindo uma adaptação compensatória da atividade física a perda de condrocitos. Outra hipótese seria o aumento da atividade dos condrocitos no grupo T, em relação ao grupo S, por que a cartilagem está sofrendo continuamente estresses da corrida e desta maneira precisa estar em constante remodelação, o que é atributo dos condrocitos, causando assim hipertrofia dos mesmos.

Não obstante, tal redução no número de condrocitos não foi encontrada no grupo S, sugerindo que o aumento do volume médio verificado em relação ao grupo controle pode ter sido devido a idade.

6.3.6 Volume Total de Matriz Extracelular ($V_{(mat)}$)

É esperado que o volume de matriz extracelular fosse diminuindo com a idade

(PACIFICI; KOYAMA; IWAMOTO, 2005), o que de fato ocorreu (9,8% e 2% nos grupos S e T, respectivamente, em relação ao C).

Segundo Gyarmati et al. (1987), e Laver-Rudich e Sibermann (1985), a integridade dos proteoglicanos e da rede colágena é modificada pelo envelhecimento, assim como o conteúdo de água que se torna reduzido. Estas alterações modificam a arquitetura e resistência mecânica da cartilagem articular senil (EGRI; BATTISTELLA; YOSHINARI, 1999b).

Estudos de condrócitos “in vitro” mostram que há diminuição na capacidade de depósito de proteoglicanos, a medida que aumenta a idade do animal doador (BRAND et al., 1991). Smale et al. (1995), em estudo da cartilagem articular de joelhos de ratos Wistar de 6-24 meses, evidenciou um aumento do grau de alteração degenerativa no grupo senil em quando comparado ao grupo jovem, mais frequentemente a perda de proteoglicanos da zona superficial, acompanhada da diminuição do número condrócitos.

A resposta da cartilagem articular é complexa e envolve muitos fatores incluindo a deformação de tecidos e células, mudança na pressão hidrostática, e no fluxo de líquidos (WEIGHTMAN; KEMPSON, 1979).

Este trabalho mostrou que o volume de matriz extracelular manteve-se praticamente igual do grupo T em relação ao grupo C (aumento de 2% em relação ao grupo controle), com diminuição de 8,9 no grupo sedentário em relação ao grupo treinado. Este dado evidencia um benefício importante da atividade física para a saúde da cartilagem durante o envelhecimento, mantendo as características da matriz extracelular.

6.4 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

A obesidade e o excesso de peso contribuem para o aparecimento de doenças crônicas como diabetes tipo II, doenças cardiovasculares, hipertensão, acidente vascular encefálico e alguns tipos de câncer (OMS, 2003; GIGANTE et al., 1997; SABIA et al., 2004), e ainda, é um grande fator de risco para o desenvolvimento de lesões articulares (HALL et al., 1991).

Os dados encontrados neste trabalho em relação ao envelhecimento da cartilagem, estão de acordo com dados descritos por De Santis et al. (1993). Os autores documentaram vários graus de lesão, em diferentes estágios de artrite. As superfícies articulares mostraram desde o desaparecimento de ondulações fisiológicas até a presença de lascas da camada superficial, um fenômeno que se inicia com o aparecimento de numerosas rachaduras que se propagam cada vez mais profundamente para o interior do tecido cartilágneo. Isto pode ser indicador de que as ondulações teciduais encontradas no grupo C e T, possam proteger de alguma forma o tecido de lesões.

CONCLUSÃO

7 CONCLUSÃO

Após a análise dos resultados e de acordo com os métodos empregados, pode-se concluir que:

- ❖ Um programa de intensa atividade física, com intensidade submáxima de 60%, e longa duração (seis meses), é benéfico para ratos de laboratório no que tange a perda de peso corporal e desempenho físico.
- ❖ A densidade celular diminui significativamente com e o treinamento.
- ❖ Há uma tendência a perda de volume de cartilagem articular com a idade, porém há manutenção do mesmo a partir da prática de atividade física.
- ❖ A diminuição do número total de condrócitos ocorreu como efeito do treinamento, mas não da idade.
- ❖ Há uma tendência ao aumento na densidade de volume de condrócitos com a idade, também observado com o treinamento, porém em menor quantidade.
- ❖ A densidade de volume de matriz é inversamente proporcional a de condrócitos, já que a cartilagem é formada apenas por estes dois componentes. Foi encontrada em maior quantidade em animais adultos. A atividade física é benéfica para a manutenção da densidade de volume de matriz.
- ❖ A maturação e o exercício físico provocam hipertrofia dos condrócitos.

Conclusão

- ❖ Com o envelhecimento, o volume de matriz diminui, mantendo-se praticamente igual com o treinamento.

- ❖ Ocorrem lesões na cartilagem articular da cabeça do fêmur de ratos sedentários, em envelhecimento, assim como um estiramento do tecido superficial. Em treinados em envelhecimento, há manutenção de ondulações, que possivelmente protegem a cartilagem de lesões.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

ADAMS, M. E. Cartilage hypertrophy following canine anterior cruciate ligament transection differs among different areas of the joint. **The Journal of Rheumatology**, v.16 p. 818-824,1989.

ALBERTS, B.; BRAY, D.; LEWIS, J.; JOHNSON, A.; LEWIS L.; RALF M.; ROBERTS K.; WALTER P. **Tecidos, Fundamentos da Biologia Celular**. 2. ed. Porto Alegre Artmed Editora, 1999, Cap.19, p. 610-616.

AROKOSKI, J.; KIVIRANTA, I.; JURVELIN, J.; TAMMI, M.E.; HELMINEN, H. J. Long-distance running causes site-dependent decrease of cartilage glycosaminoglycan content in the knee joints of *beagles* dogs. **Arthritis and rheumatism**, v.36, n.10, p. 1451-1459. 1993

ATRA, E. **Artrose, reumatologia prática**. Rio de Janeiro: Eleá Ciência Editorial: 1995, p. 58-63.

BANK, R. A.; BAYLISS, M.I.; LAFEVER, F. P. J. G.; MAROUDAS, A.; TEKOPPELE, J. M. Ageing and zonal variation in post-translational modification of collagen in normal human articular cartilage: the age-related increase in non-enzymatic glycation affects biomechanical properties of cartilage. **The Biochemical journal**, v.15, p. 345-351, 1998.

BAYER GF.; PAULA SG. Mortalidade nas Capitais Brasileiras, 1930-1980. **Radis/FIOCRUZ. Dados**, n.7, p.1-8, 1984.

BADDELEY, A.J.; GUNDERSEN, H.J.; CRUZ-ORIVE, L.M. Estimation of surface area from vertical sections. **Journal of Microscopy**, v.42, p.259-276, 1986, Pt. 3.

BEAUPRÉ GS.; STEVENS 85.; CARTER DR. Mechanobiology in the development, maintenance, and degeneration of articular cartilage. **Journal of rehabilitation research and development**, v.37 n.2 p. 145-151, 2000.

BIHARI-VARGA M.; FRAKAS T.; BIRÓ T. Changes in the cartilage proteoglycans in relation to age and osteoarthritis. **Acta biologica Hungarica**, v.35 n.2-4 p.325-31, 1984.

BRACCO, M.M., FERREIRA, M.B.R.; MORCILLO, A.M.; COLUGNATI, F.J.J. Gasto energético entre crianças de escola pública obesas e não-obesas. **Revista Brasileira de Ciência e Movimento**, v.10, n.3, p.29-35, 2002.

BRAENDGAARD, H.; EVANS, S.M.; HOWARD, C.V.; GUNDERSEN, H.J.G. The total number of neurons in the human neocortex unbiasedly estimated using optical disectors. **Journal of Microscopy**, v.157, p.285-304, 1990, Pt.3.

Referências

-
- BRAND, H.S.; KONING, M.H.M.; VAN KAPEN, G.P.J.; VAN DER KROST, J.K. Age-related changes in the turn over of proteoglycans from explants of bovine articular cartilage. **The Journal of Rheumatology**, v.18, p.599-605, 1991.
- BRANDAN, E. Proteoglycans in skeletal muscle. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.27, p. 109-16, 1994.
- BUCKWALTER, J.A. Osteoarthritis and articular cartilage use, disuse, and abuse: experimental studies. **The Journal of Rheumatology**, v.22, s.43, p.13-15, 1995.
- BURSTEIN, D.; BASHIR, A.E.; GRAY, M.L. MRI techniques in early stages 01 cartilage disease. **Investigative Radiology**, v.35 n.10 p.622-638, 2000.
- CABELLO, C.R.; THUNE, J.J.; PAKKENBERG, H.; PAKKENBERG, B. Ageing of substantia nigra in humans: cell loss may be compensated by hypertrophy. **Neuropathology and Applied Neurobiology**, v.28, n..4, p. 283-291, 2002.
- CARNEY, S.L.; MUIR, H. The structure and functions of cartilage proteoglycans. **Physiological reviews**, v.68, n.3, p.858-910, 1988.
- CAMPOS, M.A. **Musculação: diabéticos, osteoporóticos, idosos, crianças, obesos**. Rio de Janeiro: Sprint; 2001.
- CARVALHO, T.; SILVA, J.G.S.; GUEDES, D.P. **Atividade física e saúde: Orientações Básicas sobre atividade física e saúde para profissionais das áreas de educação e saúde**. 1º. ed. Brasília, DF: Secretaria de Desportos/Ministério da Educação, 1995.
- COLÉGIO AMERICANO DE MEDICINA DO ESPORTE. **Diretrizes do ACSM para os testes e esforço e sua prescrição**. Rio de janeiro: Guanabara Koogan, 2003.
- CHAMBERS, M.G.; COX, L.; CHONG, L.; SURI, N.; COVER, P.; BAYLISS, M.T.; MASON, R.M. Matrix metalloproteinases and aggrecanases cleave aggrecan in different zones of normal cartilage but colocalize in the development of osteoarthritic lesions in STR/ort mice. **Arthritis and Rheumatism**, v.44, n.6, p. 1455-1465, 2001.
- CULAV, E.M.; CLARK, C.H.; MERRILEES, M.J. Connective Tissues: Matrix composition and its relevance to physical therapy. **Physical Therapy**, v.79, n.3, p. 308-319, 1999.
- DE SANTIS, E.; ESPA, E.; MANUNTA, A.; LISAI, P.; ROSA, M.A. Scanning electron microscopy study of articular cartilage in the evolution of hip arthritis. **Italian Journal of Orthopaedics and Traumatology**, v.19, n.1, p.87-93, 1993.
- DEGROOT J.; VERZIJJ N.; BANK RA.; LAFEBER FPJG.; BIJLMSA JWJ.; TEKOPPELE JM. Age-related decrease in proteoglycan synthesis of human articular chondrocytes. **Arthritis and rheumatism**, v.42, n.5, p. 1003-1009, 1999.
- DOWZER, O.N.; REILLY, T.E.; CABLE, N.T. Effects of deep and shallow water

running on spinal shrinkage. **British Journal Of Sports Medicine**, v.32, n.1, p.44-48, 1998.

EGRI, D.; BATTISTELLA, L.R.; YOSHINARI, N.H. A influência da prática de exercícios físicos sobre a cartilagem articular. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v.39, n.1, p.41-44, 1999a.

EGRI, D.; BATTISTELLA, L.R.; YOSHINARI, N.H. Envelhecimento da cartilagem articular. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v.39, n.1, p.45-48, 1999b.

ESPANHA, M.M.; LAMMI, P.E.; HYTTINEN, M.M.; LAMMI, M.J.; HELMINEN, H.J. Extracellular matrix composition of full-thickness defect repair tissue is little influenced by exercise in rat articular cartilage. **Connective Tissue Research**, v.42, n.2, p.97-109, 2001.

FERNANDEZ, A.C.; MELLO, M.T.; TUFIK, S.; CASTRO, P.M.; FISBERG, M. Influência do treinamento aeróbio e anaeróbio na massa de gordura corporal de adolescentes obesos. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v.10, n.3, p.152-158, 2004.

FERREIRA, M.; MATSUDO, S.; MATSUDO, V.; BRAGGION, G. Efeitos de um programa de orientação de atividade física e nutricional sobre a ingesta alimentar e composição corporal de mulheres fisicamente ativas de 50 a 72 anos de idade. **Revista Brasileira de Ciência e Movimento**, v.11, n.1, p.35-40, 2003.

GAGLIARDO, K.M.; DE CARVALHO BALIEIRO, J.C.; DE SOUZA, R.R.; RIBEIRO, A.A.C.M. Post natal-related changes in the size and total number of neurons in the caudal mesenteric ganglion of dogs: total number of neurons can be predicted from body weight and ganglion volume. **The Anatomical Record. Part A, Discoveries in Molecular, Cellular, and Evolutionary Biology**, v.286, n.2, p.917-929, 2005.

GENTIL, P. **Musculação e emagrecimento**. 2003. Disponível em: <http://www.gease.pro.br/pesquisar.php> . acesso em 10/ setembro/ 2005).

GIGANTE, D.P.; BARROS, F.C.; POST, C.L.A.; OLINTO, M.T.A. Prevalência de obesidade em adultos e seus fatores de risco. **Revista de Saúde Pública**, v.31, n.3, p.236-246, 1997.

GOBBI, S. Atividade Física para pessoas idosas e recomendações da Organização Mundial de Saúde de 1996. **Revista Brasileira de Atividade Física e Saúde**, v.2, n.2, p. 41-49, 1997.

GOEBEL, J.C.; WATRIN-PINZANO, A.; BETTEMBOURG-BRAULT, I.; ODILLE, F.; FELBLINGER, J.; CHARY-VALCKENAERE, I.; NETTER, P.; BLUM, A.; GILLET, P.; LOEUILLE, D. Age-related quantitative MRI changes in healthy cartilage: preliminary results. **Biorheology**, v.43, n.3-4, p. 547-551, 2006.

GOMES, L. Proteoglicanos. In: _____ CARVALHO, H.F.; RECCO-PIMENTEL, S.M. **A Célula** 2001, São Paulo:Manole; 2001. p. 221-227.

Referências

-
- GRECA, C.L.S. Estudo Citoquímico Ultraestrutural associado a tratamento enzimático da Matriz Extracelular Fundamental do Endométrio das Camundongas — **Tese apresentada ao Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade da São Paulo, para obtenção do título de Doutor em Ciências**, São Paulo, 1996.
- GRODZINSKY, A.J. Eletromechanical and physiochemical properties of connective tissue. **CRC Critical Reviews in Biomedical Engineering**, v.9, n.2, p. 133-99, 1983.
- GUNDERSEN, H.J.G. Notes on the estimation of the numerical density of arbitrary profiles: the edge effect. **Journal of Microscopy**, v.111, p. 219-223, 1977.
- GUNDERSEN, H.J. Stereology of arbitrary particles. A review of unbiased number and size estimators and the presentation of some new ones, in memory of William R. Thompson. **Journal of Microscopy**, v.143, p. 3-45, 1986, Pt 1.
- GUNDERSEN, H.J.G.; JENSEN, E.B. The efficiency of systematic sampling in stereology and its prediction. **Journal of Microscopy**, v.147, p. 229-263, 1987, Pt 3.
- GUNDERSEN, H.J.G.; BENDTSEN, T.F.; KORBO, L.; MARCUSSEN, N.; MOLLER, A.; NIELSEN, K.; NYENGAAD, J.R.; PAKKENBERG, B.; SORENSEN, F.B.; VESTERBY, A.; WEST, M.J. Some new, simple and efficient stereological methods and their use in pathological research and diagnosis. **Apmis : Acta Pathologica, Microbiologica, Et Immunologica Scandinavica**, v.96, n. 5, p. 379-94, 1988.
- GUNDERSEN, H.J.; JENSEN, E.B.; KIEU, K.; NIELSEN, J. The efficiency of systematic sampling in stereology--reconsidered. **Journal of Microscopy**, v.193, p. 199-211, 1999, Pt 3.
- GYARMATI, J.; FOLDES, I.; KERN, M.; KISS, I. Morphological studies on the articular cartilage of old rats. **Acta morphologica Hungarica**, v.35, n.3-4, p. 111-124, 1987.
- HÄÄPALA, J.; AROKOSKI, J.P.A.; HYTTINEN, M.K.; LAMMI, M.; TAMMI, M.; KOVANEN, V.; HELMINEN, H.J.; KIVIRANTA, I. Remobilization does not fully restore immobilization induced articular cartilage atrophy. **Clinical orthopaedics and related research**, n.362, p.218-229, 1999.
- HALL, A.C.; URBAN, J.P.G.; GEHL, K.A. The effects of hydrostatic pressure on matrix synthesis in articular cartilage. **Journal of orthopaedic research**, v. 9, n.1, p.1-10, 1991.
- HANDA, T.; ISHIHARA, H.; OSHIMA, H.; OSADA, R.; TSUJI, H.; OBATA, K. Effects of hydrostatic pressure on matrix synthesis and matrix metalloproteinase production in the human lumbar intervertebral disc. **Spine**, v.22, n.10, p.1085-1091, 1997.
- HARDINGHAM, T.E.; FOSANG, A.J.; DUDHIA, J. Agrecan, the Chondroitin Sulfate/Keratan Sulfate Proteoglycan from Cartilage, In: _____ KUETTNER, K.E.; SCHLEYERBACH, R.; PEYRON, J.G.; HASCALL, V.C. **Art Oart Osteoarthritis**, New York: Raven Press; 1992. p.5-7.

HASCALL, V.C.; HASCALL, G.K. Proteoglycans. In: _____ HAY, E.D. **Cell biology of extracellular matrix**. New York: Plenum Press; 1981. p. 39-60.

HASCALL, V.C.; KIMURA, J.H. Proteoglycans: isolation and characterization. **Methods in Enzymology**, v.82, p.769-800, 1982, Pt A.

HEISE, N.; TOLEDO, O.M.S. Age-related in glycosaminoglycan distribution in different anatomical sites on the surface of knee-joint articular cartilage in young rabbits. **Annals of Anatomy**, v.175, n.1, p.35-40, 1993.

HOWARD, C.V.; REED, M.G. **Three-dimensional measurement in microscopy**. In: _____ Unbiased Stereology. Oxford: Bios Scientific Publishers, 2005. 246p.

HUBER, M.; TRATTNIG, S.; LINTNER, F. Anatomy, biochemistry and physiology of articular cartilage. **Investigative Radiology**, v.35, n.10, p.573-580, 2000.

HULDELMAIER, M.; GLASER, C.; ENGLMEIER, K-H.; REISER, M.; PUTZ, R.; ECKSTEIN, F. Age-related changes in the morphology on deformational behavior of knee joint cartilage. **Arthritis and Rheumatism**, v. 44, n.11, p.2556-2561, 2001.

IBGE (Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). **Censo demográfico: Brasil, 2000**. Rio de Janeiro: IBGE, 2000.

JALLALI, N.; RIDHA, H.; THRASIVOULOU, C.; UNDERWOOD, C.; BUTLER, P.E.; COWEN, T. Vulnerability to ROS-induced cell death in ageing articular cartilage: the role of antioxidant enzyme activity. **Osteoarthritis Cartilage**, v.13, n.7, p. 614-622, 2005.

JONES, O.; 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**, v.43, n.11, p. 2543-2549, 2000.

JORTIKKA, M.; LNKINEN, R.; TAMMI, M. Immobilisation causes long lasting matrix changes both in the immobilised and contralateral joint cartilage. **Annals of the Rheumatic Diseases**, v.56, n.4, p. 255-61, 1997.

KÄÄB, M.J.; GWYN, I.A.; NÖTZLI, H.P. Collagen fibre arrangement in the tibial plateau articular cartilage of man and other mammalian species. **Journal of Anatomy**, v.193, p. 23-34, 1998.

KARVONEN, R.L.; NEGENDANK, W.G.; TEITGE, R.A.; REED, A.H.; MILLER, P.R.; FERNANDEZ-MADRID, F. Factors affecting articular cartilage thickness in osteoarthritis and aging. **The Journal of Rheumatology**, v.21, n.7, p. 1310-1318, 1994

KIM, Y-J.; SAH, R.L.; GRODZINSKY, A.J.; PLAAS, A.H.K.; SANDY, J.D. Mechanical regulation of cartilage biosynthetic behavior: Physical stimuli. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.311, n.1, p. 1-12, 1994.

Referências

KIVIRANTA, I.; JURVELIN, J.; TAMMI, M.; SÄÄMÄNEN, A-M.; HELMINEN, J.H. Weight bearing controls glycosaminoglycan concentration and articular cartilage thickness in the knee joints of young beagle dogs. **Arthritis and Rheumatism**, v.7, n.30, p. 801-809, 1987.

KIVIRANTA, I.; TAMMI, M.; JURVELIN, J.; SÄÄMÄNEN, A-M.; HEIMINEN, J.H. Moderate running exercise augments glycosaminoglycans and thickness of articular cartilage in the joint of young beagle dogs. **Journal of Orthopaedic Research**, v.6, n.2, p. 188-195, 1988.

KIVIRANTA, I.; TAMMI, M.; JURVELIN, J.; ARAKOSKI, J.; SÄÄMÄNEN, A-M.; HELMINEN, J.H. Articular cartilage thickness and glycosaminoglycan distribution in the canine knee joint after strenuous running exercise. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, n.283, p.302-308, 1992

KJELLÉN, L.; LINDAHL, U. Proteoglycans: structures and interactions. **Annual Review of Biochemistry**, v60, p. 443-475, 1991.

LAMMI, M.; HÄKKINEN, P.T.; PARKKINEN, J.J.; HYTTINEN, M.M.; JORTIKKA, M.; HELMINEN, J.H.; TAMMI, I.M. Adaptation of canine femoral head articular cartilage to long distance running exercise in young beagles. **Annals of the Rheumatic Diseases**, v.52, n.5, p. 369-377, 1993.

LANE, N.E.; BUCKWALTER, J.A. Exercise: a cause of osteoarthritis? **Rheumatic Diseases Clinics of North America**, v. 9, n.3, p. 617-633, 1993.

LAVER-RUDICH, Z.; SILBERMANN, M. Cartilage surface charge. A possible determinant in aging and osteoarthritic processes. **Arthritis and Rheumatism**, v.28, n.6, p. 660-70, 1985.

LEES, A. Correr. In:_____DURWARD, B.R.; BAER, G.D.; ROWE, P.J. **Movimento funcional humano**. São Paulo: Manole, 2001, p. 122-133.

LEVANON, D.; STEIN, H. The articular cartilage of the rabbit knee: A scanning electron microscopy study. **Cells and Materials**, v.1, p.219-229, 1991.

LOESER, R.F. Aging and the etiopathogenesis and treatment of osteoarthritis. **Rheumatic Diseases Clinics of North America**, v.26, n.3, p.547-567, 2000.

MADSEN, K.; MOSKALEWSKI, S.; VON DER MARK, K.; FRIBERG, U. Synthesis of proteoglycans, collagen, and elastin by cultures of rabbit auricular chondrocytes--relation to age of the donor. **Developmental Biology**, v.96, n.1, p.63-73, 1983.

MALEMUD, C.J. Changes in proteoglycans in osteoarthritis: Biochemistry, ultrastructure and biosynthetic. **The Journal of Rheumatology. Supplement**; v.27, p.60-62, 1991.

MARINHO, A.; GUGLIELMO, L.G.A. Atividade física na academia: objetivos dos alunos e suas implicações. In:_____ **Congresso Brasileiro de Ciências do**

Esporte, 2, 1997. Anais, 1997. p. 1214.

MAROUDAS, A. Balance between swelling pressure and collagen tension in normal and degenerate cartilage. **Nature**, v.260, n.5554, p. 808-809, 1976.

MATYAS, J.R.; HUANG, D.; CHUNG, M.; ADAMS, M.E. Regional quantification of cartilage type II collagen and aggrecan messenger RNA in joints with early experimental osteoarthritis. **Arthritis and Rheumatism**, v.46, n.6, p. 1536-1543, 2002.

MAYHEW, T.M.; GUNDERSEN, H.J.G. "If you assume, you can make an ass out of u and me": a decade of the disector for stereological counting of particles in 3D space. **Journal of Anatomy**, v.188, p. 1-15, 1996.

MAYHEW, T.M.; OLSEN, D.R. Magnetic resonance imaging (MRI) and model-free estimates of brain volume determined using the Cavalieri principle. **Journal of Anatomy**, v.178, p. 133-144, 1991.

MCARDLE, W.D. Atividade física, saúde e envelhecimento. In: _____ **Fisiologia do exercício**. 4º. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998, p. 604-635.

MCDEVITT, C.A.; MUIR, H. Biochemical changes in the cartilage of the knee in experimental and natural osteoarthritis in the dog. **The Journal of Bone and Joint Surgery**, v.58, n.1, p.94-101, 1976.

MEACHIM, G.; COLLINS, D.H. Cell counts of normal and osteoarthritic articular cartilage in relation to the uptake of sulphate ($^{35}\text{SO}_4$) in vitro. **Annals of the Rheumatic Diseases**, v.21, p.45-50, 1962.

MICHELLACCI, Y.M. Glicosaminoglicanos, proteoglicanos e mucopolissacarídeos bacterianos – **Tese (Livro Docência) Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina, Departamento de Bioquímica da Disciplina de Biologia Celular**, 1996.

MINITAB. **Academic Version**. www.minitab.com.br, acesso 05/novembro/ 2006.

MONTEIRO, R.C.A.; RIETHER, P.T.A.; BURINI, R.C. Efeito de um programa misto de intervenção nutricional e exercício físico sobre a composição corporal e os hábitos alimentares de mulheres obesas em climatério. **Revista de Nutrição**, v.17, n.4, p.479-489, 2004.

MOW, V.C.; RACTLIFFE, A.E.; POOLE, A.R. Cartilage and diarthrodial joint as paradigms for hierarchical materials and structures. **Biomaterials**, v.13, n.2, p.67-97, 1992.

MUIR, H. Proteoglycans as organizers of the intercellular matrix. **Biochemical Society Transactions**, v.11, n.6, p.613-622, 1983.

NEWTON, P.M.; MOW, V.O.; GARDNER, T.R.; BUCWALTER, L.A.; ALBRIGHT, J.P.

The effect of lifelong exercise on canine articular cartilage. **The American Journal of Sports Medicine**, v.25, n.3, p.282-287, 1997.

NISHIMURA, T.; HATTORI, A.; TAKAHASHI, K. Arrangement and identification of proteoglycans in basement membrane and intramuscular connective tissue of bovine semitendinosus muscle. **Acta anatomica**, v.155, n.4, p.257-265, 1996.

NYENGAARD, J.R. Stereologic methods and their application in kidney research. **Journal of the American Society of Nephrology : JASN**, v. 10, n.5, p. 1100-1123, 2005.

O'CONNOR, P.; ORFORD, C.E.; GARDNER, D.L. Differential response to compressive loads of zones of canine hyaline articular cartilage: micromechanical, light and electron microscopic studies. **Annals of the Rheumatic Diseases**, v.47, n. 5, p. 414-420, 1988.

OLIVEIRA, C.L.; FISBERG, M. Obesidade na infância e adolescência uma verdadeira epidemia. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, v.47, n.2, p. 107-108, 2003.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS)/ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE(OPAS): **Resolução CE122.R9**, 1998. Saúde das pessoas idosas.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (OMS). **Doenças crônico-degenerativas e obesidade: estratégia mundial sobre alimentação saudável, atividade física e saúde**. 2003. Disponível em: http://www.opas.org.br/sistema/arquivos/d_cronic.pdf (acesso em 18/agosto/ 2005).

OTTERNESS, I.G.; ESKRA, J.D.; BLIVEN, M.L.; SHAY, A.K.; PELLETIER, J-P.; MILICI, A.J. Exercise protects against articular cartilage degeneration in the hamster. **Arthritis and Rheumatism**, v.41, n.11, p. 2068-2076, 1998.

PACIFICI, M.; KOYAMA, E.; IWAMOTO, M. Mechanisms of synovial joint and articular cartilage formation: recent advances, but many lingering mysteries. **Birth defects research. Part C, Embryo today : reviews**, v.75, n.3, p. 237-248, 2005.

PAKKENBERG, B.; GUNDERSEN, H.J.G. New stereological method for obtaining unbiased and efficient estimates of total nerve cell number in human brain areas. **Apmis : Acta Pathologica, Microbiologica, Et Immunologica Scandinavica**, v.97, n.8, p. 677-681, 1989.

PALMOSKI, M.J.; COLYER, R.A.; BRANDT, K.D. Joint motion in the absence of normal loading does not maintain normal cartilage. **Arthritis and Rheumatism**, v.23, n.3, p. 325-334, 1980.

PALMOSKI, M.J.; BRANDT, K.D. Running inhibits the reversal of atrophic changes in canine knee cartilage after removal of a leg cast. **Arthritis and Rheumatism**, v.24, n.11, p. 1329-37, 1981.

Referências

-
- PAP, G.; EBERHARDT, R.; STÜRMER, I.; MACHNER, A.; SCHWARTZBERG, H.; ROESSNER, A.; NEUMANN, W. Development of osteoarthritis in the knee joints of Wistar rats after strenuous running exercise in a running wheel by intracranial self-stimulation. **Pathology, Research and Practice**, v.194, n.1, p. 41-47, 1998.
- PFIRRMANN, C.W.; METZDORF, A.; ELFERING, A.; HODLER, J.; BOOS, N. Effect of aging and degeneration on disc volume and shape: A quantitative study in asymptomatic volunteers. **Journal of Orthopaedic Research**, v.24, n.5, p. 1086-1094, 2006.
- PLAAS, A.H.K.; WONG-PALMS, S.; ROUGHLEY, P.J. Chemical and immunological assay of the nonreducing terminal residues of chondroitin sulfate from human aggrecan. **The Journal of biological chemistry**, v.272, n.33, p. 20603-20610, 1997.
- POOLE, A.C.; FLINT, M.H.; BEAUMONT, B.W. Morphological and functional interrelationships of articular cartilage matrices. **Journal of Anatomy**, v.138, p. 113-38, 1984, Pt1
- POOLE, R.; KOJIMA, T.; YASUDA, T.; MWALE, F.; KOBAYASHI, M.; LAVERTY, S. Composition and structure of articular cartilage – a template for tissue repair. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, v.391, s. 26-33, 2001.
- PORTARIA 1395/GM – “**Política de saúde do idoso**”. 1999.
- QUINTERO, M.; MITROVIC, D.R.; STANKOVIC, A.; DE SEZE, S.; MIRAVET, L.; RYCKEWAERT, A. Cellular aspects of the aging of articular cartilage. I. Condylar cartilage with a normal surface sampled from normal knees. **Revue Du Rhumatisme et des Maladies Ostéo-Articulaires**, v.51, n.7-8, p. 375-379, 1984.
- RASCH, P.J. Cinesiologia e anatomia aplicada. In: _____ RASCH, P.J. **Cinesiologia**. 7ª. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991, p. 12-21.
- RIBEIRO, A.A.C.M.; DAVIS, C.; GABELLA, G. Estimate of size and total number of neurons in superior cervical ganglion of rat, capybara and horse. **Anatomy and Embryology**, v.208, n.5, p. 367-380, 2004.
- ROUGHLEY, P.J.; WHITE, R.J. Age-related in the structure of the proteoglycan subunits from human articular cartilage. **The Journal of Biological Chemistry**, v.255, n.1, p. 217-224, 1980.
- ROUGHLEY, P.J. Age-associated changes in cartilage matrix – implications for tissue repair. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, v.391, s. 153-160, 2001.
- RUOSLAHTI, E.; YAMAGUCHI, Y.C. Proteoglycans as modulators of growth factor activities. **Cell**, v.64, n.5, p. 867-869, 1991.
- SÄÄMÄNEN, A.; TAMMI, M.; KIVIRANTA, I.; JURVELIN, J.; HELMINEN, H.J. Running exercises as a modulator of proteoglycan matrix in the articular cartilage of

Referências

young rabbits. **International Journal of Sports Medicine**, v.9, n.2, p. 127-132, 1988.

SÄÄMÄNEN, A.; KIVIRANTA, I.; JURVELIN, J.; HELMINEN, H.J.; TAMMI, M. Proteoglycan and collagen alterations in canine knee articular cartilage following 20 km daily running exercise for 15 weeks. **Connective Tissue Research**, v.30, n.3, p. 191-201, 1994.

SABIA, R.V.; SANTOS, J.E.; RIBEIRO, R.P.P. Efeito da atividade física associada à orientação alimentar em adolescentes obesos: comparação entre o exercício aeróbio e anaeróbio. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v.10, n.5, p.349-355, 2004.

SAH, R.L.; DOONG, J.Y.; GRODZINSKY, A.J.; PLAAS, A.H.; SANDY, J.D. Effects of compression on the loss of newly synthesized proteoglycans and proteins from cartilage explants. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.286, n.1, p. 20-29, 1991.

SAH, R.L.; GRODZINSKY, A.J.; PLAAS, A.H.K.; SANDY, J.D. **Effects of static and dynamic compression on matrix metabolism in cartilage explants**. In: Kuettner KE.; Schleyerbach R.; Peyron JG. Articular cartilage and osteoarthritis, p. 373-391, New York: Raven Press, 1992.

SCHMIDT, M.B.; MOW, V.C.; CHUN, L.E.; EYRE, D.R. Effects of proteoglycan extraction on the tensile behavior of articular cartilage. **Journal of Orthopaedic Research**, v.8, n.3, p. 353-363, 1990.

SILBERBERG, R.; SILBERBERG, M.; VOGEL, A.; WETTSTEIN, W. Ultrastructure of articular cartilage of mice of various ages. **The American Journal of Anatomy**, v.109, p. 251-275, 1961.

SILVA, G J J.; BRUM, P.; NEGRÃO, C E.; KRIEGER, E M. Acute and Chronic Effects of Exercise on Baroreflexes in Spontaneously Hypertensive Rat. **Hipertension**, v.30, n.3, p. 714-719, 1997.

SMALE, G.; BENDELE, A.; HORTON, J.R.W.E. Comparison of age-associated degeneration of articular cartilage in Wistar and Fischer 344 rats. **Laboratory Animal Science**, v.45, n.2, p. 191-194, 1995.

SMITH, R.J.; LIN, J.; TRINDADE, M.C.D.; SHIDA, J.; KAJIYMA, G.; VU, T.; HOFFMAN, A.R.; VAN DER MULEN, M.C.H.; GOODMAN, S.B.; SCHURMAN, D.J.; CARTER, D.R. Time-dependent effects of intermittent hydrostatic pressure on articular chondrocyte type II collagen and aggrecan mRNA expression. **Journal of Rehabilitation Research and Development**, v.37, n.2, p. 153-161, 2000.

STERIO, D.C. The unbiased estimation of number and sizes of arbitrary particles using the disector. **Journal of Microscopy**, v.134, p. 127-136, 1984.

STEVENS, A.; LOWE, J. Tecido Conjuntivo In:_____ STEVENS, A.; LOWE, J.

Human Histology, 2ª. ed. USA: Morby, 1997, p. 49-64.

STOCKWELL, R.A. The cell density of human articular and costal cartilage. **Journal of Anatomy**, v.101, n.4, p.753-763, 1967.

TODD ALLEN, R.; ROBERTSON, C.M.; HARWOOD, F.L.; SASHO, T.; WILLIAMS, S.K.; POMERLEAU, A.C.; AMIEL, D. Characterization of mature vs aged rabbit articular cartilage: analysis of cell density, apoptosis-related gene expression and mechanisms controlling chondrocyte apoptosis. **Osteoarthritis Cartilage**, v.12, n.11, p.917-923, 2004.

TRATTNIG, S. Overuse of hyaline cartilage and imaging. **European Journal of Radiology**, v.25, n.3, p.188-198, 1997.

VAN DEN HOOGEN, B.M.; VAN DE LEST, C.H.A.; VAN WEEREN, P.R.; LAFEBER, F.P.J.G.; LOPES-CARDOZO, M.; VAN GOLDE, L.M.G.; BARNEVELD, A. Loading-induced changes in synovial joints affect cartilage metabolism. **British Journal of Rheumatology**, v.37, n.6, p.671-676, 1998.

VAN KUPPEVELT, T.H.M.S.M.; DOMEN, J.G.W.; CREMERS, F.P.M.; KUYPER, C.M.A. Staining of proteoglycans in mouse lung alveoli. Ultrastructural localization of anionic sites. **The Histochemical Journal**, v.16, n.6, p.657-669, 1984.

VASAN, N. Effects of physical stress on the synthesis and degradation of cartilage matrix. **Connective Tissue Research**, v.12, n.1, p.49-58, 1983.

VISSER, N.A.; VAKAMOEN, G.P.S.; DEKONING, M.H.M.T.; VANDERKORST, J.K. The effects of loading on the synthesis of biglycan and decorin in intact mature articular cartilage in vitro. **Connective Tissue Research**, v.30, n.4, p.241-250, 1994.

VISSER, N.A.; KONING, M.H.M.T.; LAMMI, M.K.; HÄKKINEN, I.; TAMMI, M.; VAN KAMPEN, G.P.J. Increase of decorin content in articular cartilage following running. **Connective Tissue Research**, v.37, n.3-4, p.295-302, 1998.

VOGEL, K.G. **Glycosaminoglycans and proteoglycans**, In: Yurchenco PD, Birk DE, Mecham RP. **Extracellular Matrix Assembly and Structure**, USA: Academic Press, Inc., 1994, p. 243-279,

WALDSCHMIDT, J.G.; RILLING, R.J.; KAJDACSY-BALLA, A.A.; BOYNTON, M.D.; ERICKSON, S.J. In vitro and in vivo MR imaging of hyaline cartilage: zonal anatomy, imaging pitfalls, and pathologic conditions. **Radiographics**, v.17, n.6, p.1387-1402, 1997.

WALKER, J.M. Epidemiology and economics of arthritis. In: _____ WALKER, J.M.; HELEWA, R. **Physical Therapy in Arthritis**. USA: W.B. Saunders Company, 1996.

WARD, D.J.; TIDSWELL, M.E. Osteoartrite. In: _____ DOWNIE, P.; CASH, L. **Fisioterapia em Ortopedia e Reumatologia**, São Paulo: Panamericana 1987; p.263-279.

Referências

WEIGHTMAN, B.O.; KEMPSON, G.E. Load Carriage. In: _____ **Adult Articular Cartilage**. 2º. ed, MAR feeman, Londres: Pitman Medical, 1979, p293-341.

WEST, M.J.; GUNDERSEN, H.J. Unbiased stereological estimation of the number of neurons in the human hippocampus. **The Journal of Comparative Neurology**, v.296, n.1, p.1-22, 1990.

WIGHT, T.N.; HEINEGARD, D.K.; HASCALL, V.C. Proteoglycans: structure and function, In: _____ HAY, E. **Cell Biology of Extracellular Matrix**. 2ª. ed. New York: Plenum Press, 1991.

WU, J.Z.; HERZOG, W. Elastic anisotropy of articular cartilage is associated with the microstructures of collagen fibers and chondrocytes. **Journal of Biomechanics**, v.35, n.7, p.931-42, 2002.

YANAGISHITA, M. Function of proteoglycans in the extracellular matrix. **Acta Pathologica Japonica**, v.43, n.6, p.283-93, 1993.